

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

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
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 :

**Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et
antioxydante des plantes *Paronychia argentea* et
Urtica dioica L**

Présenté par : ASSILA Ibtissem
CHOUGUI Lamis
ROUAA Meriem Amira

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation :

Président : ZAMA Djamila Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Encadreur : BOULDJADJ Redouane MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Examineur : BEKHOUCHE Khadidja MCB- Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques.

**Année universitaire
2021 - 2022**

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

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
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 :

**Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et
antioxydante des plantes *Paronychia argentea* et
Urtica dioica L**

Présenté par : ASSILA Ibtissem
CHOUGUI Lamis
ROUAA Meriem Amira

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation :

Président : ZAMA Djamila Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Encadreur : BOULDJADJ Redouane MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Examineur : BEKHOUCHE Khadidja MCB- Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques.

**Année universitaire
2021 - 2022**



Remerciements

Au nom d'**ALLAH**, le Clément, le miséricordieux. Nous rendons grâce à **DIEU** qui nous a accordé la volonté, la force, la patience, et les moyens nécessaires pour accomplir ce travail.

Nous tenons tout d'abord à adresser toute notre considération et notre vive gratitude à notre encadrant, **Monsieur BOULDJADJ Redouane**, maître de conférences au département de biologie, faculté des sciences naturelles et de la vie de l'université Frères Mentouri Constantine 1. Nous le remercions très chaleureusement de nous avoir confié ce sujet, de nous avoir fait confiance, d'avoir été soutenu et surtout encouragé tout au long de ce travail. Sa vitalité, sa disponibilité, son aide, ses précieux conseils, ses connaissances scientifiques nous ont permis de progresser dans cette recherche. Nous vous remercions, tout particulièrement, pour vos très grandes qualités humaines.

Aussi nos plus sincères remerciements sont adressés à la présidente du jury, **Mme ZAMA Djamilia** professeur à l'Université de Constantine, de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

De même nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à **BEKHOUCHE Khadidja**, MCB au Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques, pour l'honneur qu'il nous a fait d'examiner ce travail.

Sans oublier un remerciement tout particulier à **Monsieur BAHRI Laid** pour son assistance en temps voulu.

Nous remercions aussi tout le personnel rencontré au niveau du laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie CRBT pour leur accueil, précieux conseils, gentillesse et leur disponibilité et à tous les étudiants de graduation.

Un remerciement à l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et tout particulièrement nos enseignants de spécialité, TOXICOLOGIE, et pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail,

À ma chère et tendre maman,

À mon défunt père,

Ceux qui n'ont jamais arrêté de prier pour moi, de me soutenir et de m'aider à atteindre mes objectifs. Avec l'obtention de mon diplôme, un nouveau voyage commence. Merci pour votre amour, votre aide, votre présence dans ma vie, et pour tous les sacrifices consentis, recevez à travers ce travail, aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de ma reconnaissance éternelle. Merci pour les nobles valeurs, l'éducation et le soutien permanent de votre part.

À ma magnifique et superbe tante **AMRANI Nadjet**, je vous remercie d'être là pour moi, de m'avoir soutenu dans les moments les plus difficiles vous êtes la meilleure.

À ma chère cousine **BRIK Nassima** pour son soutien moral et ses précieux conseils, son écoute, ses avis et la disponibilité tout au long de mes études.

À mes amies **Bushra** et **Noor**, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À mes chers frères **Aziz** et **Aymen**, ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité et à tous ceux qui ont contribué de près ou loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

À mes chers trinômes **Amira** et **Lamis** qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Je vous souhaite le succès et tout le bonheur du monde, que Dieu vous protège.

À mon encadrant **Monsieur BOULDJADJ** pour l'aide et les conseils qu'il nous a prodigués avec énormément de volonté et de patience tout au long de ce mémoire.

Finally yet importantly, I would like to express my deep gratitude to **Ferréol** and **Akash** for their help, encouragement, care, support, and jokes to overcome all the negative and stressful moments I had throughout this work.

Ibtissem.



Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah De m'avoir donné la force, la santé, le courage et l'inspiration et surtout la patience pour terminer ce travail. Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents « **Assia et Abdalouhab** »

Qui n'ont jamais cessé de m'encourager et me conseiller, Ils m'ont tellement aidé tout au long de mon chemin, grâce à leur amour, leur compréhension et leur patience sans me quitter des yeux ni baisser les bras et leur soutien. Pour les peines que vous avez consenties pour mon éducation et ma formation. Ce travail est le fruit de vos efforts et une modeste récompense de votre amour débordant.

À ma belle et merveilleuse sœur « **Ghouzlan** », Mon soutien moral, ma source de motivation, ma moitié, Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur.

À mon frère « **Zino** », J'ai de la chance de t'avoir car je sais que je peux compter sur toi et que tu es toujours là pour moi, prêt à m'aider et à me rendre heureuse par n'importe quel moyen.

À mon petit neveu « **Mohammed Arkan** ».

À mes grands-mères « **Bouba et Dalila** », mes grands-pères : « **Abdelhamid et Hcene** » Je suis là grâce à vos prières.

À mes tantes « **Zahira, Nadia et Souad** », Merci d'être toujours à mes côtés.

À mon adorable oncle « **Bilal** », je n'oublie pas et n'oublierai pas ton aide dans mon parcours académique, tu es le meilleur exemple à suivre et je sais qu'un très bel avenir s'offre à toi.

À ma tante « **Soumia** » merci d'être là pour moi dans les instants les plus difficiles.

À tous les membres de ma famille, petits et grands.

À mes chères amies : Fatima, Samah, Rayan, Mouna, Rawnak et Chaima.

À mes chères collègues « **Ibtissem et Amira** », Qui m'ont soutenu et accompagné le long d'un parcours de recherche que je n'aurais jamais achevé sans l'aide de dieu et d'eux.

Enfin, à **Mr. BOULDJADJ** qui nous a apporté son soutien et ses conseils avec une volonté et une tolérance sans faille dans la réalisation de cette mémoire.

Lamis.



Dédicaces

C'est avec un très grand plaisir que je dédie ce modeste travail à la mémoire de mes grands-parents et mon oncle décédés trop tôt ; que j'aurais aimé leur présence à mes côtés dans cet événement mémorable, vous êtes toujours présents dans mon cœur.

À mes chers parents ;

Aucun langage ne saurait exprimer ma gratitude, ma reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle ; vous m'avez guidé durant les moments les plus durs et pénibles de ce long chemin ; merci d'être toujours là pour me soutenir et m'épauler ; c'est grâce à vous que je suis devenue ce que je suis aujourd'hui.

Que dieu le tout puissant vous accorde la santé, le bonheur, et surtout vous préserve pour moi.

À mon cher frère Fares ;

Mon confident merci pour le soutien moral je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans ta vie.

À mes chères Ibtissem et Lamis ;

Merci pour votre soutien, courage, volonté à vouloir toujours bien faire et sur tout votre professionnalisme pendant tout ce long chemin qu'on a traversé ensemble ; je vous souhaite un très grand succès que vous méritiez amplement.

À mes chers cousines et copines ;

Imen, Nahil, Boutheina, Racha, Batoul, Nada, Rayene, Chanez et Lyna.

À toute ma famille sans exception grands et petits.

En dernier je tiens à exprimer ma gratitude à mon encadrant **Mr BOULDJADJ**, merci pour votre suivi permanent, vos conseils, votre disponibilité ; c'est un très grand honneur pour moi que j'ai eu l'opportunité d'être encadrée par vos soins.

Amira.

Résumé

Le présent travail a pour but d'étudier les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits aqueux et hydro-méthanoliques des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica*.

Dans un premier temps, notre étude a montré que les deux plantes sont riches en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs légèrement plus importantes pour les deux extraits hydro-méthanoliques. Ce résultat représente un bon indice du potentiel thérapeutique des extraits, car beaucoup d'activités biologiques sont intimement liées à l'aspect quantitatif mais aussi qualitatif de ces biomolécules.

La deuxième étape consiste en l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*. L'activité antioxydante a été déterminée par cinq tests : DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et le test Phénantroline. Cette étude a montré que les extraits aqueux et hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* et l'extrait hydro-méthanolique de *Urtica dioica* possèdent un excellent pouvoir antioxydant par rapport à l'extrait aqueux de *Urtica dioica* dans la plupart des tests. Ces résultats sont peut-être attribués à la qualité des composés phénoliques et de flavonoïdes dans ces extraits. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait aqueux de *Urtica dioica* possède une excellente capacité de protéger la BSA contre la dénaturation thermique ($IC_{50} = 318,06 \pm 13,78 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. De même, l'analyse de la protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique a montré que l'efficacité des extraits aqueux et hydro-méthanolique de *Urtica dioica* est supérieure à celle des deux extraits de *Paronychia argentea* ($80,57 \pm 1,46\%$ et $79,53 \pm 2,99\%$, contre $56,66 \pm 0,40\%$ et $33,17 \pm 3,90\%$ respectivement).

Dans la dernière étape, l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* a révélé que les extraits aqueux et hydro-méthanoliques des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* ont réduit l'oedème de la patte droite des rats induit par le formol 1% et les contractions abdominales produites par l'injection de l'acide acétique 0,6% chez la souris. L'hyperthermie chez la souris induite par la levure de bière 20% a été réduite par les deux plantes, cet effet reste cependant plus marqué pour l'extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea*.

Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que les deux plantes présentent de très bonnes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui méritent plus d'intérêt de la part des secteurs du pharmaceutique, du parapharmaceutique, ainsi que celui de l'agroalimentaire. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Mot clés : *Paronychia argentea*, *Urtica dioica* L, Anti-inflammatoire, Antioxydant, Antipyrétique et Analgésique.

Abstract:

The aim of the presented work is to investigate the antioxidant and anti-inflammatory activities of aqueous and hydro-methanolic extracts of the plants *Paronychia argentea* and *Urtica dioica*.

To begin with, our study has shown that both plants are rich in polyphenols and flavonoids with slightly higher contents for the two hydro-methanolic extracts. This result represents a good index of the therapeutic potential of the extracts, as many biological activities are tightly linked to the quantitative as well as the qualitative aspects of these biomolecules.

The next step consists in the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity *in vitro*. Five assays were used to determine the antioxidant activity: DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP and the Phenantroline assay. This study showed that the aqueous and hydro-methanolic extracts of *Paronychia argentea* and the hydro-methanolic extract of *Urtica dioica* have excellent antioxidant power in comparison with the aqueous extract of *Urtica dioica* in the majority of the assays. Such results are possibly attributed to the phenolic and flavonoid quality of these extracts. The assessment of the *in vitro* anti-inflammatory activity using the albumin thermal denaturation inhibition method and the red blood cell membrane protection test against thermal and osmotic stress. The above study showed that the aqueous extract of *Urtica dioica* has an excellent capacity to protect BSA against thermal denaturation ($IC_{50} = 318.06 \pm 13.78 \mu\text{g/ml}$) compared to the other extracts. Similarly, the analysis of the protection of the red blood cell membrane against osmotic and thermal stress revealed that both the aqueous and hydro-methanolic extracts of *Urtica dioica* were more effective than both extracts of *Paronychia argentea* ($80.57 \pm 1.46\%$ and $79.53 \pm 2.99\%$, compared to $56.66 \pm 0.40\%$ and $33.17 \pm 3.90\%$ respectively).

Lastly, the *in vivo* anti-inflammatory activity study revealed that the aqueous and hydro-methanolic extracts of the plants *Paronychia argentea* and *Urtica dioica* reduced the swelling of the rat's right paw that was induced by 1% formaldehyde and also the abdominal contractions produced by the injection of 0.6% acetic acid in mice. Both plants significantly reduced the hyperthermia in mice induced by 20% brewer's yeast, although this effect was more marked for the hydro-methanolic extract of *Paronychia argentea*.

The findings of this work allowed us to affirm that both plants present very good antioxidant and anti-inflammatory properties, which deserve more emphasis from the pharmaceutical, para-pharmaceutical and food industries. However, new studies are necessary to identify the biologically active molecules in order to precisely identify the molecular mechanism(s) responsible for these effects.

Key words: *Paronychia argentea*, *Urtica dioica* L, Anti-inflammatory, Antioxidant, Antipyretic and Analgesic.

المخلص:

تهدف هاته الدراسة الى التحقق من النشاط المضاد للأكسدة و الالتهابات للمستخلصات المائية والميثانولية المائية لنبات

Urtica dioica و *Paronychia argentea*.

أولاً، أظهرت دراستنا أن كلا النباتين غنيتان بالبولىفينولات والفلافونويدات بمستويات أعلى قليلاً في مستخلصات الميثانول المائي. هذه النتيجة هي بالتأكيد مؤشر جيد على الإمكانيات العلاجية للمستخلصات، لأن العديد من الأنشطة البيولوجية مرتبطة ارتباطاً وثيقاً بالجانب الكمي وكذا النوعي لهذه الجزيئات الحيوية.

الخطوة الثانية هي تقييم النشاط المضاد للأكسدة والالتهابات خارج الكائن الحي. تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة من خلال خمسة اختبارات (DPPH ، ABTS ، CUPRAC ، FRAP ، Phenanthroline). أظهرت هذه الدراسة أن المستخلصات المائية والميثانول المائي لنبات *Paronychia argentea* ومستخلص الميثانول المائي لنبات *Urtica dioica* لهما قدرة ممتازة مضادة للأكسدة مقارنة بالمستخلص المائي لـ *Urtica dioica* في معظم الاختبارات. قد تُنسب هذه النتائج إلى جودة المركبات الفينولية والفلافونويدات في هذه المستخلصات. تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المخبر بطريقة التحور الحراري للألبومين واختبار حماية غشاء خلايا الدم الحمراء من الإجهاد التناضحي والحراري. أظهرت هذه الدراسة أن المستخلص المائي لنبات *Urtica dioica* لديه قدرة ممتازة على حماية BSA من التحور الحراري ($IC_{50} = 318.06$ ± 13.78 g/ml) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. وبالمثل، أظهر تحليل حماية غشاء خلايا الدم الحمراء من الإجهاد التناضحي والحراري أن كفاءة المستخلصات المائية والهيدروميثانول من *Urtica dioica* أعلى من كفاءة مستخلصي *Paronychia argentea* ($1,46 \pm 80,57$ % و $2,99 \pm 79,53$ %، مقارنة بـ $0,40 \pm 56,66$ % و $3,90 \pm 33,17$ % على التوالي).

في الخطوة الأخيرة، كشفت دراسة النشاط المضاد للالتهابات داخل الكائن الحي أن المستخلص المائي والميثانول المائي من نباتات *Urtica dioica* و *Paronychia argentea* قللت من الوذمة في الساق اليمنى للجرذان الناتجة عن الفورمول 1% وتقلصات البطن الناتجة عن حقن حمض الخليك 0.6% في الفئران. تم تخفيض درجة الحرارة في الفئران التي تسببت بها خميرة الجعة بنسبة 20% بواسطة كلا النباتين، و هذا التأثير كان أكثر وضوحاً في مستخلص الميثانول المائي لـ *Paronychia argentea*.

سمحت لنا نتائج هذا العمل بالتأكيد على أن كلا النباتين لهما خصائص جيدة جداً مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات تستحق المزيد من الاهتمام من قطاعات الأدوية والصناعات شبه الصيدلانية والأغذية الزراعية. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجياً لتحديد الآلية أو الآليات الجزيئية المسؤولة عن هاته التأثيرات بدقة.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica* L، *Paronychia argentea*، مضادات الالتهاب، مضادات الأكسدة، مضادات الحرارة والمسكنات.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 01

SECTION I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : INFLAMMATION

I. L' INFLAMMATION..... 03

I.1. Définition..... 03

I.2. Types d'inflammation..... 04

I.2.1. Inflammation aiguë..... 04

I.2.2. Inflammation chronique..... 05

I.3. Les cellules impliquées dans l'inflammation..... 06

I.4. Les médiateurs d'inflammation..... 08

I.4.1. Le système d'activation plasmatique 08

I.4.2. Les médiateurs cellulaires..... 09

I.5. Les pathologies inflammatoires..... 10

I.6. Les anti-inflammatoires..... 10

I.6.1. Les anti-inflammatoires médicamenteux..... 11

I.6.1.1. Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)..... 11

I.6.1.2. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)..... 11

I.6.2. Les anti-inflammatoire d'origine naturelle..... 12

CHAPITRE II : STRESS OXYDANT ET SYSTEME ANTIOXYDANTS

II.1. STRESS OXYDANT..... 14

II.1.1. Les espèces oxygénées activées et leurs propriétés 14

II.1.2. Les conséquences du stress oxydants sur les molécules biologiques 16

II.1.3. Rôles physiologiques des radicaux libres (le paradoxe)	17
II.2. Le système antioxydant	17
II.2.1. Les antioxydants endogènes	17
II.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques	18
II.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques	19
II.2.2. Les antioxydants exogènes.....	19
CHAPITRE III : RELATION ENTRE LE STRESS OXYDANT ET L'INFLAMMATION	
III.1. Rôle des ERO dans l'induction de l'inflammation	21
III.1.1. Facteurs de transcription pro-inflammatoires	21
III.1.2. Toll like receptors (TLRs) et DAMPs	23
III.1.3. Peroxiredoxin-2 et inflammation	24
III.2. L'inflammation : une cause majeure de stress oxydatif.....	24
III.2.1 NADPH oxydase (NOX).....	25
III.3. Stress oxydant et syndromes inflammatoires chroniques	26
III.3.1. Stress oxydant et maladies inflammatoires chroniques intestinales.....	26
III.3.2. Stress oxydant et atteintes pulmonaires chroniques.....	27
III.3.3. Stress oxydant et polyarthrite rhumatoïde (PR).....	28
CHAPITRE IV : PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES	
IV.1. Présentation de la plante <i>Paronychia argentea</i>	29
IV.1.1. Description botanique.....	29
IV.1.2. Systématique de la plante <i>Paronychia argentea</i>	29
IV.1.3. Répartition géographique.....	30
IV.1.4. Composition chimique	30
IV.1.5. Usages traditionnels et Propriétés médicinales	30
IV.1.6. Toxicologie.....	31
IV.2. Présentation de la plante <i>Urtica dioica</i> L.....	31
IV.2.1. Description botanique.....	31
IV.2.2. Systématique de la plante <i>Urtica dioica</i> L.....	32
IV.2.3. Répartition géographique.....	32
IV.2.4. Composition chimique	32

IV.2.5. Usages traditionnels et Propriétés médicinales.....	33
IV.2.6. Toxicologie.....	34

SECTION II : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel.....	35
I.1. Matériel végétal.....	35
I.2. Matériel animal.....	35
I.3. Les réactifs.....	35
I.4. Les appareils.....	36
II. Méthodes.....	36
II.1. Méthodes d'extraction.....	36
II.1.1. Préparation des extrait aqueux infusés.....	36
II.1.2. Préparation des extraits hydro-méthanolique (MeOH 80 %)	37
II.1.3. Rendement de l'extraction.....	38
II.2. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes.....	38
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	39
II.2.1.1. Principe.....	39
II.2.1.2. Mode opératoire.....	39
II.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
II.2.2.1. Principe.....	39
II.2.2.2. Mode opératoire.....	40
II.3. Méthodes de dosage des activités antioxydantes <i>in vitro</i>.....	40
II.3.1. Le test de piégeage du radical DPPH.....	40
II.3.1.1. Principe.....	40
II.3.1.2. Mode opératoire.....	41
II.3.2. Le test de piégeage du radical ABTS^{•+}.....	41
II.3.2.1. Principe.....	41
II.3.2.2. Mode opératoire.....	42
II.3.3. Le test CUPRAC.....	43
II.3.3.1. Principe.....	43
II.3.3.2. Mode opératoire.....	43

II.3.4. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)	44
II.3.4.1. Principe	44
II.3.4.2. Mode opératoire	44
II.3.5. Le test Phénanthroline	44
II.3.5.1. Principe	44
II.3.5.2. Mode opératoire	45
II.4. Méthodes de dosage des activités inflammatoires <i>in vitro</i>	45
II.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	45
II.4.1.1. Principe	45
II.4.1.2. Mode opératoire	46
II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique)	46
II.4.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes	46
II.4.2.2. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire	47
A. Principe	47
B. Mode opératoire	47
II.4.2.3. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique	48
A. Principe	48
B. Méthode de dosage	48
II.5. Méthode de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	48
II.5.1. Induction de l'œdème inflammatoire aigu de la patte de rat par le formol	48
II.5.2. Traitement des animaux	49
II.6. Méthode de l'évaluation de l'effet antipyrétique des extraits	50
II.6.1. Induction de l'hyperthermie	50
II.6.2. Traitement des animaux	50
II.7. Méthode de l'évaluation de l'effet analgésique des extraits	51
II.7.1. Traitement des animaux	51
III. Evaluation statistique	52

SECTION III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rendement de l'extraction	53
---	----

II. Caractérisation quantitative des extraits de plantes	54
II.1. Teneur des extraits en polyphénols	54
II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes	56
III. activité antioxydante <i>in vitro</i>	58
III.1. Le test de piégeage du radical DPPH	58
III.2. Le test de piégeage du radical ABTS⁺	60
III.3. Le test CUPRAC	63
III.4. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)	64
III.5. Le test Phénanthroline	66
IV. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	68
IV.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	68
IV.2. Activité anti-hémolytique	70
IV.2.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire	70
IV.2.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique	72
V. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	73
V.1. Effet anti-œdémateux des extraits	73
V.2. Effet antipyrétique des extraits	76
V.3. Effet analgésique des extraits	77
Conclusion et perspectives	79
Références bibliographiques	80

Liste des figures

	<i>Page</i>
Figure 1 : Les étapes de transformation de la forme aiguë vers la forme chronique.	04
Figure 2 : Résumé de la réaction inflammatoire.	06
Figure 3 : Déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydantes.	14
Figure 4 : Les enzymes antioxydants.	18
Figure 5 : Présentation de l'interdépendance entre le stress oxydatif et l'inflammation.	21
Figure 6 : Les modèles proposés pour l'activation des TLR par les DAMPs.....	23
Figure 7 : Les radicaux libres générés pendant l'inflammation	25
Figure 8 : La plante médicinale <i>Paronychia argentea</i>	29
Figure 9 : La plante médicinale <i>Urtica dioica</i> L	32
Figure 10 : Protocole de préparation d'extrait aqueux de la partie aérienne de <i>Paronychia argentea</i> et l' <i>Urtica dioica</i>	37
Figure 11 : Protocole de préparation d'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne de <i>Paronychia argentea</i> et l' <i>Urtica dioica</i>	38
Figure 12 : Réduction de radical DPPH en DPPH-H.	41
Figure 13 : Formation et réduction du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	42
Figure 14 : Réduction de complexe cuivre–néocuproïne Cu(II)-Nc.....	43
Figure 15 : Mécanisme de réaction du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).....	44
Figure 16 : Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants	45
Figure 17 : Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique	54
Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'Acide Tannique	54
Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide gallique.....	55
Figure 20 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide Tannique.	55
Figure 21 : Droite d'étalonnage de la quercétine	56
Figure 22 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux équivalant quercétine.....	57
Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH [•] des antioxydants de références et des extraits testés	58
Figure 24 : Pourcentages d'inhibition du radicale ABTS [•] des antioxydants de références et des extraits testés	61
Figure 25 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode CUPRAC	63

Figure 26 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode FRAP.....	65
Figure 27 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode Phénanthroline ...	67
Figure 28 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA	69
Figure 29 : Pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration des extraits testés	71
Figure 30 : Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des différentes concentrations des extraits testés	72
Figure 31 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol (Pourcentage d'inhibition de l'œdème)	75
Figure 32 : Effet analgésique des extraits, Tramadol, et de l'Aspirine sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les souris	77

Liste des tableaux

	<i>Page</i>
Tableau 01 : Etiologie de l'inflammation	03
Tableau 02 : Les différents types des cellules inflammatoires	07
Tableau 03 : Les médiateurs cellulaires leur origine cellulaire et leurs effets biologiques	09
Tableau 04 : L'activité anti-inflammatoire de quelques plantes médicinales	13
Tableau 05 : Les espèces réactives radicalaires et non radicalaires	15
Tableau 06 : Les facteurs de transcription à régulation redox, les chimiokines et les cytokines	22
Tableau 07 : Rendement et caractéristiques des extraits aqueux et hydro-méthanolique des plantes	53
Tableau 08 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés	59
Tableau 09 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés	61
Tableau 10 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par A0,5 (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés	64
Tableau 11 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés.....	65
Tableau 12 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par A0,5 (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés	67
Tableau 13 : Le pouvoir anti-inflammatoire <i>in vitro</i> (exprimé par IC50 (en µg /ml)) d'un anti-inflammatoire de références et des extraits testés.....	70
Tableau 14 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol : Chaque valeur représente la moyenne ± SD ; n = 5 pour chaque groupe.....	74
Tableau 15 : Variation de la température provoquée par les extraits sur l'hyperthermie induite chez le rat par la levure de bière : Chaque valeur représente la moyenne ± SD ; n = 6 pour chaque groupe	76

Liste des abréviations :

% PI: Pourcentage d'inhibition

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

µg: Microgramme

µl: Microlitre

• OH : Radical hydroxyle

¹O₂ : Oxygène singulet

AA : Acide ascorbique

ABTS : 2,2- azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6- sulphonate

ADN: Acide Désoxyribonucléique

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS: Anti-inflammatoires stéroïdiennes

AOX: Alternative oxydase

AP-1 : la protéine activatrice-1

AQ : aqueux

ARN: Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

AUG: Augmentation

BHA: Butylated hydroxyanisole

BHT: Butylated hydroxytoluene

BSA: Bovine Sérum Albumine

C3a, C4a, C5a: Complément d'anaphylatoxines 3, 4, 5

CAM : molécules d'adhésion cellulaire

CAT: Catalase

CD : clusters de différenciation

Cm: Centimètre

COX: Cyclo-Oxygénase 1, 2

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CRBT : centre national de recherche en biotechnologie

CUPRAC: Cupric reducing antioxidant capacity

DAMPs: damage associated molecular pattern molecules

DL50: Dose létale 50

DO: Densité optique

DPPH: 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

EAG/g.MS: Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche

EAG: Equivalent d'Acide Gallique

EAT: Equivalent d'Acide Tannique

EQUE: Equivalent de la quercétine

ERK : Extracellular signal-regulated kinases

ERN : espèces réactives de nitrogène

ERO : espèces réactives d'oxygènes

EXS: Equivalent de l'Extrait

EXT AQ: Extrait aqueux

EXT MH : Extrait hydro-méthanolique

FCR: Folin-Ciocalteu

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

g: Gramme

GPx/GR : la glutathion peroxydase et réductase

GRh: Globules rouges des humains

GSH/GSSG: Glutathion/Glutathion-disulfure

H: Heure

H+: Proton

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HIF-1 α : le facteur inductible par l'hypoxie

HM : hydro-méthanolique

HOCl : Acide hypochlorique

Hsp : les protéines de choc thermique

IC50: concentration inhibitrice médiane

IFN- γ : interféron Gamma

IKK : l'inhibiteur de NF- κ B kinase

IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-8 : Interleukine-1, -1 β , -6, -8

INH: Inhibition

IP : voie intrapéritonéale

I κ B: IkappaB

JAK-STAT: Janus kinases-signal transducer and activator of transcription proteins

Kg : Kilogramme

LDL : Low density lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité

LDL : Lipoprotéines à densité légère

M : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu

M0 : Masse en gramme de la poudre végétale utilisée (50g)

MAPK : Les Mitogen-activated protein kinases

MC: Maladie de Crohn

MCP-1 et -3 : Monocyte Chemoattractant Protein-1,-3

MDA : Malondialdéhyde

Mg: Milligramme

MICI : les maladies inflammatoires chroniques intestinales

Min: Minutes

MIP-1 α : Macrophage Inflammatory Protein-1

ml: Millilitre

mm: Millimètre

MyD88 : le facteur de différenciation myéloïde 88

N/A : Not Available

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NF- κ B: Nuclear factor-kappa B

nm: Nanomètre

NO \bullet : Monoxyde d'azote

NOX: NADPH oxydase

Nrf-2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

O $_2\bullet$: Anion super oxide

OH \bullet : Peroxyde d'hydrogène

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAB : Office National de l'élevage d'Ain M'Lila

ONOO-: peroxydinitrite

PA: *Paronychia argentea*

PAF: Platelet Activating Factor

PAMPs: Motif moléculaire associé aux pathogènes

PBS: Phosphate Buffered Saline

PGE2: Prostaglandine E2

PGI2: Prostaglandine I2

Ph: potentiel hydrogène

PLA2 : Phospholipase A2

PMN : Polymorphonuclear leucocytes

PNN : polynucléaires neutrophiles

PPAR- γ : le récepteur gamma de l'activateur de la prolifération des peroxysomes

PR: Polyarthrite Rhumatoïde

PRDX2 : la peroxiredoxine-2

R (%) : Rendement exprimé en %

R² : Coefficient de corrélation

RANTES : régulée lors de l'activation, exprimée et sécrétée par la T normale

CCL5 : Le ligand 5 de la chimiokine

RBC: Red Blood Cell

RC: Récepteur

RCH : la rectocolite hémorragique

ROO•: Radical peroxy

SOD : Superoxyde dismutase

T0: Temps primaire

TCA: Trichloroacétique.

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

Th-2: T helper 2

TLRs: Toll like receptors

TNFR: TNF receptor

TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha

TRIF : l'activateur d'interféron associé au récepteur Toll

TxA2: Thromboxane A2

TxB2: thromboxane B2

UV: Ultra-violet

v/v: Volume/Volume

VEGF : le facteur de croissance endothélial vasculaire

XO : Xanthine oxydase

$\mu\text{g/ml}$: Microgramme par millilitre

μl : Microlitre

Introduction

INTRODUCTION

L'inflammation est une partie de la réponse immunitaire qui peut prévenir une infection à travers la production et la synthèse des médiateurs chimiques pro-inflammatoires en réponse à la présence des facteurs endogènes ou exogènes. Ce processus de production et de synthèse est bénéfique dans la mesure où il permet de maintenir l'intégrité de l'organisme. Cependant, lorsqu'une inflammation n'est pas contrôlée, elle peut causer une destruction des tissus ainsi qu'une série de réactions parmi lesquelles la douleur (Embeya et Nzuzi-mavungu, 2019). Ces processus inflammatoires sont impliqués dans l'apparition d'un grand nombre de pathologies humaines tel que l'arthrite, le diabète, l'asthme, les allergies et le cancer (Sene, 2016 ; John et al., 2021).

D'autre part, au cours des deux dernières décennies, le stress oxydatif a été l'un des sujets les plus brûlants pour les chercheurs en biologie du monde entier, car il joue un rôle écologique et évolutif important et peut aider à comprendre les interactions fonctionnelles entre les traits de l'histoire de vie (Nardi et al., 2016). Il est défini comme une oxydation intracellulaire excessive due à un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes ou formes réactives de l'oxygène (ERO) et celle des systèmes antioxydants (Pasquier, 2005). Ce phénomène oxydatif peut conduire à des dommages des biomolécules telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques, et conduit finalement à la mort cellulaire provoquant des troubles physiologiques tels que le cancer, le diabète, l'asthme, le vieillissement prématuré et les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires (Subedi et al., 2014).

L'inflammation et le stress oxydatif sont donc 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 les deux participent à la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques. Bien que l'identification et le traitement de l'anomalie primaire soient d'une grande importance clinique, le traitement de l'anomalie primaire peut ne pas toujours être couronné de succès, car une fois le processus déjà commencé, l'inflammation et le stress oxydatif agissent de concert pour s'accroître mutuellement et induire des dommages progressifs (Biswas, 2015).

Actuellement, les plantes jouent toujours un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants. Au cours des dernières années, un grand nombre de travaux de recherche ont été orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle afin de contrôler l'innocuité et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'utilisation de ces plantes (Meziti, 2018).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de l'origine de sa flore, constitue un véritable réservoir phytogénétique, ce qui lui permet d'occuper une place privilégiée parmi les pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale et un savoir-faire traditionnel à base de plantes médicinales dans diverses pathologies, malgré que rares études s'y sont intéressées (**Miara et al., 2013**).

L'existence de recettes de la médecine traditionnelle qui se sont révélées positives pour le traitement des pathologies inflammatoires nous amène à nous intéresser à deux espèces végétales d'origines Algériennes.

Paronychia argentea et *Urtica dioica* L sont des plantes médicinales très abondantes en Algérie et au bassin méditerranéen. Leur utilisation en médecine traditionnelle remonte à des temps lointains. Elles sont connues et utilisées dans le traitement de plusieurs maladies tels le diabète, les maladies rénales, les maladies de la vessie, les troubles gastriques...etc (**Veeraraghavan et al., 2020 ; Paulauskienė et al., 2021**).

La présente étude a pour objectif de donner des bases scientifiques à l'utilisation de ces deux plantes en médecine traditionnelle en Algérie. Au cours de l'étude, les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques des extraits aqueux et hydro-méthanoliques des parties aériennes de *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* ont été évaluées *in vitro* et/ou *in vivo* sur des modèles animaux. Le criblage phytochimique (analyse quantitatives) a été mené afin de caractériser les principaux composés chimiques susceptibles de conférer à ces deux plantes les activités décrites.

Ce manuscrit est divisé en trois parties principales :

- Une première partie, qui est une synthèse bibliographique, sera consacrée à une présentation des différents types d'inflammation, des anti-inflammatoires, du stress oxydatif et de la relation entre le stress oxydant l'inflammation puis nous avons présenté les deux plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica*, leur utilisation traditionnelle, les molécules bioactives et les propriétés biologiques des deux plantes à travers les travaux ethno-pharmacologique et phytochimiques réalisés.
- La deuxième partie décrit la partie expérimentale avec une présentation des techniques d'extraction, dosages spectrophotométriques en plus de l'évaluation des activités antioxydante, anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique des deux plantes.
- La troisième partie de ce mémoire expose l'ensemble des résultats obtenus et la discussion qui mettra l'accent sur leur signification par rapport aux données de la littérature.

Rappel
bibliographique

I. L'INFLAMMATION :

I.I. Définition :

L'inflammation est une réponse biologique du système immunitaire à une lésion ou à un stimulus excessif, tels que les infections microbiennes et virales, l'exposition à des facteurs physicochimiques et les composés toxiques, les maladies auto-immunes et chroniques, l'obésité, et une alimentation riche en calories, en vue d'assurer l'élimination des agents agresseurs et d'initier le processus de réparation et le maintien de l'homéostasie normale des tissus (Afsar, 2011 ; Bayala, 2014 ; Diallo, 2014 ; Chen *et al.*, 2017).

Elle était décrite précédemment par Panchard et ses collaborateurs (2004), comme "la succession de changements qui se produisent dans un tissu vivant lorsqu'il est blessé, à condition que la lésion ne soit pas d'un degré tel qu'elle détruise immédiatement sa structure et sa vitalité", ou "la réaction à une blessure de la microcirculation vivante et des tissus associés".

L'inflammation est donc un mécanisme de défense essentiel à la santé, et sa description classique explique les changements visuels observés (Panchard *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2017).

Tableau 01 : Etiologie de l'inflammation (Chen *et al.*, 2017 ; Hannoodee et Nasuruddin, 2021).

Inducteurs exogènes		Inducteurs endogènes	
Microbiens	Non-microbiens	Facteurs infectieux	Facteurs non infectieux
<ul style="list-style-type: none"> - PAMPs. - Les facteurs de virulence limités aux agents pathogènes (activité enzymatique ou les toxines). 	<ul style="list-style-type: none"> - Les allergènes, les composés toxiques, les irritants et les corps étrangers. 	<ul style="list-style-type: none"> - Bactéries. - Virus. - Autres micro-organismes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Physique : brûlures, engelures, traumatisme, radiation ionisante. - Chimique : acides gras, toxines, alcool, irritants chimiques. - Biologiques : cellules endommagées. - Psychologique : excitation.

L'inflammation est diagnostiquée cliniquement par des signes définis par la tétrade de Celsius (30-38 AV. J.-C.) et Galien (130-200 A.D.), notamment la rougeur (*rubor*), le gonflement (*tumor*), la chaleur (*calor*), la douleur (*dolor*) et la perte de fonction (*functio laesa*) (Panchard *et al.*, 2004 ; Diallo, 2014).

I.2. Types d'inflammation :

D'après Amroun (2021), l'inflammation peut être divisée en trois phases en fonction de la durée du processus inflammatoire, l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique et l'inflammation subaiguë qui constitue la période de transformation de la forme aiguë vers la forme chronique.

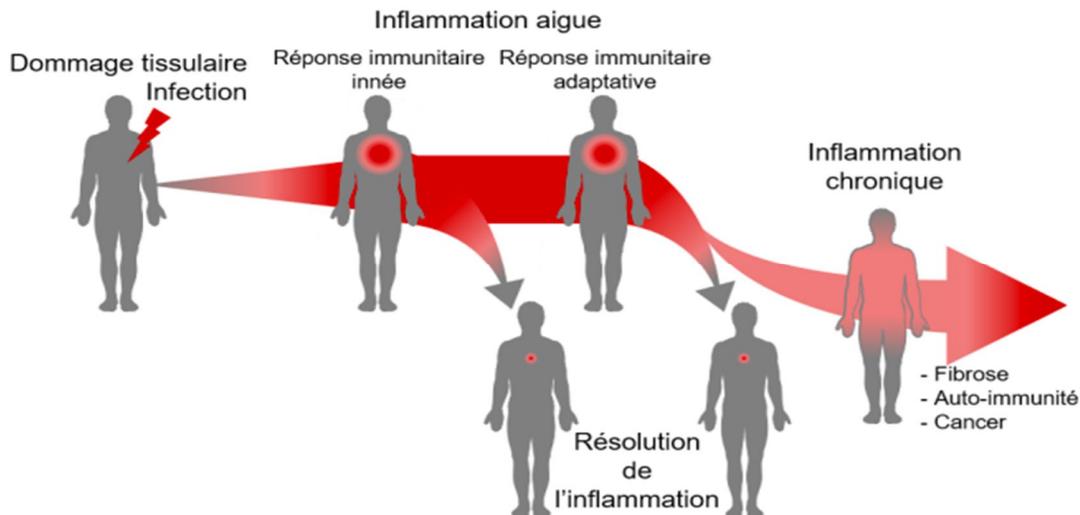


Figure 01 : Les étapes de transformation de la forme aiguë vers la forme chronique (Febvre-James, 2019).

I.2.1. Inflammation aiguë :

L'inflammation aiguë est une réponse immédiate, adaptative et de spécificité limitée, provoquée par plusieurs stimuli nocifs, tels que l'infection et les lésions tissulaires dues à un traumatisme, et se caractérise par les signes cliniques classiques mentionnés plus haut. C'est un mécanisme essentiel de la réponse immunitaire innée qui débute rapidement et les symptômes peuvent durer quelques jours, par exemple une cellulite ou une pneumonie aiguë (Das, 2020 ; Amroun, 2021 ; Hannoodee et Nasuruddin, 2021 ; Pahwa et al., 2021). Elle est effectuée en trois phases : vasculaire, cellulaire et de résolution.

Au cours de la phase vasculaire, deux séries d'événements se produisent : des modifications du débit et du calibre, et des modifications de la perméabilité. Elle est caractérisée par des modifications de la microcirculation locale et augmentation du flux sanguin, suite à la sécrétion de médiateurs vaso-actifs (histamine, bradykinine, sérotonine, prostaglandine...etc.) entraînant l'exsudation des cellules et du plasma vers les tissus (Ryan et Majno, 1977 ; Diallo, 2014 ; Febvre-James, 2019 ; Habouche et Mimoune, 2019).

La phase suivante est alors la phase cellulaire, elle se fait sous l'action des médiateurs inflammatoires (les facteurs chimiotactiques), caractérisés par la mobilisation et la migration de nombreuses cellules immunitaires (neutrophiles, monocytes et macrophages) vers le foyer

inflammatoire, permettront d'éliminer l'agent agresseur par divers processus biologiques, comme la phagocytose, et la production des médiateurs solubles (les protéines du système du complément et les cytokines... etc.) (Diallo, 2014 ; Febvre-James, 2019 ; Habouche et Mimoune, 2019 ; Benbalia et al., 2020 ; Das, 2020). Cependant, si la réponse innée ne soit pas suffisante pour l'élimination des stimuli inflammatoires, à cet effet, l'instauration d'une réponse immunitaire adaptative est alors nécessaire (réponse à médiation cellulaire et/ou réponse à médiation humorale) (Amroun, 2021).

La résolution ou la cicatrisation représente la dernière phase de l'inflammation, suite à l'élimination de l'agression, elle dépend du degré des lésions tissulaires, et a pour but de restaurer les conditions physiologiques et l'homéostasie normale des tissus (Febvre-James, 2019 ; Benbalia et al., 2020 ; Amroun, 2021). Au cours de laquelle la diminution de la production de médiateurs pro-inflammatoires, la sécrétion des glucocorticoïdes, l'élimination de l'infiltrat leucocytaire et l'apoptose des polynucléaires joue un rôle important dans la terminaison de la réaction inflammatoire (Hajjaj, 2017 ; Amroun, 2021).

L'inflammation aiguë est un état instable ; soit elle se résout, soit elle persiste, si la réponse inflammatoire dure pendant une longue période, elle peut se transformer en un état chronique qui dure plusieurs semaines, plusieurs mois, voire plusieurs années (Buckley et al., 2013 ; Das, 2020). Ceci mène ensuite à la mise en place d'une inflammation chronique, qui peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer, les pathologies auto-immunes, et les pathologies métaboliques (Bayala, 2014 ; Febvre-James, 2019).

I.2.2. Inflammation chronique :

L'inflammation chronique est la principale cause de décès dans le monde, où trois personnes sur cinq meurent des suites de maladies inflammatoires chroniques, elle est également appelée inflammation lente et à long terme, qui dure pendant des périodes prolongées de plusieurs mois à plusieurs années (Ginwala et al., 2019 ; Pahwa et al., 2021).

Le mécanisme de la chronicité n'est pas toujours compris, il peut s'agir de la persistance de la substance pathogène à l'origine de l'inflammation aiguë, de l'exposition à un faible niveau d'un irritant particulier ou d'un corps étranger qui ne peut être éliminé, d'un trouble auto-immun, d'un défaut des cellules responsables de la médiation de l'inflammation entraînant une inflammation persistante ou récurrente, et d'inducteurs inflammatoires et biochimiques qui provoquent un stress oxydatif et un dysfonctionnement mitochondrial (Hajjaj, 2017 ; Pahwa et al., 2021). L'inflammation chronique n'est pas seulement une cause primaire de ces conditions, mais elle est également le principal facteur de la pathogenèse (Afsar, 2011).

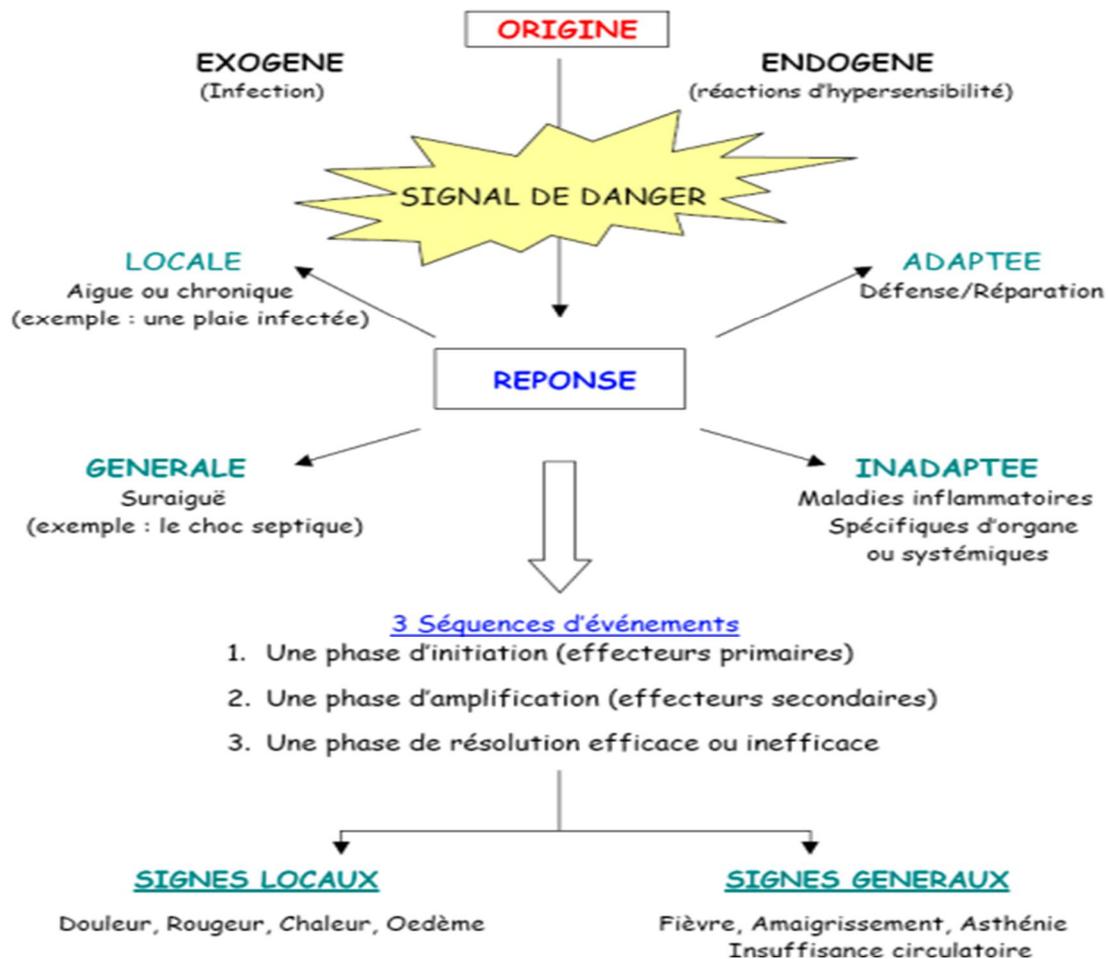


Figure 02 : résumé de la réaction inflammatoire (Zerbato, 2010).

La plupart des caractéristiques de l'inflammation aiguë persistent lorsque l'inflammation devient chronique (Pahwa et al., 2021), mais elle diffère de l'inflammation aiguë en ce que :

- La phases vasculaire et cellulaire ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation (Habouche et Mimoune, 2019).
- Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (Habouche et Mimoune, 2019).
- C'est les macrophages qui sont au centre de la réaction inflammatoire chronique (Hajjaj, 2017).
- Les lymphocytes et les plasmocytes sont fréquemment présent, surtout s'il existe une cause immunitaire à l'inflammation chronique (Hajjaj, 2017).

I.3. Les cellules impliquées dans l'inflammation :

Les plaquettes, les neutrophiles, les lymphocytes T et B, les macrophages, les monocytes, les mastocytes et les basophiles sont des cellules du système immunitaire qui participent aux troubles inflammatoires, à la médiation de la réponse inflammatoire et la régénération des tissus (Nonkululeko, 2017 ; Febvre-James, 2019).

Des fonctions spécifiques sont associées à chacun de ces types de cellules, mais ces fonctions se chevauchent et varient au fur et à mesure que l'inflammation progresse (Murphy, 2008). Le tableau 02 résume tous les différents types des cellules immunitaires impliqués dans l'inflammation, leurs caractéristiques et leurs fonctions :

Tableau 02 : les différents types des cellules inflammatoires (Murphy, 2008 ; Diallo, 2014 ; Nonkululeko, 2017 ; Douaouri, 2018).

Les cellules	Caractéristiques et fonction
Polynucléaires neutrophiles (PNN)	<ul style="list-style-type: none"> - Le sous type de leucocytes circulants les plus abondant dans le sang et s'accumulent rapidement aux sites de blessure ou d'infection. - Des composant clé de la réponse inflammatoire, pour le recrutement, l'activation et la programmation des cellules présentatrices d'antigène (CPA). - Génèrent des signaux chimiotactiques qui attirent les monocytes et les cellules dendritiques (CD), et influencent la différenciation des macrophages et elles sont également impliquées dans la réparation tissulaire.
Les mastocytes et les basophiles	<ul style="list-style-type: none"> - Principalement localisés au niveau des tissus vascularisés, jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie par son phénomène de dégranulation et dans les réactions d'hypersensibilité allergique. - Caractérisent par un cytoplasme riche en granules, contenant des médiateurs inflammatoires, y compris l'histamine, l'héparine, une variété de cytokines ... etc.
Les Phagocytes mononuclées	<ul style="list-style-type: none"> - Ils proviennent de la moelle osseuse et ont des rôles d'absorption et de lyses d'agents pathogènes. - Ils assurent la présentation d'antigène aux lymphocytes et secrètent des cytokines qui participent à l'agression tissulaire par la libération de métabolites de l'oxygènes.
Les lymphocytes	<ul style="list-style-type: none"> - Sont la troisième lignée de leucocytes, se retrouvent dans le sang et les tissus lymphoïdes. - Ils sont de deux types : Lymphocytes B : qui par différenciation donnent naissance aux plasmocytes, producteurs d'immunoglobulines. Lymphocytes T : responsable de l'immunité à médiation cellulaire.
Les polynucléaires éosinophiles	<ul style="list-style-type: none"> - Sont des granulocytes circulants produits dans la moelle osseuse, présentent de grands granules qui contiennent la protéine basique majeure de l'éosinophile. - Ils libèrent les protéines granulaires toxiques, les ERO, les cytokines, de médiateurs lipidiques, et les dérivés de l'acide arachidonique.

<p>Les plaquettes sanguines</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Un élément clé liant les processus de l'hémostase, de l'inflammation et de la réparation tissulaire, et ils favorisent la formation de caillots. - Contiennent un certain nombre de médiateurs inflammatoires, et leur libération permet aux plaquettes de recruter des leucocytes au foyer de l'inflammation.
<p>Les cellules endothéliales</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Jouent un rôle important dans l'initiation, l'amplification et la résolution de la réponse inflammatoire. - Maintien de l'intégrité vasculaire et la régulation de l'agrégation plaquettaire.

I.4. Les médiateurs d'inflammation :

Le processus inflammatoire est un phénomène qui fait intervenir plusieurs molécules appelées médiateurs de l'inflammation, leur production est déclenchée par les inducteurs de l'inflammation et interviennent dans la modulation et la régulation du processus inflammatoire, ces médiateurs peuvent être dérivés des protéines plasmatiques ou sécrétés par des cellules, donc on distingue deux types, les médiateurs plasmatiques et les médiateurs cellulaires (Douaouri, 2018 ; Boudjouref, 2019 ; Amroun, 2021).

I.4.1. Le système d'activation plasmatique :

Il s'agit des protéases plasmatiques qui sont constituées de trois systèmes enzymatiques majeures intervenant dans l'inflammation : le système du complément, le système de la coagulation/fibrinolyse, et le système de kinines/kallicrénine (Zeghal et Sahnoun, 2013).

En effet, Le système du complément est un ensemble de composants, de récepteurs et de régulateurs, qui représente un élément clé de l'immunité innée, il est activé lors d'une infection ou d'une lésion tissulaire par l'une des trois voies principales (classique, lectine (MBL) et alternative), dont la fonction principale est la défense contre les microbes (Murphy, 2008 ; Douaouri, 2018). Il regroupe un ensemble de protéines sériques comme les C3a, C4a (Anaphylatoxines) qui augmentent la perméabilité vasculaire, C3b (opsonisation), MAC, C5a (pro-inflammatoires) qui assure la chimio-taxie leucocytaire et active la voie du métabolisme de l'acide arachidonique (Murphy, 2008 ; Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Diallo, 2014).

Les kinines sont de puissants agents inflammatoires formés par le facteur XII (facteur Hagemann) et par certaines protéases (la sérine protéase kallikréine) dans le plasma et les tissus, interviennent pendant la phase initiale vasculo-exsudative provoquent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire, la plus connue des kinines est la bradykinine, elles proviennent du clivage des kininogènes (Murphy, 2008 ; Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Diallo, 2014).

Elles sont rapidement dégradées en produits inactifs par les kininases et ont donc des fonctions rapides et de courte durée (Murphy, 2008).

Des facteurs protéiques de coagulation, de fibrino-formation et de fibrinolyse sont également impliqués dans la réaction inflammatoire et aboutissent à la formation d'un caillot sanguin et la fibrine; un composé important de l'exsudat inflammatoire, constituant une matrice qui limiter le foyer inflammatoire et permet aux cellules inflammatoires de se déplacer, le système de coagulation est aussi déclenché par l'activation du facteur XII (Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Diallo, 2014).

I.4.2. Les médiateurs cellulaires :

Les changements locaux qui surviennent au niveau du site inflammatoire sont le résultat de la production des médiateurs cellulaires par les plaquettes circulantes, les basophiles, les PMN, les cellules endothéliales, les monocytes/macrophages, les mastocytes tissulaires, et par le tissu lésé lui-même, ils sont classés selon leurs propriétés biochimiques ; des amines biogènes/vasoactives, des produits de métabolisme de l'acide arachidonique (prostaglandines/leucotriènes), et les cytokines (Murphy, 2008 ; Douaouri, 2018 ; Meziti, 2018).

Tableau 03 : Les médiateurs cellulaires, leur origine cellulaire et leurs effets biologiques (Murphy, 2008 ; Zeghal, 2013 ; Diallo, 2014).

Médiateurs	Exemple	Origine	Effets biologiques
Les amines vasoactives	Histamine et sérotonine.	La dégranulation des mastocytes et des plaquettes.	La vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire et le chimiotactisme.
Les médiateurs lipidiques	Leucotriène, et prostaglandine.	Métabolisme de l'acide arachidonique par la phospholipase A2.	La vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire l'attraction des polynucléaires, stimuler l'agrégation plaquettaire, la fièvre, d'œdèmes et les douleurs.
Les cytokines	TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, et l'interféron γ .	Monocytes, macrophages activés, plaquettes, et lymphocytes.	Chimiotactisme, Activation cellulaire, la production des ERO, Intervient dans la réparation tissulaire.

I.5. Les pathologies inflammatoires :

L'inflammation est souvent considérée, depuis longtemps, un élément clé de la progression pathologique des maladies systémiques, notamment le cœur, le pancréas, le foie, les reins, les poumons, le cerveau, le tractus intestinal et l'appareil reproducteur (**Chen et al., 2017**).

Trois voies principales, NF- κ B, MAPK et JAK-STAT, ont un rôle majeur dans l'inflammation, et le dérèglement d'une ou plusieurs de ces voies peut entraîner une maladie, et elle est tellement liée à la pathogenèse de ces maladies inflammatoires qu'il devient difficile de déterminer la cause et la conséquence de ces troubles (**Afsar, 2011 ; Chen et al., 2017**) dont il existe plusieurs exemples :

- Maladies dans lesquelles l'inflammation joue le rôle pathogénique principal : Asthme, Polyarthrite rhumatoïde, Artériosclérose, Arthrose, Goutte, Maladie de Crohn, ... etc. (**Meziti, 2018**).
- Maladies infectieuses dans lesquelles l'inflammation intervient dans la pathologie : Hépatite C, Tuberculose, Gastrite induite par *Helicobacter pilory*, Dysenterie bactérienne, ... etc. (**Meziti, 2018**).
- Maladies d'origines diverses dans lesquelles la fibrose post-inflammatoire est le facteur principal de la pathologie : Fibrose pulmonaire idiopathique, Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique Bilharziose (**Meziti, 2018**).

Une meilleure connaissance des voies de la réponse inflammatoire et les mécanismes moléculaires contribuera sans aucun doute à améliorer la prévention et le traitement des maladies inflammatoires (**Chen et al., 2017**).

I.6. Les anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires sont des substances qui agissent sur le gonflement et la douleur et ciblent les molécules clés dans la physiopathologie de la réaction : la PLA2, la lipoxigénase, la cyclooxygénase et les cytokines, et ne sont utilisés que lorsque les processus de réactions inflammatoires sont exagérés par rapport à la cause initiale, leurs principaux inconvénients sont la mauvaise tolérance digestive et les nombreuses contre-indications (**Diallo, 2014 ; Hajjaj, 2017 ; Habouche et Mimoune, 2019**).

I.6.1. Les anti-inflammatoires médicamenteux :

Il existe deux grands groupes :

I.6.1.1. Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS) :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes, C'est un groupe de médicaments de structure chimique homogène dont le noyau de base est le Prégnane, se sont des dérivés synthétiques de la cortisone qui sont de puissants anti-inflammatoires doués également de propriétés immuno-modulatrices, analgésique, antipyrétique et antiallergiques, et ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, et les maladies auto-immune (Diallo, 2014 ; Hajjaj, 2017 ; Meziti, 2018).

Leur mécanisme d'action est le même que celui des glucocorticoïdes endogènes, ils se lient au récepteur des glucocorticoïdes dans le cytoplasme, ceci conduit à une élévation de la transcription des gènes codants pour les protéines anti-inflammatoires, et de réprimer l'excès d'expression des gènes pro-inflammatoires codant pour les cytokines, les chimiokines, les molécules d'adhésion cellulaire, les enzymes inflammatoires et les récepteurs pour atténuer le processus inflammatoire et rétablissant ainsi l'homéostasie (Meziti, 2018 ; Amroun, 2021). Les A.I.S stimulent aussi la synthèse d'une protéine, la lipocortine, qui inhibe la PLA2, qui libère l'acide arachidonique des phospholipides de la membrane (Diallo, 2014 ; Hajjaj, 2017).

L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables et le risque s'accroît avec le traitement prolongée et l'augmentation de la posologie (Meziti, 2018). Divers troubles peuvent être observé qui peuvent être aiguës ou chroniques tels que l'hypertension artérielle, l'hyperglycémie, l'ostéoporose, les troubles de l'humeur, l'apparition d'ulcères gastroduodénaux la prise de poids et le syndrome de Cushing poussant à l'arrêt immédiat du traitement (Meziti, 2018 ; Amroun, 2021).

I.6.1.2. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe de médicaments qui ont des effets analgésiques et antipyrétiques et, à des doses plus élevées, des effets anti-inflammatoires, ont été utilisés avec succès depuis plus de 3000 ans et ils sont toujours utilisés quotidiennement par des millions de patients à travers le monde (Fokunang et al., 2018 ; Meziti, 2018).

Selon Fokunang et ses collaborateurs (2018), l'aspirine, l'ibuprofène et le naproxène, sont les membres les plus connus de ce groupe de médicaments, qui sont tous en vente libre dans la plupart des pays. Il s'agit essentiellement de dérivés d'acides carboxyliques, présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non-sélective de l'enzyme

cyclooxygénase, à savoir COX 1 et COX 2, tandis que les effets indésirables sont largement dus à l'inhibition de la COX1 (Diallo, 2014 ; Fokunang et al., 2018 ; Meziti, 2018).

Cependant et comme pour les AIS, l'usage des AINS est associé à de nombreux effets indésirables avec une prévalence considérable de nouvelles maladies et de mortalité, en particulier l'aspirine, peuvent provoquer des saignements et des ulcères gastro-intestinaux (Fokunang et al., 2018 ; Meziti, 2018).

I.6.2. Les anti-inflammatoire d'origine naturelle :

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), estime que 80 % de la population mondiale dépend essentiellement à des médicaments à base de plantes pour ses besoins de santé primaires, et a tenté d'identifier toutes les plantes médicinales utilisées à l'échelle mondiale et a répertorié plus de 20 000 espèces (Boubekri et al., 2014 ; Murugesan et Deviponnuswamy, 2014).

Les plantes médicinales sont des drogues végétales utilisées depuis longtemps dans la médecine populaire pour assurer le soulagement des maladies inflammatoires, la fièvre, la douleur, etc. dont au moins une partie de la plante possède des propriétés médicamenteuses (Pasedeloup-Grenez, 2019 ; Ghauri et al., 2021).

L'activité anti-inflammatoire de ces plantes est due à leur richesse en métabolites secondaires bioactifs ; les polyphénols en particulier les flavonoïdes, les stérols, les alcaloïdes, les coumarines les terpènes, ... etc. qui peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire (Meziti, 2018).

Ces dernières années, plusieurs études, *in vitro* et *in vivo*, sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier l'effet anti-inflammatoire des plantes utilisées, leur mécanisme d'action et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes (Meziti, 2018 ; Rahmani et al., 2016). Environ 47 plantes et 52 molécules extraits de plantes ont jugées bénéfiques pour le traitement de l'inflammation ont été prouvés par des études clinique et précliniques (Maione et al., 2016). Les résultats biochimiques de ces études montrent clairement le rôle potentiel des plantes et/ou leurs composés l'inhibition de la formation des principaux médiateurs pro-inflammatoires du métabolisme de l'acide arachidonique via l'inhibition des cyclooxygénases et lipoxygénases. Des exemples de plantes pour lesquels le mode d'action a été mis en évidence sont indiqués dans le tableau 04 :

Tableau 04 : L'activité anti-inflammatoire de quelques plantes médicinales (Maione *et al.*, 2016 ; Ghasemian *et al.*, 2016 ; Abu Bakar *et al.*, 2018).

Nom botanique	Partie utilisée	Mécanisme d'action
<i>Boswellia serrata</i>	N/A	Modulation des médiateurs inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , et PGE2).
<i>Cimicifuga racemosa L.</i>	Rhizomes	Inhibition de la production de TNF- α par la régulation négative des activités de ERK et de NF- κ B.
<i>Eriobotrya japonica</i>	Feuilles	Inhibition de l'IL-8, de l'activation du NF- κ B et de l'expression de l'ARNm de l'iNOS.
<i>Forsythia koreana Nakai</i>	Fruits	Inhibition des activités de COX-2 et de iNOS.
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Racines	Inhibition potentielle du NO, des cytokines inflammatoires (IL-6, IL-1 β et TNF- α) et de la PGE2, ainsi que prévention du métabolisme de l'acide arachidonique et de la biosynthèse des eicosanoïdes, entraînant l'inhibition de la COX-2.
<i>Oenothera biennis</i>	N/A	Modulation de l'oxyde nitrique (NO), du TNF- α , de l'IL-1 β et du thromboxane B2 (TXB2) conduisant à la suppression de l'expression du gène COX-2.
<i>Olea europaea</i>	Huile d'olive vierge	Modulation du lipopolysaccharide plasmatique postprandial, des cytokines pro-inflammatoires, du TXB2 et du LTB4.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	N/A	Inhibition de l'infiltration des neutrophiles et réduction des médiateurs pro-inflammatoires : TNF- α et IL-1.
<i>Salvia officinalis</i>	Feuilles	Inhibe la production de PGE2 via l'inhibition de la PGE2 synthase-1 microsomale.
<i>Uncaria tomentosa</i>	N/A	Inhibition du TNF- α et diminution de la production de PGE2.
<i>Urtica dioica</i>	Feuilles	Potentiel inhibiteur sur le facteur de transcription pro inflammatoire NF- κ B.

II. STRESS OXYDANT ET SYSTEME ANTIOXYDANT :

II.1. Stress oxydant :

Stress oxydant, nommé aussi stress oxydatif, peut se définir par un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants, soit par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules et les tissus, et/ou un déficit des mécanismes de défense antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques), ceci conduit à l'endommagement irréversible des biomolécules telles que l'ADN, les protéines, et les lipides (Remmelt, 2013 ; Hussain *et al.*, 2016; Meziti, 2018).

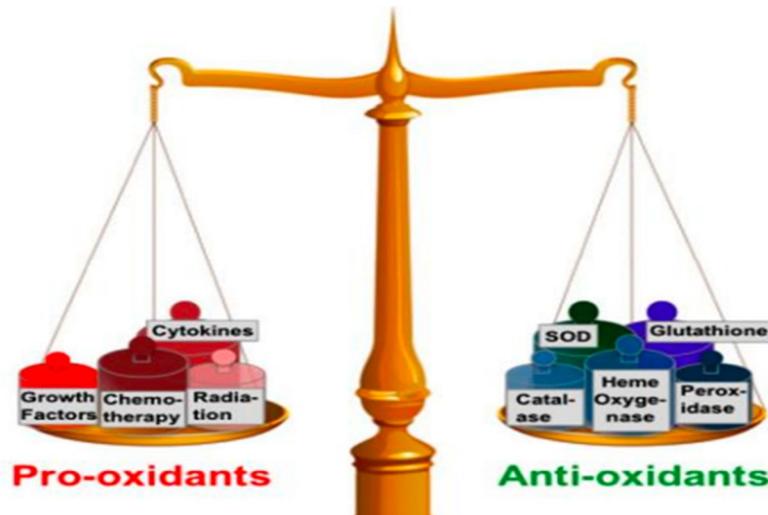


Figure 03 : déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydantes (Bayala, 2014).

II.1.1. Les espèces oxygénées activées et leurs propriétés :

Un radical libre est toute espèce qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur ses orbitales électroniques externes. La présence d'un électron célibataire confère une grande instabilité, donc, leur durée de vie en solution est très courte (Halliwell, 1993 ; Amzal, 2010). Le caractère radicalaire de ces molécules ne disparaît pas, car l'électron libre peut passer sur d'autres molécules (le phénomène d'oxydation en chaîne), et il ne faut pas penser que tous les radicaux de l'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical et dépend de l'environnement où ils sont présents (Amzal, 2010 ; Bensakhria, 2019).

La découverte des espèces chimiques radicalaires, présentes normalement dans l'organisme, a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologique, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires, tels l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} , Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se

forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003). Le tableau 05 résume les espèces réactives radicalaires et non radicalaires.

Tableau 05 : Les espèces réactives radicalaires et non radicalaires (Amzal, 2010 ; Meziti, 2018).

Espèces réactives	Symbole	Propriétés
Anion super oxyde	O_2^{\bullet}	<ul style="list-style-type: none"> - Un radical peu actif. - Produit par la chaîne de transport d'électrons. - Génère les ERO.
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	<ul style="list-style-type: none"> - Produit par la dismutation spontanée et/ou enzymatique de l'anion super oxyde. - N'est pas un radical libre. - Peut diffuser à travers les membranes.
Radical hydroxyle	$\bullet OH$	<ul style="list-style-type: none"> - L'espèce la plus réactive dans l'attaque des molécules biologique. - Produit à partir de H_2O_2 dans la réaction de fenton en présence de Fe^{2+} ou Cu^{2+}.
Nitrique oxyde	NO	<ul style="list-style-type: none"> - Un radical libre endogène. - Produit par l'oxyde nitrique synthétase. - Se combine avec O_2 pour produire ERN.
Radical pyroxyde	ROO^{\bullet}	<ul style="list-style-type: none"> - Un radical organique pyroxyde, - Produit durant la dégradation lipidique (nommé aussi LOO^{\bullet}).
Acide hypochlorique	HOCl	<ul style="list-style-type: none"> - Produit durant le sursaut respiratoire pour détruire les organismes invasifs dans les neutrophiles. - L'espèce réactive est OCl.
Oxygène singulet	1O_2	<ul style="list-style-type: none"> - Produit sous l'effet de l'absorption des rayons UV à des pressions importantes en oxygènes. - Il disparaît trop vite pour être plus toxique <i>in vivo</i>.
peroxynitrite	$ONOO^-$	<ul style="list-style-type: none"> - Un agent oxydant puissant. - N'est pas un radical libre. - Il peut conduire à générer le dioxyde de nitrogène NO_2 qui est un radical.

II.1.2. Les conséquences du stress oxydants sur les molécules biologiques :

Lors du stress oxydatif, la production excessive de radicaux libre entraîne des lésions irréversibles directes sur les biomolécules telles que : les lipides, les protéines, l'acide désoxyribonucléique, et les carbohydrates (**Bayala, 2014 ; Meziti, 2018**).

Les lipides (les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires) sont extrêmement sensibles aux attaques de radicaux libres, ils sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, qui arrache un hydrogène sur les carbones situés sur les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires (**Favier, 2003 ; Meziti, 2018**). Cette réaction est appelée peroxydation lipidique, elle cause d'importants dommages par la formation des LDL (Lipoprotéines à densité légère) oxydés qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires conduit à la désorganisation de la membrane en altérant ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Favier, 2003 ; Amzal, 2010 ; Bayala, 2014 ; Meziti, 2018**).

Les protéines sont également très susceptibles d'être attaqués par les espèces réactives d'oxygènes (ERO) et les espèces d'azotes réactives, entraînant des dommages significatifs tels que la fragmentation des macromolécules, la formation des dimères en d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques et l'inactivation des enzymes (modifications fonctionnelles) (**Amzal, 2010 ; Bayala, 2014 ; Meziti, 2018**).

L'ADN nucléaire et mitochondriale sont très sensibles aux modifications oxydatives par les espèces oxygènes réactifs, ces attaques radicalaires conduisent à des modifications au niveau des bases azotées, des cassures des chaînes simples et doubles brins d'ADN, des sites abasiques et pontage avec des protéines, et la surcharge des lésions mène à des effets mutagènes, l'arrêt de la réplication de l'ADN, entraînant une mort cellulaire ou bien la formation des cellules cancéreuses (**Amzal, 2010 ; Bayala, 2014 ; Meziti, 2018**).

Il n'en demeure pas moins que les espèces réactives de l'oxygène peut attaquent aussi les mucopolysaccharides, car la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été nettement moins étudiée que pour d'autres macromolécules. De plus, le glucose peut être oxydé dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH[•], qui vont conduire au clivage des protéines ou à leur glycation par fixation de cétoaldéhyde, formant un dérivé AGE. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

II.1.3. Rôles physiologiques des radicaux libres (le paradoxe) :

Les espèces chimiques radicalaires, à des niveaux homéostatiques, sont produites par divers mécanismes physiologiques et ont diverses actions sur le fonctionnement cellulaire, parfois, la production peut devenir excessive et donc l'organisme va devoir se protéger par différents systèmes antioxydants (**Burton et Jauniaux, 2011 ; Ghalem, 2014**).

Dans leur définition du terme, Favier (2003), déclare qu'en biologie, le paradoxe des radicaux libres est qu'il existe des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces essentielles à la vie. En d'autres termes, les radicaux libres sont non seulement toxiques, mais ils sont également utiles au corps à des doses raisonnables, y compris, à part la phagocytose et la défense immunitaire contre les agents pathogènes, ils sont nécessaires pour la communication cellulaire, la destruction des cellules tumorales par apoptose, la régulation des gènes, le fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, le fonctionnement des enzymes... etc. (**Favier, 2003 ; Ghalem, 2014**).

II.2. Le système antioxydant :

Autour de cette ambiguïté entre danger et utilité de l'oxygène et des radicaux libres, et afin de faire face au stress et aux dommages résiduels engendrés par les ERO, le corps humain est doté d'un arsenal d'antioxydants qui ont pour rôle, de neutraliser et de dégrader les radicaux libres toxiques pour les tissus et de maintenir l'homéostasie redox (**Davies, 2001 ; Leverage, 2009 ; Amzal, 2010 ; Birben et al, 2012**).

Un antioxydant, par définition du terme, est une substance qui est capable de récupérer l'électron libre et de la conduire vers une réaction chaîne spécifique, et donc retarde ou empêche de manière significative l'oxydation des biomolécules comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates (**Sies, 1997 ; Leverage, 2009 ; Bayala, 2014; Boudjouref, 2019**). On peut les diviser en deux catégories selon la source : les antioxydants endogènes, proprement dits sont synthétisés par l'organisme, et les antioxydants apportés par notre régime alimentaire (exogène) (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

II.2.1. Les antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes regroupent les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, qui sont nécessaires au maintien de la vie en préservant l'homéostasie redox intracellulaire et en limitant les dommages cellulaires causés par les ERO (**Rahal et al., 2014**).

II.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques :

Parmi les enzymes antioxydants principales impliquées dans la neutralisation des espèces réactives : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase et réductase (GPx/GR) (Joshi, 2017).

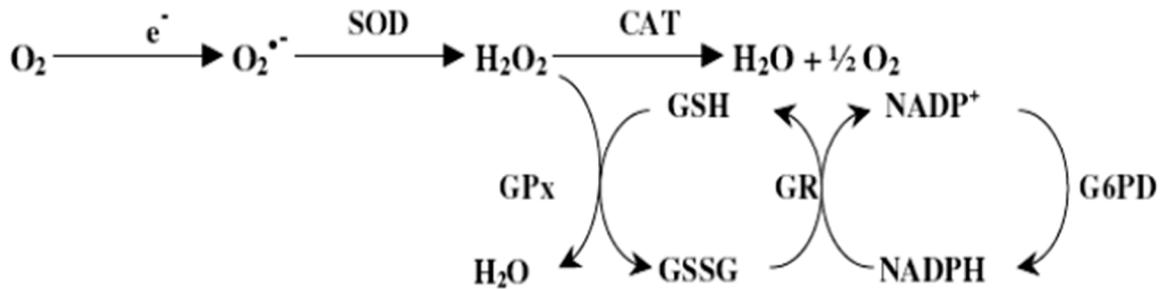


Figure 04 : Les enzymes antioxydants (Meziti, 2018).

Les SOD sont des métalloprotéines constituent une première ligne de défense, en empêchant l'accumulation cellulaire de superoxyde. Ce sont des enzymes qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , moins réactif, et en oxygène moléculaire O_2 (Amzal, 2010 ; Rimmelt, 2013). Il existe plusieurs iso-formes de la SOD qui catalysent la même réaction, mais varient en fonction de la nature du centre métallique actif, de leurs séquences d'acides aminés et d'autres caractéristiques, les trois formes de SOD présentes chez l'homme sont la CuZn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la SOD extracellulaire qui se trouve au niveau de la lymphe et du plasma (Joshi, 2017 ; Meziti, 2018).

Ensuite, le peroxyde d'hydrogène est neutralisé par la catalase, cette enzyme a une forte concentration dans le foie, les peroxysomes et dans les hématies, elle agit en synergie avec la SOD car leur rôle principal est d'accélérer la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène (Grissa, 2010 ; Rimmelt, 2013 ; Boudjouref, 2019 ; Meziti, 2018).

La glutathion peroxydase est une séléno-enzyme (six iso-formes) localisée dans le cytosol et dans les mitochondries, c'est une enzyme qui catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau par l'oxydation de GSH en GSSG (Le GSH-Px entre en compétition avec la catalase pour le H_2O_2 comme substrat), mais aussi d'autres hydro-peroxydes organiques en eau ou en alcools en utilisant le glutathion réduit (Rimmelt, 2013 ; Joshi, 2017 ; Meziti, 2018 ; Boudjouref, 2019). La glutathion réductase (GR), une flavoprotéine, se présente où il se trouve la glutathion peroxydase, dans le cytosol et dans les mitochondries, a pour rôle de régénérer le glutathion

réduit à partir du glutathion oxydé (GSSG), nécessitant du NADPH (Grissa, 2010 ; Joshi, 2017 ; Meziti, 2018).

II.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques :

L'action protectrice enzymatique est renforcée par les antioxydants non enzymatiques, regroupant les composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être issus du métabolisme cellulaire comme l'acide urique, ou des produits de synthèse comme l'histidine dipeptide et le glutathion, un tripeptide (L-glutamyl-L-cystéinyl-L-glycine) qui comprend un groupe thiol libre et se trouve en abondance dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries (Amzal, 2010 ; Birben, 2012 ; Pawar, 2016 ; Meziti, 2018). Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton (Boubekri, 2014).

II.2.2. Les antioxydants exogènes :

Les composants naturels d'origine alimentaire ont fait l'objet d'une grande attention au cours des deux dernières décennies en raison de leurs diverses activités biologiques, telles que leur pouvoir antioxydant (Rahal et al., 2014). Ce groupe comprend plusieurs composés alimentaires dotés de propriétés antioxydantes, provenant généralement de sources naturelles, telles que les fruits, les légumes et les extraits de plantes, En particulier, Les oligoéléments (par exemple, le zinc et le sélénium), les vitamines (C et E) et Composés phénoliques trouvés dans les extraits de plantes (Kruidenier et Verspaget, 2002)

Ces dernières années, il y a un intérêt énorme au stress oxydatif et à l'activité antioxydante des plantes médicinales, pour l'identification de divers antioxydants alimentaires tels que la vitamine E, C et le β -carotène et d'autres molécules bioactives dans les extraits de plantes, notamment les phénols, les flavonoïdes, les saponines, les glycosides et les tannins... etc. (Willcox et al., 2004 ; Rahal et al., 2014 ; Mansoor, 2015). Les antioxydants que l'on trouve couramment dans les aliments naturels sont les suivants :

- **Vitamine E** : α -tocophérol (la forme la plus active et la plus absorbée), un antioxydant majeur possède une structure qui lui permet de capter les radicaux libres dans les zones lipophiles et hydrophiles des membranes cellulaires, il possède aussi une autre action, la neutralisation de 1O_2 (Meziti, 2018 ; Bensakhria, 2019).
- **Vitamine C** : l'acide ascorbique est un agent réducteur et chélateur qui réagit directement sur les radicaux libres comme le radical OH^\bullet ou $O_2^{\bullet-}$, pour former un radical semidehydroascorbate peu réactif qui est rapidement oxydé en acide déshydroascorbique,

elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E (**Meziti, 2018 ; Bensakhria, 2019**).

- **β -carotène** : le caroténoïde le plus commun et le plus étudié, c'est le précurseur de la vitamine A, elle interrompt le processus de la peroxydation lipidique (**Bensakhria, 2019**).
- **Les composés phénoliques** : les polyphénols sont capables de protéger contre le stress oxydatif par divers mécanismes, par exemple, l'inhibition des enzymes impliquées dans la production des ERO, telles que les oxydes nitriques synthétases (NOS) et la Xanthine oxydase (XO), ces mécanismes dépendent généralement du nombre de groupes hydroxyles (**Hussain et al., 2016 ; Zhang et Tsao, 2016**). Ils servent de bons donneurs d'électrons ou d'atomes d'hydrogène, capables de neutraliser les radicaux libres (**Hussain et al., 2016 ; Zhang et Tsao, 2016**).
- **Le sélénium** : un oligoélément essentiel, impliqué principalement dans les systèmes de défenses antioxydants, c'est le centre actif de nombreuses sélénoprotéines parmi lesquelles plusieurs sont des enzymes de défense contre les oxydants, comme la glutathion peroxydase (cofacteurs de la GPx) (**Lesley et al., 2003 ; Ducros et Favier, 2004**).

III. RELATION ENTRE LE STRESS OXYDANT ET L'INFLAMMATION :

Les ERO, le stress oxydatif et l'inflammation font partie des mécanismes de défense habituels contre les agents pathogènes, il est possible d'établir un lien entre ces éléments, le fait que chacun entraîne l'autre dans un mécanisme de "feed forward", cette relation a été documentée par de nombreux auteurs, mais elle est encore mal maîtrisée car les causes du déclenchement du processus inflammatoire sont multiples, on peut dire que, le stress oxydatif, dans certaines situations particulières, puisse être à l'origine de la réaction inflammatoire, mais la séquence inverse d'événements est également vraie, (stress oxydatif induit par l'inflammation), ils sont donc étroitement liés (Pasquier, 1995 ; Gill et al., 2010 ; Chatterjee, 2016 ; Lauridsen, 2019).

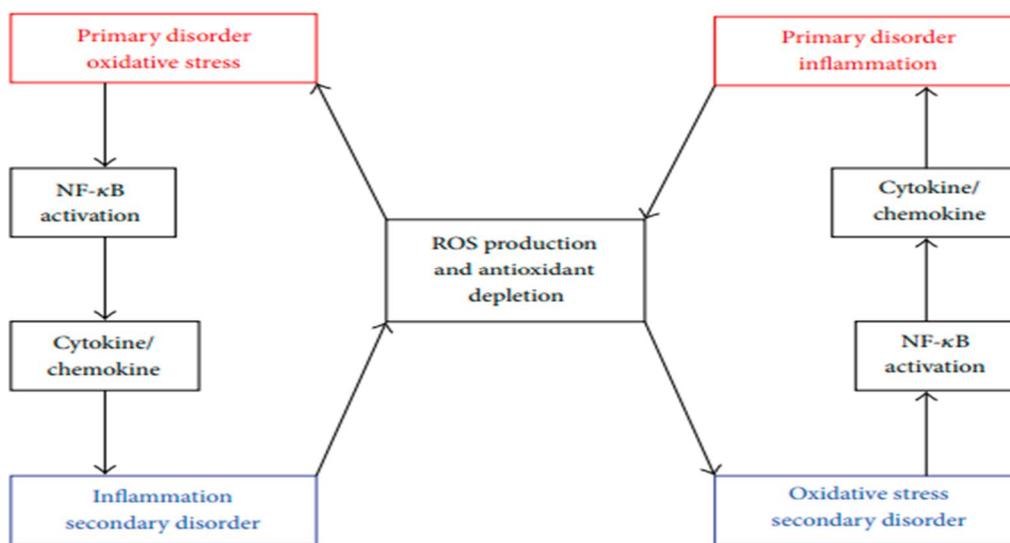


Figure 05 : Présentation de l'interdépendance entre le stress oxydatif et l'inflammation (Biswas, 2015).

III.1. Rôle des ERO dans l'induction de l'inflammation :

Les systèmes biologiques peuvent produire des ERO par des voies métaboliques normales telles que les mitochondries et la xanthine oxydase; libèrent l'anions super oxyde, qui est à l'origine d'autres ERO, mais dans certaines situations, les niveaux élevés de ERO peuvent initier et moduler diverses cascades de signalisation intracellulaire qui renforcent l'expression de gènes pro-inflammatoires et déclenchent la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires, et donc, inflammation (Pasquier, 1995 ; Khansari et al., 2009; Vaziri, 2008 ; Biswas, 2015 ; Lauridsen, 2019).

III.1.1. Facteurs de transcription pro-inflammatoires :

Les facteurs de transcription régulés par les ERO tels que le facteur nucléaire kappa B (NF-κB) sont, quand ils sont sous une forme inactive, situés dans le cytoplasme des cellules et fixés à des protéines cytosoliques comme IκB. Les ERO par exemple, que H₂O₂, conduisent à une

modification des protéines I κ B, l'inhibiteur de NF- κ B kinase (IKK), ce qui provoque sa dégradation et la libération du NF- κ B qui, à son tour, peut se déplacer vers le noyau où, seul ou en combinaison avec d'autres facteurs de transcription, induit l'expression des gènes codant pour l'IL-6, le TNF- α , MIP-1 α , IL-8, IL-1 β , iNOS, COX-2 (à l'origine de la synthèse de PGE2 notamment) ou encore plusieurs autres facteurs responsables de réponse immunitaire de type Th-2 (Reimund, 2002 ; Chatterjee, 2016). Le NF- κ B intervient dans les processus de réponse inflammatoire, de réponse immunitaire innée et acquise, d'adhésion cellulaire par l'augmentation de l'expression des molécules d'adhésion, et aussi dans le contrôle du cycle cellulaire et de protection contre l'apoptose (Xiao et Ghosh, 2005).

Outre le NF- κ B, d'autres facteurs de transcription, tels que la protéine activatrice-1 (AP-1), le facteur inductible par l'hypoxie (HIF-1 α), le récepteur gamma de l'activateur de la prolifération des peroxyosomes (PPAR- γ), sont aussi en partie sous le contrôle des dérivés réactifs de l'oxygène. L'activation se fait essentiellement par leur libération et leur translocation ultérieure dans le noyau où ils peuvent "activer" l'expression de gènes spécifiques qui induisent l'expression de molécules d'adhésion cellulaire (CAM), de facteurs de croissance (tels que le facteur de croissance endothélial vasculaire, VEGF), de cytokines et de chimiokines (Chatterjee, 2016). Le tableau 06 résume les acteurs régulés par les ERO impliqués dans divers aspects de la réponse inflammatoire cellulaire et tissulaire.

Tableau 06 : Les facteurs de transcription à régulation redox, les chimiokines et les cytokines (Chatterjee, 2016)

Transcription factors	
NF- κ B	-Réponse immunitaire, inflammation, prolifération.
AP-1	-Différenciation cellulaire, la survie, l'apoptose, la synthèse des cytokines.
HIF-1 α	-Vascularisation, angiogenèse, migration cellulaire, invasion tumorale.
Nrf-2	-Enzymes antioxydants, inhibition de l'inflammation.
p53	-Apoptose, anti-prolifération, réparation de l'ADN.
PPAR- γ	-Manipulation des lipides, régulation adipeuse, inflammation.
Cytokines	
TNF- α et - β (tumor necrosis factor).	-Recrute les neutrophiles et les macrophages.
IL-1 to -15 (Interleukins).	-Pro-inflammatoire, mobilise les neutrophiles, favorise l'angiogenèse.
TGF- α et - β (transforming growth factor).	-Régulateur immunitaire ; inhibe la croissance et l'activation.

Chimiokines	
MCP-1 et -3 (Monocyte Chemoattractant Protein).	-Migration des monocytes
MIP-1 α (Macrophage Inflammatory Protein-1).	-Activation des macrophages, allergie.
RANTES (régulée lors de l'activation, exprimée et sécrétée par la T normale, CCL5)	-Migration cellulaire.
IL-8.	-Activation des neutrophiles.

III.1.2. Toll like receptors (TLRs) et DAMPs :

De nombreuses études ont montré que l'activation des TLR joue un rôle important dans le déclenchement et la propagation de l'inflammation dans les conditions de stress oxydatif. Ceci peut expliquer le mécanisme par lequel le stress oxydatif induit une inflammation (Gill *et al.*, 2010).

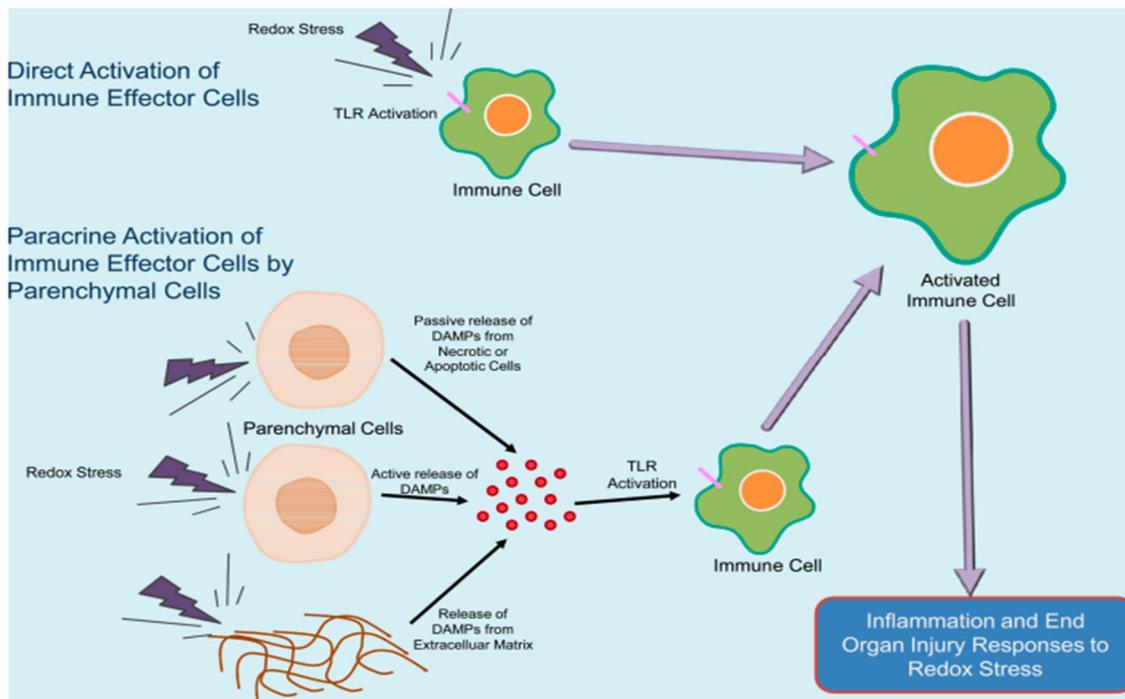


Figure 06 : Les modèles proposés pour l'activation des TLR par les DAMPs (Gill *et al.*, 2010).

Les TLR sont des protéines transmembranaires dotées de domaines répétitifs riches en leucine extracellulaires qui régulent la production de médiateurs inflammatoires et d'autres fonctions immunitaires cellulaires, semblent d'être activés par leurs ligands microbiens PAMPs tels que les LPS, avec le temps, des données ont commencé à montrer que les TLR peuvent également être activés par un certain nombre d'espèces réactives d'oxygène/azote et les molécules DAMPs (damage associated molecular pattern molecules) qui sont libérées dans des conditions de stress oxydatif (Bsibsi *et al.*, 2002 ; Gill *et al.*, 2010).

Gill et ses collaborateurs (2010) ont indiqué que, le stress oxydatif et le stress infectieux peuvent partager les mêmes voies de signalisation TLR, qui déclenchent une réponse inflammatoire par l'intermédiaire de molécules adaptatrices intracellulaires telles que le facteur de différenciation myéloïde 88 (MyD88) ou l'activateur d'interféron associé au récepteur Toll (TRIF), qui activent diverses cascades de transduction du signal et induisent des modifications des facteurs de transcription, tels que le NF- κ B qui, à son tour, déclenche la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires, et donc l'inflammation.

Gill et ses collaborateurs (2010) ont identifié les protéines de choc thermique (Hsp) comme l'un des premiers DAMPs potentiels à activer la signalisation TLR4-dépendante après un stress oxydatif, comme Hsp70 qui a été démontré comme médiateur des réponses inflammatoires en activant la signalisation TLR4 pour libérer le TNF- α , Hsp72 peut également activer la signalisation TLR2 et TLR4 pour libérer la protéine inflammatoire de macrophage (MIP)-2.

Donc la mobilisation des DAMPs pour activer la signalisation TLR pourrait représenter un lien entre le stress oxydatif et l'inflammation (Gill et al., 2010).

III.1.3. Peroxiredoxin-2 et inflammation :

Salzano et ses collaborateurs (2014) ont identifié la peroxiredoxine-2 (PRDX2), une enzyme intracellulaire redox-active ubiquitaire, comme un signal de danger libéré par les cellules subissant un stress et agissant comme un médiateur immunitaire, peut être libérée en réponse à des stimuli inflammatoires et agit comme un médiateur inflammatoire redox-dépendant et elle active les macrophages pour produire et libérer le TNF- α qui permet l'induction de la réponse inflammatoire.

III.2. L'inflammation : une cause majeure de stress oxydatif :

Comme le stress oxydatif peut induire une inflammation, il peut être aussi, selon Pasquier (1995), la conséquence de l'inflammation, dans la mesure où le déclenchement du processus inflammatoire n'implique pas initialement de ERO. Étant donné de ce qui est mentionné dans les chapitres ci-dessus, L'inflammation est une réponse immunitaire à une lésion ou à un stimulus excessif, en vue d'assurer l'élimination des agents agresseurs, implique les médiateurs de l'inflammation et l'infiltration de cellules inflammatoires et immunitaires (Pasquier, 1995 ; Chatterjee, 2016).

Au cours du processus inflammatoire, les cellules phagocytaires et non phagocytaires activées produisent une grande quantité de ERO et ERN sur le site inflammatoire, facilitent l'élimination des agents envahissant les tissus, mais dans certaines conditions pathologiques, il peut y avoir une génération accrue ou exagérée de ERO pendant des périodes prolongées,

favorisent le stress oxydatif, et les lésions tissulaires associés à l'inflammation chronique (Biswas, 2015 ; Chatterjee, 2016).

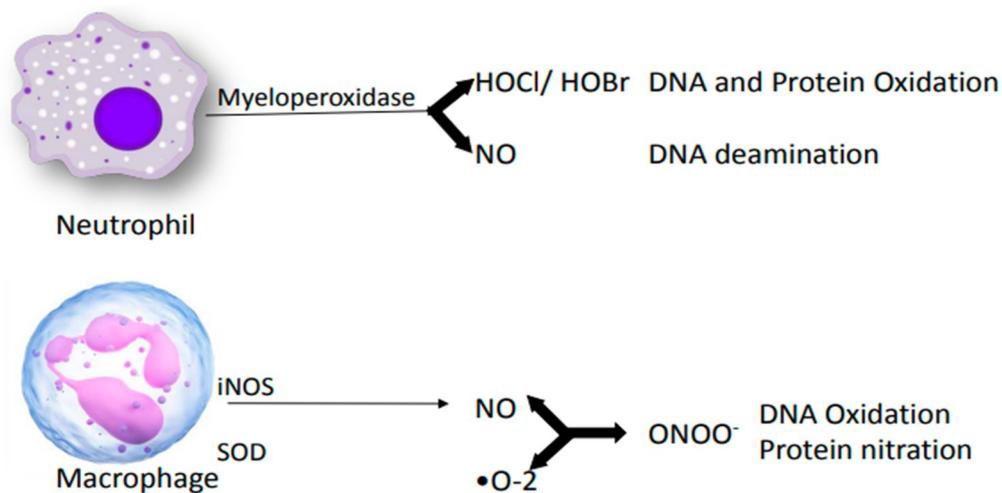


Figure 07 : Les radicaux libres générés pendant l'inflammation (Soomro, 2019).

III.2.1. NADPH oxydase (NOX):

De nombreuses études et auteurs ont démontré que la principale source de radicaux libres au cours du processus inflammatoire est la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase, une famille d'enzymes membranaires dépendante de l'oxygène permet de catalyser la production d'anions superoxyde (O_2^{\bullet}); donnent un électron du NADPH à l'oxygène moléculaire (O_2), localisés sur la membrane cellulaire normalement à l'état de repos, et classés par leur sous-unité catalytique, NOX (Pasquier, 1995 ; Vaziri, 2008 ; Fischer et Maier, 2015 ; Soomro, 2019).

La NADPH oxydase a été retrouvée dans de nombreux types de cellules, notamment les macrophages et les PMN, servait de source de ERO impliquée dans la signalisation cellulaire et l'homéostasie tissulaire dans les cellules saines, mais au cours des infections, l'activation des NADPH oxydases est considérablement accrue et l'augmentation des ERO qui en résulte est particulièrement importante pour détruire les microbes envahisseurs. Cependant, l'activation excessive de la NADPH oxydase, et donc, une génération exagérée de ERO, entraînant un déséquilibre entre production et protection, c'est-à-dire un stress oxydatif (Pasquier, 1995 ; Vaziri, 2008 ; Fischer et Maier, 2015).

Il a été reconnu qu'une variété de cytokines pro-inflammatoire induisent la production de ERO via l'activation de la NADPH oxydase après fixation sur leurs récepteurs spécifiques sur les membranes des PMN ou des macrophages (Pasquier, 1995 ; Vaziri, 2008 ; Khansari et al., 2009).

Par exemple, d'après Biswas (2016), La cytokine pro-inflammatoire interféron- γ augmente la production de ERO par l'activation de Dual oxydase 2, un membre de la famille des NADPH

oxydases. En plus, il a été démontré que la cytokine inflammatoire IL-6 produit des ERO par une activation accrue de la NADPH oxydase 4 (NOX4).

De plus, dans une recherche de Fischer et Maier (2015), la cytokine tumor necrosis factor (TNF), joue un rôle important dans l'inflammation, par l'activation et le recrutement de cellules immunitaires via son récepteur TNF 1 (TNFR1), qui peut directement induire un stress oxydatif par l'activation d'enzymes produisant des ERO et ERN, spécifiquement, le système NADPH oxydase NOX1 et NOX2.

III.3. Stress oxydant et syndromes inflammatoires chroniques :

Il existe une importante littérature sur la présence de stress oxydatif et/ou de déficience des systèmes antioxydants dans le cadre des maladies chroniques, particulièrement dans les syndromes inflammatoires chroniques. Dans ce chapitre nous nous sommes limités à certaines d'entre elles : les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), certaines atteintes pulmonaires chroniques et la polyarthrite rhumatoïde (PR).

III.3.1. Stress oxydant et maladies inflammatoires chroniques intestinales :

Un grand nombre d'études font état d'une augmentation du stress oxydatif au cours des MICI. D'après Reimund, (2002), Keshavarzian et ses collaborateurs (1992) et Simmonds et ses collaborateurs (1992) ont indiqué une élévation de la production de ERO par la muqueuse intestinale de patients atteints de MICI. Il a été démontré alors que ce stress oxydatif est responsable d'une peroxydation accrue des lipides, de même que d'une altération de certaines fonctions des cellules épithéliales (Levy *et al.*, 2000 ; McKenzie *et al.*, 1996).

Conjointement à ces travaux démontrant que le stress oxydatif intervient dans l'inflammation intestinale et dans la genèse et/ou le maintien des lésions tissulaires au cours de la rectocolite hémorragique (RCH) et de la maladie de Crohn (MC), plusieurs articles rendent compte d'une diminution des capacités des systèmes de défense antioxydants par le biais d'une diminution de la concentration de la SOD, de la métallothionéine et de la synthèse du glutathion au cours des MICI (Grisham, 1994 ; Lih-Brody *et al.*, 1996 ; Reimund, 2002). Certaines carences en vitamines antioxydants ou en minéraux, qui sont des cofacteurs des enzymes antioxydants, ont par ailleurs été signalées tant chez les enfants que chez les adultes (Reimund, 2002).

Selon Ospelt et Gay (2010), diverses études montrent clairement que l'expression des TLR est régulée de manière spécifique dans les MICI. La cause et les conséquences de cette régulation restent cependant peu claires. Un rôle des TLR, qui sont activés par divers PAMPs ou DAMPs, dans le développement des maladies inflammatoires de l'intestin est également suggéré par des

études génétiques, montrant une association positive ou négative de divers polymorphismes des TLR, notamment TLR2, TLR3 et TLR4, avec le développement de cette maladie.

En dépit de ces informations et de la théorie ci-dessus, cette problématique n'a pas été résolue de manière définitive. Il reste à prouver précisément la relation de cause à effet entre le stress oxydatif et les dommages inflammatoires dans les MICI : le déséquilibre oxydants/antioxydants est-il la cause ou la conséquence de l'inflammation ? La carence en micronutriments résulte-telle d'une carence d'apport et/ou d'une consommation excessive du fait du stress oxydant ? Pour répondre, au moins partiellement, à ces questions, seules des études d'intervention nutritionnelle peuvent être envisagées. (Reimund, 2002).

III.3.2. Stress oxydant et atteintes pulmonaires chroniques :

Depuis quelques années, un grand nombre de travaux expérimentaux ont permis d'étayer le rôle du stress oxydatif dans la pathogenèse de certaines maladies respiratoires inflammatoires chroniques telles que la bronchopneumopathie chronique obstructive, l'asthme ou la mucoviscidose.

Un certain nombre de recherches ont été menées sur les effets des espèces réactives de l'oxygène sur les différentes composantes de la fonction respiratoire. Néanmoins, la majorité des résultats acquis *in vitro* et surtout *in vivo* ont été obtenus chez l'animal. Les études menées chez l'homme ont relativement peu d'importance, à l'exception des expériences réalisées avec des cellules épithéliales bronchiques ou des cellules inflammatoires de l'arbre respiratoire (Reimund, 2002). Ces effets sont :

- Stimulation directe de la contraction musculaire lisse bronchique (H₂O₂)
- Augmentent la réponse contractile à : l'acétylcholine ou la méthacholine, l'histamine, la 5-hydroxy-tryptamine, la bradykinine, la substance P.
- Diminuent le nombre et la fonction des récepteurs α -adrénergiques
- Stimulent la prolifération des myocytes
- Augmentent la perméabilité bronchique
- Augmentent la production de mucus
- Diminuent le nombre et la fonction des cellules épithéliales ciliées
- Altèrent la structure des cellules épithéliales ciliées
- Modifient l'expression de certaines molécules d'adhésion
- Favorisent le recrutement local des cellules inflammatoires
- Modifient l'activation de certains facteurs transcriptionnels et la production d'autres médiateurs inflammatoires (eicosanoïdes, cytokines, etc.) (Henricks et Nijkamp, 2001).

III.3.3. Stress oxydant et polyarthrite rhumatoïde (PR) :

La PR est une maladie inflammatoire chronique des articulations, où la synoviale activée et hyperplasique envahit et détruit le cartilage et l'os. Les cellules synoviales activées, en particulier les fibroblastes synoviaux, sécrètent des molécules effectrices pro-inflammatoires et dégradant la matrice. Le déclencheur de cette activation aberrante est encore méconnu (**Ospelt et Gay, 2010**).

L'implication du stress oxydatif dans les mécanismes inflammatoires articulaires de la PR a fait l'objet d'une série d'études publiées ces dernières années. Parmi les facteurs à l'origine du stress oxydatif, une augmentation de la pression intra-synoviale, une diminution de la densité des capillaires synoviaux, des modifications du métabolisme du tissu synovial ou des lésions répétées d'ischémie-reperfusion dans les articulations malades ont été proposées (**Mapp et al., 1995 ; Reimund, 2002**).

En effet, la dégradation du tissu synovial, source de libération de fer, de cuivre et de protéines hémiques qui favorisent certaines réactions génératrices de ERO, de même que la présence de lymphocytes, mais surtout de macrophages activés et de PNN, au sein de la cavité synoviale, réunissent toutes les conditions nécessaires au développement du stress oxydatif. Cela est démontré par une augmentation du malondialdéhyde plasmatique chez les patients, corrélée à l'activité de la maladie, et, au niveau articulaire, par une augmentation de la concentration de l'ion superoxyde ou de la thiorédoxine dans le liquide articulaire, ou de la métallothionéine dans le tissu synovial. Le stress oxydatif dans la PR serait, aux yeux de certains chercheurs, à l'origine de la production de certains médiateurs génotoxiques responsables de mutations de p53 associées, entre autres, à des anomalies de la prolifération et de l'apoptose des synoviocytes à l'origine de la sévérité de la maladie. (**Reimund, 2002**).

En outre, Ospelt et Gay (2010), ont mentionné que plusieurs études ont confirmé que les TLR en général jouent un rôle dans le développement de la PR. Ces résultats suggèrent que TLR2 pourrait avoir un rôle protecteur dans la polyarthrite rhumatoïde, alors que la signalisation de TLR4 semble être préjudiciable.

IV. PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES :

IV.1. Présentation de la plante *Paronychia argentea* :

IV.1.1. Description botanique :

Paronychia argentea, fait partie de la famille des Caryophyllaceae (Sait *et al.*, 2015). Elle est largement éparpillée dans la région méditerranéenne (Belarbi *et al.*, 2014). Cette dernière est la plante la plus pratiquée en abondance dans les médecines conventionnelles en Algérie, elle est populairement célèbre sous le nom de thé arabe (Kassaret lahdjer, Fettatet lahdjer ou Bissat el-moulouk) (Veeraraghavan *et al.*, 2020), également connu sous le nom de thé algérien (Bouanani *et al.*, 2010).

Paronychia argentea (PA), est une plante pérenne et éternelle, mesure entre 30 à 50 cm de haut, Les feuilles jusqu'à 2 mm de long et 5 mm de large, elles sont lisses, linéaires, lancéolées et de temps à autre ovales avec des extrémités aiguës, les capitules sont latéraux, terminaux, denses et mélangés aux feuilles, et la période de floraison s'étend de janvier à avril (Belarbi *et al.*, 2014). C'est une espèce hermaphrodite, sa pollinisation se fait par les insectes, et elle se développe dans les sols sableux et limoneux, la PA nécessite aussi une exposition complète au soleil, elle ne peut pas pousser à l'ombre (Veeraraghavan *et al.*, 2020).



Figure 08 : La plante médicinale *Paronychia argentea* (Frikha et Sefari, 2020).

IV.1.2. Systématique de la plante *Paronychia argentea* : (Adjadj, 2016)

- Règne: Plantae
- Embranchement: Phanerogames
- Division: Magnoliophyta
- Sous Embranchement: Angiospermes
- Classe: Eudicotyledons
- Ordre: Caryophyllales
- Famille: Caryophyllaceae
- Genre: *Paronychia*
- Espèce: *Paronychia argentea*

IV.1.3. Répartition géographique :

Paronychia argentea provient de la péninsule Ibérique, la France, la péninsule d'Apennin, la péninsule Balkanique, la Turquie, le Levant, l'Asie du Sud-Ouest et l'Afrique du Nord (Adjadj, 2016). Le biotope principal de la plante comprend toute la zone autour de la mer Méditerranéenne, elle pousse sur les terrains abandonnés ou secs, les terrains vagues, les dunes et les fossés et prospère de l'hiver à l'été (Veeraraghavan et al., 2020)

IV.1.4. Composition chimique :

Les principaux constituants de l'extrait aqueux de *P. argentea* sont les flavonoïdes, les composés phénoliques et les terpénoïdes. Par contre, l'analyse phytochimique de cet extrait a montré l'absence d'alcaloïdes (Al-Bakri et Afifi, 2007).

L'extrait éthanolique des parties aériennes de *Paronychia argentea* a montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes, suivi par la décoction et l'infusion, respectivement. Onze composés ont été identifiés et six d'entre eux, dont l'isorhamnétine-3-O-dihexoside, la quercétine-3-O-glucoside, la quercétine-méthyléther-O-hexoside, la quercétine, la jacéosidine et l'isorhamnétine, ont été décrits dans cette plante pour la première fois, son examen phytochimique a montré la présence en plus de lutéoline, ainsi que des huiles volatiles (Afifi et al., 2005 ; Al-Bakri et Afifi, 2007 ; Sait et al., 2015 ; Veeraraghavan et al., 2020).

IV.1.5. Usages traditionnels et Propriétés médicinales :

Paronychia argentea, qui est largement répandu dans l'Est de l'Algérie, est utilisée en médecine populaire pour le traitement de plusieurs troubles (Zama et al., 2007).

La décoction des parties aériennes de cette plante est utilisée comme diurétique dans la médecine traditionnelle algérienne, elle est également utilisée pour soigner les maladies rénales, dissoudre et expulser les calculs rénaux après quelques jours de traitement, pour traiter les infections et les maladies des voies urinaires, et pour le traitement des infections respiratoires. Cette plante est également utilisée pour traiter les ulcères d'estomac, l'anorexie, les flatulences, les maladies de la vessie et de la prostate, les maladies cardiovasculaires et le diabète, elle possède également des propriétés anti-inflammatoires, antioxydants et antimicrobiennes (Braca et al., 2007 ; Zama et al., 2007 ; Bouanani et al., 2010 ; Sait et al., 2015 ; Veeraraghavan et al., 2020).

La protection rénale et les effets anti-urolithiase de *P. argentea*, ont été prouvés par Bouanani et ses collaborateurs (2010). En 2014, Belarbi et ses collaborateurs ont établi que *P. argentea* agit comme un bon anti-précipitant du carbonate de calcium (CaCO₃). Ce qui peut contribuer à la validation de son utilisation médicinale pour traiter les calculs rénaux (Chaussemier et al., 2015). D'autre part, Hamdan et Afifi (2004) et Sait et ses collaborateurs (2015) ont démontré que

l'activité hypoglycémiant de cette plante est due à l'inhibition de la α -amylase par ses différents flavonoïdes aglycones et glycosides. Plusieurs études ont également justifié l'activité antioxydante des extraits alcooliques et aqueux de *P. argentea* en utilisant différents tests antioxydants (Ferreira et al., 2006 ; Zama et al., 2007 ; Gonçalves et al., 2013; Sait et al., 2015). Par ailleurs, Al-Bakri et Afifi (2007), ont conclu que l'extrait éthanolique de *Paronychia argentea* a montré une activité antimicrobienne élevée contre *Bacillus subtilis*, et faible contre *Escherichia coli*.

IV.1.6. Toxicologie :

Malgré les résultats intéressants obtenus par les études pharmacologiques et leur utilité thérapeutique potentielle, les tests pharmacologiques ou les études de toxicité sur cette plante sont rares (Bouanani et al., 2010).

La toxicité aiguë préliminaire a montré que la DL50 de l'extrait aqueux et de l'extrait butanolique était respectivement supérieure à 2000 et 40 mg/kg. L'administration orale d'extraits de *Paronychia argentea* n'a pas induit d'altérations significatives de presque tous les paramètres biochimiques, hématologiques et morphologiques chez les rats Wistar (Bouanani et al., 2010). Cependant, les études toxicologiques sont encore limitées, ce qui indique la nécessité de telles études pour l'utilisation clinique de cette plante (Veeraraghavan et al., 2020).

IV.2. Présentation de la plante *Urtica dioica* L. :

IV.2.1. Description botanique :

L'ortie (*Urtica dioica* L.) est une plante herbacée vivace à fleurs, une plante comestible, bien connue pour ses propriétés nutritionnelles et nutraceutiques, elle appartient à la famille des Urticaceae et au genre *Urtica*, avec une longue histoire d'utilisations médicinales et traditionnelles dans de nombreux pays (Dhouibi et al., 2020 ; Maietti et al., 2021 ; Paulauskienė et al., 2021).

Parmi les espèces du genre *Urtica*, *Urtica dioica* L, la plus grande et la plus répandue, dont le terme *Urtica*, signifie "celle qui brûle", vient du latin *urere* (brûler), par contre, le nom de l'espèce *dioica* signifie "deux maisons" car, habituellement, la plante a des fleurs mâles ou femelles, dans des inflorescences séparées (Ahmed KK et Parsuraman, 2015 ; Dhouibi et al., 2020).

L'ortie supporte tous les sols, en particulier ceux contenant de la matière organique fraîche et dans les sols riches en azote, elle fleurit entre juin et septembre de chaque année, et atteint près de 3 pieds de haut, leur tige est érigée et verte, les feuilles sont opposées, cordées à la base, oblongues ou ovales, finement dentées, vert foncé dessus et plus pâle dessous. Les fleurs sont de couleur brun rougeâtre à blanc verdâtre. Les petites fleurs vertes, dioïques, se présentent en racèmes à l'aisselle des feuilles supérieures (Ahmed KK et Parsuraman, 2015 ; Dhouibi et al., 2020).



Figure 09 : La plante médicinale *Urtica dioica* L (Asgarpanah et Mohajerani, 2012).

IV.2.2. Systématique de la plante *Urtica dioica* L. : (Ahmed KK et Parsuraman, 2015)

- **Règne:** Plantae
- **Sous-Règne :** Tracheobionta
- **Super division:** Spermatophyta
- **Division:** Magnoliophyta
- **Classe:** Magnoliopsida
- **Sous-classe:** Hamamelidae
- **Ordre:** Urticales
- **Famille:** Urticaceae
- **Genre:** *Urtica* L.
- **Espèce:** *Urtica dioica* L.

IV.2.3. Répartition géographique :

Aujourd'hui le genre *Urtica* pousse partout dans le monde, sauf en Antarctique et dans certaines régions tropicales ; le plus important *Urtica dioica*, est largement distribué en Europe, Afrique, Asie, Amérique du Nord, et naturalisé dans d'autres parties tempérées du monde (Dar et al., 2012 ; Ahmed KK et Parsuraman, 2015 ; Taheri et al., 2022).

IV.2.4. Composition chimique :

L'*Urtica dioica* est caractérisée par la présence de nombreuses substances biologiquement actives, la composition chimique des feuilles d'ortie varie tout au long de la saison de croissance, et cette différence est due par différents facteurs, y compris le type de plante, la nature du sol, le climat les pratiques agricoles, le génotype, le stade végétatif, le moment de la récolte, et d'autres causes (Maietti et al., 2021 ; Paulauskienė et al., 2021).

Les feuilles d'ortie sont une source importante de minéraux (dont le calcium, le fer, le magnésium, le phosphore, le potassium, le sodium) et de vitamines (vitamines hydrosolubles, quantités significantes de vitamine C et de vitamine B (B1, B2, B3, B6, B9), vitamines liposolubles A, D, E, K, pro-vitamine A (β -carotène), et vitamine E (α -tocophérol)), et les caroténoïdes, dont les principaux établis dans les feuilles végétales sont le β -carotène, la violaxanthine, les xanthophylles, la zéaxanthine, la lutéoxanthine et l'époxyde de lutéine. Elle contient également une quantité pertinente de chlorophylles, et, des protéines, des graisses, des glucides, des acides organiques et des oligo-éléments, D'autre part, les feuilles d'ortie (variété *Urtica dioica*) sont riches en phytoconstituants, principalement en polyphénols, en flavonoïdes (kaempférol, isorhamnétine, quercétine, isoquercitrine et rutine, et dérivés rutinosides ou glycosides) et en acides phénoliques (acide caféique et acide chlorogénique) (Maietti et al., 2021; Paulauskienė et al., 2021).

Les huiles essentielles d'*Urtica dioica* se composent principalement d'hexahydrofarnésyl acétone, de 1,8-cinéole, d' α -ionone, de β -ionone, de farnésylacétone, de méthylbenzène, de limonène, 3-carène, gamma-terpinène, vanilline, acétate de butyle, acide 1,2-benzènedicarboxylique et 7-acétyl-6-éthyl-1,1,4,4-tétraméthyltétraline (Taheri et al., 2022).

IV.2.5. Usages traditionnels et Propriétés médicinales :

L'*Urtica dioica* L est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Traditionnellement, un thé fait à partir des feuilles d'*U. dioica* a été utilisé comme un tonique nettoyant et un purificateur de sang, pour traiter les allergies, les calculs rénaux, les brûlures, l'anémie, les éruptions cutanées, et le diabète. En usage externe, elle est utilisée pour traiter les problèmes de peau, la goutte, la sciatique, la névralgie et les problèmes de cheveux, elle aussi utilisée comme agent antihémorragique, antirhumatismal, antiasthmatique, diurétique, pour réduire les flux menstruels excessifs, les saignements de nez, le traitement de l'arthrite, et le rhume des foies (Dar et al., 2012 ; Ahmed KK et Parsuraman, 2015 ; Paulauskienė et al., 2021). Ainsi que dans le contrôle des troubles cardiovasculaires, notamment l'hypertension, et améliorer l'homéostasie du glucose *in vivo*. La racine d'ortie pourrait prévenir certains des effets de l'hyperplasie prostatique (Dhouibi et al., 2020).

L'activité antioxydante de l'ortie a fait l'objet de plusieurs travaux. Il a été montré que l'extrait aqueux d'ortie présentait un pourcentage d'inhibition de la génération de superoxyde plus élevé que celui de l'hydroxyanisole butylé (BHA), de l'hydroxytoluène butylé (BHT) ou du α -tocophérol (vitamine E) (Gülcin et al., 2004). Des infusions d'ortie ont considérablement réduit la quantité de blessures aux tissus, et une diminution de l'augmentation des transaminases sériques ALT, de la catalase hépatique et de la superoxyde dismutase cérébrale chez des rats traités au TCA (acide trichloroacétique cancérigène) (Celik et Tuluce, 2007).

L'ortie a des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoire (due à l'inhibition de la cyclooxygénase, de la lipoxygénase et de la production de cytokines). Plusieurs essais d'études cliniques de l'effet anti-inflammatoire d'*U. dioica* ont été menés, mais, jusqu'à aujourd'hui, il n'existe aucune étude clinique prouvant formellement l'efficacité d'une préparation d'*U. dioica* comme anti-inflammatoire. La preuve de l'efficacité supposée repose uniquement sur une tendance à l'amélioration de l'état des patients, en particulier en complément du traitement par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme le Diclofenac (Wolf, 1998 ; Wolf et al., 2001). Wagner et ses collaborateurs (1994) ont démontré qu'une fraction polysaccharidique d'un extrait aqueux de racine d'ortie, contenant 4 polysaccharides différents inhibait le développement d'un œdème de patte de rat induit à un même degré que l'Indométacine. Cette activité anti-inflammatoire est probablement due à l'inhibition de la production de cyclooxygénase, lipoxygénase et de cytokine (Capasso, 2003).

Plusieurs d'autres études ont montré que l'*U. dioica* a un effet antimicrobien, antiviral, anticancéreux, anti-ulcéreux, anthelminthique et analgésique, et un effet thérapeutique contre la néphrotoxicité (Ahmed KK et Parsuraman, 2015 ; Dhouibi et al., 2020 ; Taheri et al., 2022).

IV.2.6. Toxicologie :

Dans des études de toxicité aiguë et de comportement brut réalisées par Dar et ses collaborateurs (2012), sur des rats Wistar des deux sexes, aucune mortalité n'a été observée pendant la période de 24 heures aux doses testées (250, 500, 1000 et 2000 mg/kg de poids corporel) et les animaux n'ont présenté aucun symptôme toxique stéréotypé tel que convulsion, ataxie, diarrhée ou diurèse accrue.

Matériel **et méthodes**

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel :

I.1. Matériel végétal :

Des plants frais entiers des deux espèces *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* en stade début de floraison ont été échantillonnés en fin février 2022 dans un champ libre au niveau de la wilaya de Constantine. La partie aérienne de chaque plante est alors nettoyée et séchée à l'air libre et sous abri. Une fois sèche, la partie aérienne de chaque plante est broyée, stockée dans des bocaux hermétiques et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son usage.

I.2. Matériel animal :

Afin d'étudier l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, on a utilisé des rats mâles de souche *Wistar Albinos*, qui pèsent entre 150 et 250 g, issus par élevage à l'animalerie du département de biologie animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Mentouri Constantine 1.

Pour l'étude de l'activité analgésique et antipyrétique, on a utilisé des souris femelles de souche *Mus musculus*, qui pèsent entre 25 et 35g, issus par élevage à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Mentouri Constantine 1.

Les rats et les souris sont placés dans des cages en plastique avec un couvercle en acier inoxydable (36cm x 25cm) où chaque cage contient 5 rats/souris. Ils ont un accès libre à l'eau et à la nourriture "type standard", fournie par l'Office National de l'élevage d'Ain M'Lila (ONAB).

Une période d'adaptation de deux semaines est effectuée dans l'animalerie à température ambiante (de 20 à 24°C), et sont conditionnés à un rythme de 12/12 heures lumière/obscurité, pour le respect de leur horloge biologique. La litière utilisée est de la sciure de bois renouvelée tous les deux jours afin de les maintenir dans un état de conditionnement hygiénique.

Le marquage individuel des animaux se fait par numérotation sur la queue à l'aide d'un marqueur permanent, et ils ont été manipulés dans le respect des règles et des principes définis dans le manuel « Care and Use of Experimental Animals ».

I.3. Les réactifs :

- Les solvants organiques utilisés dans les différentes expériences de cette étude sont de grade analytique (Le méthanol, l'éthanol, le formol), fournis par Sigma- Aldrich.
- Levure de bière : BIOMAX.
- Les différents acides sont : L'acide ascorbique, l'acide gallique et l'acide Tannique de Sigma, ABTS, Acide acétique.

- Les réactifs chimiques sont : L'albumine sérique bovine (BSA) et le phosphate de sodium (Na_3PO_4) ont été fournis par Sigma-Aldrich, Le Folin-Ciocalteu (FCR) par Biochem, BHA, BHT, TCA, α -tocophérol $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$, DPPH $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$.
- Les sels sont : Bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Chlorure de Sodium (NaCl), Nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), Sodium Phosphate dibasique (Na_2HPO_4), potassium phosphate dibasique (K_2HPO_4), potassium dihydrogène phosphate (KH_2PO_4) de Sigma, sodium dihydrogène phosphate (NaH_2PO_4) de Labosi, Ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, Potassium acétate $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$, Trisodium citrate $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, Chlorure de fer FeCl_3 , Persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, Acétate ammonium $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Chlorure déshydraté ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Néocuproïne $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$, Potassium acétate CH_3CO_2 .
- D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, tris base ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) par Sigma-Aldrich, le diclofénac sodique fournis par SAIDAL), Potassium acétate CH_3CO_2 , Silver nitrate AgNO_3 .

I.4. Les appareils :

- Centrifugeuse (Sigma 3K30).
- Spectrophotomètre (Perkin Elmer- UV/Vis Lambda 25).
- Bain-marie (MEMMERT).
- Etuve (MEMMERT).
- Balance de précision (Explorer OHAUS).
- Agitateur avec plaque chauffante (Kika werk- RCT basic).
- Vortex.
- Un lecteur de microplaque (Perkin Elmer).
- PH mètre (MeterLab –PHM210).

II. Méthodes :

II.1. Méthodes d'extraction :

II.1.1. Préparation des extraits aqueux infusé :

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne des plantes (*Paronychia argentea* et l'*Urtica dioica*) est réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillon. 25 g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 500 ml d'eau distillée bouillon puis laissé 45 minutes pour infusion avec agitation de temps en temps.

La solution obtenue a été ensuite filtré trois fois sur du coton hydrophile, centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes pour se séparer de tous les débris puis filtré sous vide à l'aide du papier Wattman N°1.

Le filtrat récupéré est versé dans des boîtes de pétri en verre et séché à l'étuve à 40 °C afin de protéger les molécules extraites de la partie aérienne de *Paronychia argentea* et d'*Urtica dioica*. La poudre obtenue constitue l'extrait aqueux de la plante et stockée à -20°C.

L'extraction est faite au niveau du laboratoire de Génie Microbiologique et Applications de l'université des Frères Mentouri Constantine1.

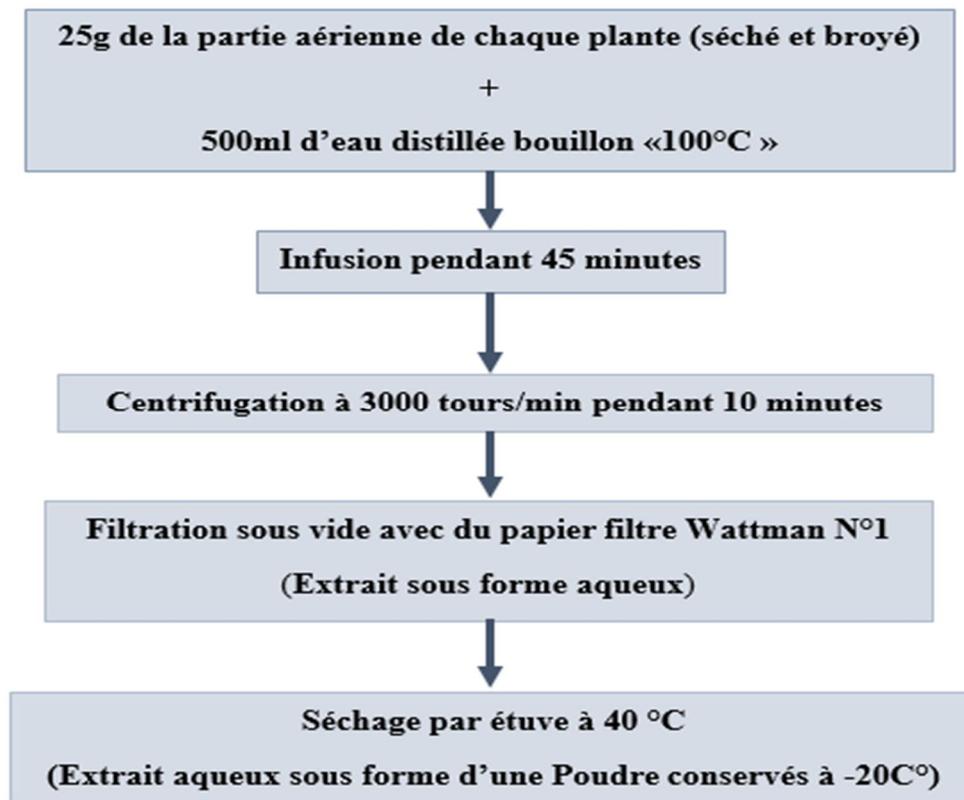


Figure 10 : Protocole de préparation d'extrait aqueux de la partie aérienne de *Paronychia argentea* et d'*Urtica dioica*

II.1.2. Préparation des extraits hydro-méthanolique (MeOH 80 %) :

Les extraits hydro-méthanolique sont obtenu par la méthode de macération. Brièvement, 25 g de parties aériennes séchées et broyées de chaque plante (*Paronychia argentea* et l'*Urtica dioica*) ont été ajoutés à 500 ml de méthanol 80 % et laisser macérer pendant 48 heures à l'aide d'un agitateur magnétique, à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Après filtration et centrifugation par la même méthode précédemment utilisée, le filtrat obtenu a été séché à l'étuve à 40° C dans des boîtes de pétri en verre pour obtenir l'extrait hydro-méthanolique final (HM), stockée après à -20°C.

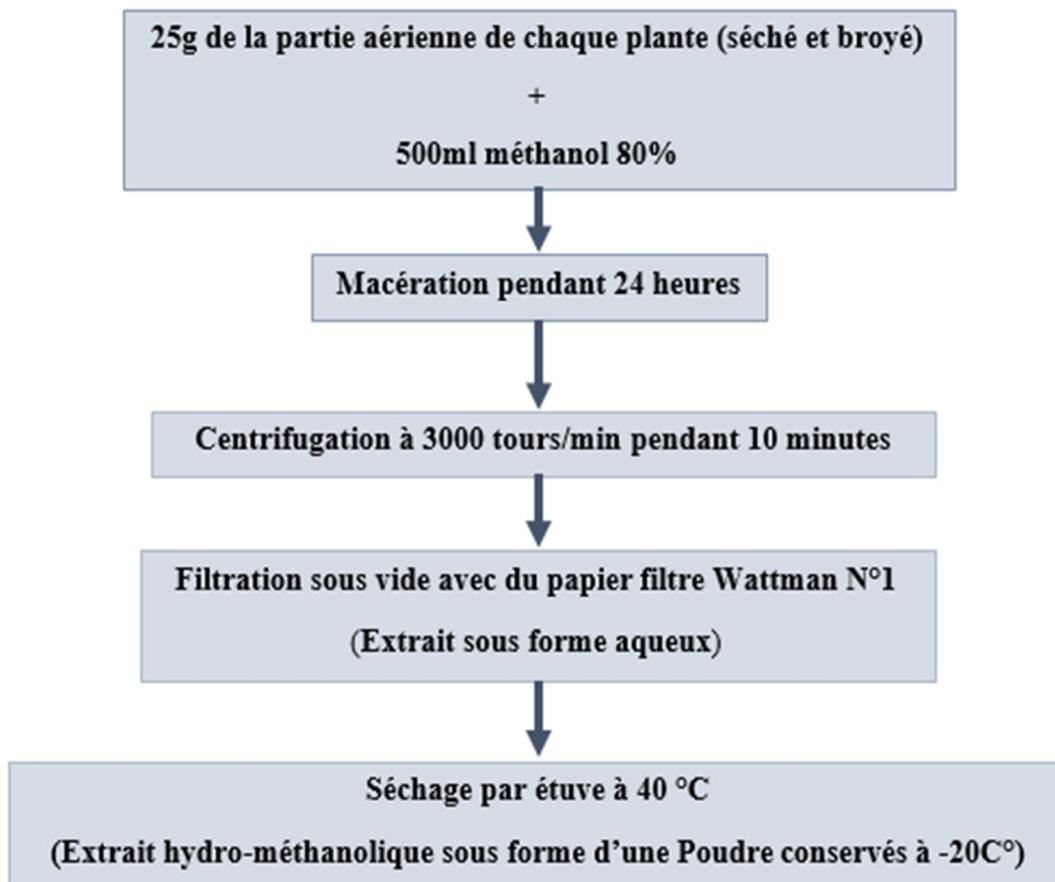


Figure 11 : Protocole de préparation d'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne de *Paronychia argentea* et l'*Urtica dioica*

II.1.3. Rendement de l'extraction :

Le rendement est la masse de l'extrait déterminée après le séchage, exprimée en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction. Il est calculé selon la formule suivante :

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

- **R : (%)** : Rendement exprimé en %
- **M** : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu
- **M₀** : Masse en gramme de la poudre végétale utilisée (25g)

II.2. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes :

Pour l'étude phytochimique quantitative des différentes molécules chimiques actives des extraits de plantes, deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs des polyphénols totaux, et des flavonoïdes totaux de la manière suivante :

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les composés phénoliques font en effet, l'objet de nombreuses études en raison de leur action positive sur la santé. Le dosage de ces composés se fait par la méthode décrite par Singleton et Rossi en 1965 en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

II.2.1.1. Principe :

Le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR), un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, cette méthode est alors basée sur la réduction en milieu alcalin de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation un mélange d'oxydes de tungstène et molybdène de couleur bleue, proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux, présentent un maximum d'absorption à 765 nm (Singleton et Rossi, 1965 ; Georgé et *al.*, 2005 ; Boizot et Charpentier, 2006 ; Ouedraogo et *al.*, 2015).

II.2.1.2. Mode opératoire :

Dans des Tubes à essai, 125 µl de chaque extrait végétal dissous dans le solvant correspondant, à différentes concentrations (0-1 mg/ml), est mélangé avec 500 µl d'eau distillée et 125 µL de réactif de FCR. Le mélange a été gardé à la température ambiante pendant 5 min, puis 1250 µl de carbonate de sodium 2% (Na₂CO₃) et 1000 µl d'eau distillée ont été ajoutés pour neutraliser le réactif résiduel. Après agitation, une incubation pendant 90 minutes a été effectuée à température ambiante et à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées après à 765 nm avec un spectrophotomètre.

L'acide gallique ainsi que l'acide tannique sont établis comme contrôle positif. Pour ce faire, les courbes d'étalonnage ont été établie en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en préparant une gamme de solution d'acide gallique et l'acide tannique de concentration variant de 0-500 µg/ml. La teneur en phénols totaux a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique et acide tannique, par 1 g d'extrait brut (mg EAG/1g EXT et EAT/1g EXT). Les analyses ont été effectuées 3 fois et la valeur moyenne a été calculée.

II.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal responsables des pigments des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux, ils sont couramment consommés quotidiennement, et pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydants, et anti-inflammatoires (Ghedira, 2005).

II.2.2.1. Principe :

Le contenu total en flavonoïdes a été déterminé en utilisant la méthode colorimétrique de de trichlorure d'aluminium (Bahorun et *al.*, 1996). En bref, Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme

un complexe très stable avec les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika et al., 2005), qui donnent une couleur jaunâtre par chélation des métaux (Fe^{+2} , Al^{+2}). Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 562 nm (Ribéreau-Gayon, 1968; Djamilatou, 2021).

II.2.2.2. Mode opératoire :

Dans des tubes à essai, Chaque 1 ml d'extrait préparé dans du méthanol est mis à réagir avec 1 ml de trichlorure d'aluminium 2% (préparé dans le méthanol). Le mélange est agité et laissé à la température ambiante et à l'obscurité pendant 60 min. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 430 nm par spectrophotomètre.

Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine préparé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires avec différentes concentrations (0-300 μ g/ml). Les analyses ont été effectuées 3 fois et Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

II.3. Méthodes de dosage des activités antioxydants *in vitro* :

L'activité antioxydant des extraits a été testée par les méthodes suivantes : Le test de piégeage du radical DPPH, Le test de piégeage du radical ABTS^{•+}, Le test CUPRAC, Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP), Le test Phénanthroline.

II.3.1. Le test de piégeage du radical DPPH :

Le DPPH est le test antioxydant le plus fréquemment utilisé pour les extraits de plantes, c'est l'une des méthodes les plus simples et les plus rapides pour évaluer le pouvoir anti-radicalaire de divers composés (Fofié et al., 2017 ; Nagarajan, et al., 2017).

II.3.1.1. Principe :

Dans ce test, une molécule ou un antioxydant va réagir avec un radical libre stable DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène, provoquant une décoloration de la molécule, Le DPPH[•], initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle après réduction (Fofié et al., 2017 ; Nagarajan et al., 2017).

Le dosage du DPPH permet de déterminée, cinétiquement, l'activité anti-radicalaire libre des extraits de plantes, par spectrophotométrie à 517 nm par (Blois, 1958). Le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

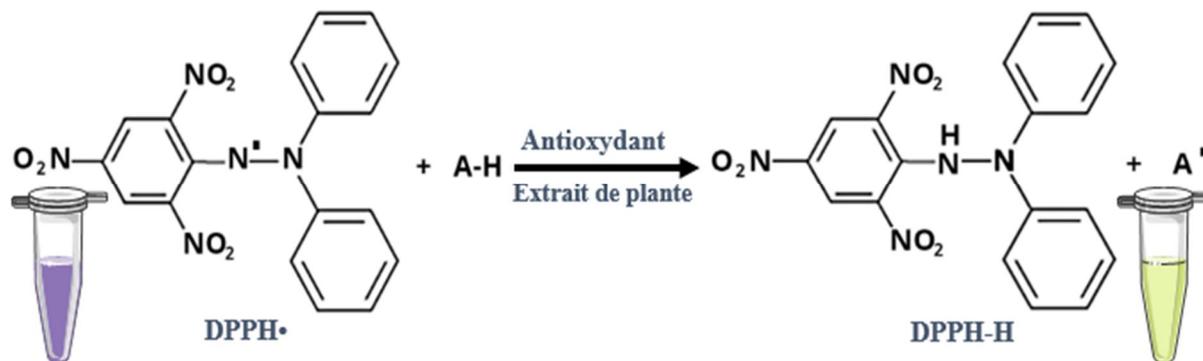


Figure 12 : Réduction de radical DPPH en DPPH-H.

II.3.1.2. Mode opératoire :

Ce test a été évalué au niveau du centre national de recherche en biotechnologie (CRBT), suivant le protocole appliqué en 1958 par Blois, sur une microplaque à 96 puits de volume 200 μ l pour chaque puits. Courtement, 160 μ l d'une solution de DPPH préparé dans le méthanol (6 mg de DPPH dissout dans un volume de 100 ml de méthanol) est mélangé avec 40 μ l de différentes dilutions des extraits des plantes (0–4 mg/ml). Le mélange est gardé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de lumière, Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 160 μ l de la solution de DPPH et de 40 μ l de solvant utilisé.

Les échantillons et le blanc sont préparés dans le solvant correspondant et les standards (Le α -tocophérol, BHT et le BHA) sont préparés dans le méthanol absolu. L'absorbance est mesurée par un lecteur à microplaque et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant cette formule :

$$PI\% = \frac{\text{Densité optique de blanc} - \text{Densité optique de l'échantion}}{\text{Densité optique de blanc}} \times 100$$

La détermination de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC_{50}) ; la valeur IC_{50} la plus basse correspond à l'efficacité la plus élevée de l'extrait. La valeur de l' IC_{50} est exprimée en μ g/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

II.3.2. Le test de piégeage du radical ABTS^{•+} :

II.3.2.1. Principe :

L'activité ABTS est une technique spectrophotométrique basée sur la formation d'un radical cationique coloré (bleu-vert) stable (ABTS^{•+}), à partir de l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈).

L'ajout d'un antioxydant ; un donneur de H^\bullet , permet la réduction de ce radical qui se décolore suite à un transfert d'électron. Cette méthode est déterminée par Re et ces collaborateurs en 1999.

En effet, le dosage de l'ABTS permet de déterminée l'activité antioxydants totale des extraits de plantes à partir de sa capacité à inhiber le radical $ABTS^{+\bullet}$, obtenu à partir d'ABTS, La décoloration du radical est alors mesurée par spectrophotométrie à 734 nm comparativement à des antioxydants de référence : BHT et le BHA (Re et al., 1999 ; Marc et al., 2004).

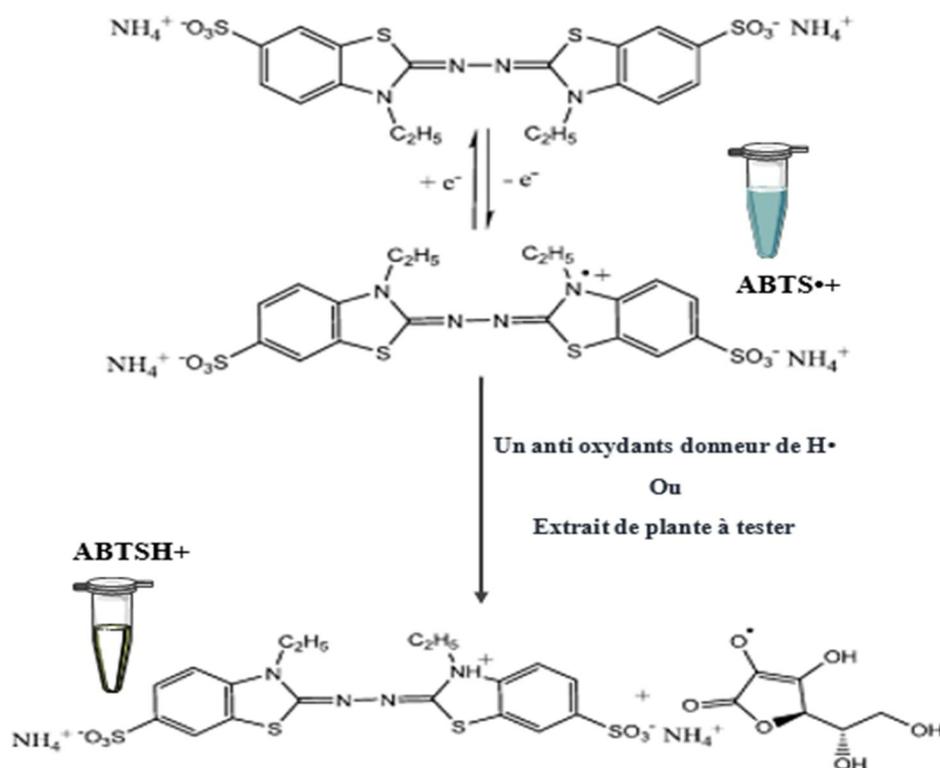


Figure 13 : Formation et réduction du radical $ABTS^{+\bullet}$ par un antioxydant donneur de H^\bullet .

II.3.2.2. Mode opératoire :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Re et ses collaborateurs en 1999. 160 μ l d' $ABTS^{+\bullet}$ a été déposé en triplicata dans une microplaque, auquel on a ajouté 40 μ l d'extraits de plantes à différentes concentrations (0–4 mg/ml). La plaque est alors gardée à température ambiante et à l'abri de lumière pendant 10 minutes avant lecture de l'absorbance à 734 nm contre un blanc sans échantillon préparé parallèlement dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant. Il s'agit donc d'une mesure en point final proportionnelle à la concentration en antioxydants. L'activité $ABTS^+$ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$PI\% = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs de l'échantion}}{\text{Densité optique de blanc}} \times 100$$

II.3.3. Le test CUPRAC :

II.3.3.1. Principe :

Le Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC), est une méthode de mesure du potentiel antioxydant, basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (Nc), cuivre (Cu^{2+}), $[\text{Nc}_2 - \text{Cu}^{2+}]$, suite à une réaction d'oxydoréduction des antioxydants briseurs de chaîne avec le réactif CUPRAC, produisant un complexe chromogène de Cu(I)-néocuproïne (Nc) qui absorbe la lumière à 450 nm. Il s'agit donc d'une méthode basée sur le transfert d'électrons (Apak *et al.*, 2004 ; özyürek *et al.*, 2011). Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

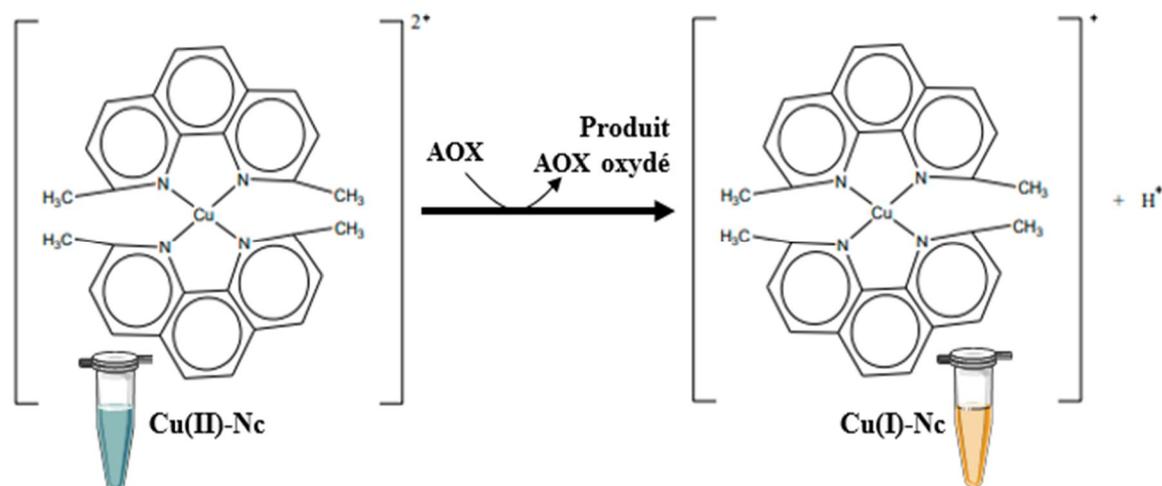


Figure 14 : Réduction de complexe cuivre–néocuproïne Cu(II)-Nc.

II.3.3.2. Mode opératoire :

Les solutions aqueuses d'acétate d'ammonium (ACNH_4) et de chlorure de cuivre (II) CuCl_2 ont été préparé dans l' H_2O . En parallèle une troisième solution du Néocupronine a été préparé dans du méthanol.

Le protocole utilisé dans ce test, est déterminé par la méthode CUPRAC, décrit par Apak et ses collaborateurs en 2004. En bref, dans une plaque de 96 puits, 40 μL de chaque extrait de différent concentration (0-4 mg/ml) ont été ajoutés à 60 μL de tampon acétate d'ammonium (1M, PH=7), puis 50 μL de chacun de Néocupronine (7,5 mM) et de CuCl_2 (10 mM) ont été additionnés au mélange initial. L'absorbance est alors mesurée à 450 nm après 60 minutes (à température ambiante et à l'abri de lumière) à l'aide d'un lecteur de microplaque. Un blanc sans échantillon préparé parallèlement dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant approprié. La mesure est faite comparativement à des antioxydants de référence : BHT et le BHA.

II.3.4. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power) :

II.3.4.1. Principe :

Les substances, qui possèdent un potentiel de réduction, réagissent avec le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former du ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}), qui lui-même réagit avec le chlorure ferrique pour donner un complexe ferreux de couleur bleu cyanée, qui présente un maximum d'absorption à 700 nm (Jayanthi et Lalitha, 2011).

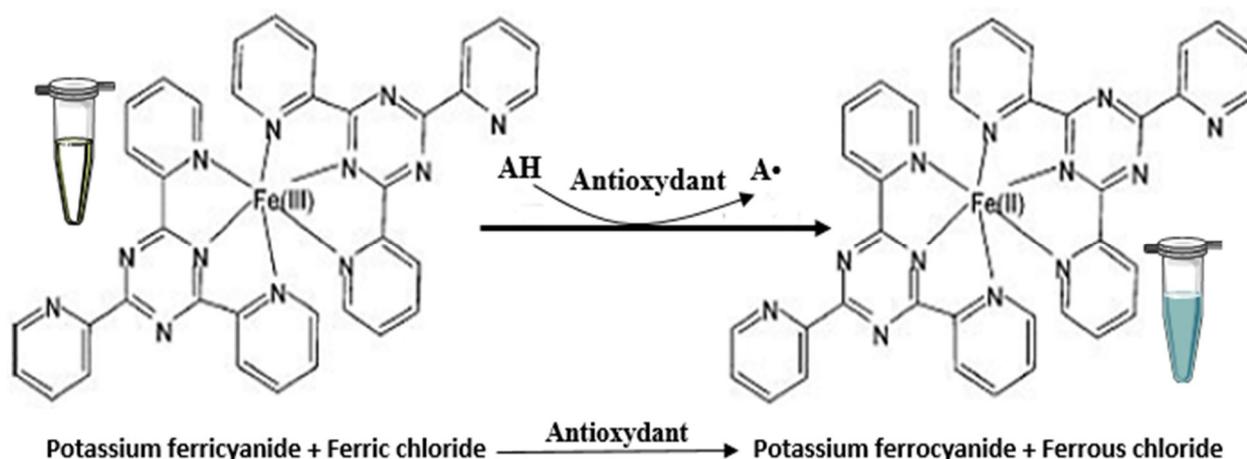


Figure 15 : Mécanisme de réaction du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).

II.3.4.2. Mode opératoire :

Le test FRAP a été effectué selon la méthode de Oyaizu, (1986) avec une légère modification. 10 μl de diverses concentrations des extraits de plantes sont mélangées avec 40 μl du tampon phosphate (pH 6.6), 50 μl potassium ferricyanide (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ est alors ajouté. Ce mélange a été maintenu à 50°C dans l'étuve pendant 20 minutes. Après refroidissement, 50 μl d'acide trichloracétique (TCA) à 10% et 40 μl H_2O et 10 μl de chlorure ferrique fraîchement préparée à 0.1% ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

Le blanc a été préparé de manière similaire, à l'exclusion des échantillons. L'acide ascorbique à différentes concentrations Le α -tocophérol et le BHT ont été utilisé comme standard. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur.

II.3.5. Le test Phénanthroline :

II.3.5.1. Principe :

La méthode de la phénanthroline était basée sur la réduction de Fe^{3+} en ion Fe^{2+} par un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagissait ensuite avec la 1,10-phénanthroline pour former un complexe rouge-orange de tri-phénanthroline qui absorbe au maximum à 508-510 nm. (Mukhopadhyay et al., 2016 ; Yefrida et al., 2018). Selon Mukhopadhyay et ses collaborateurs

(2016), Si on ajoute du peroxyde d'hydrogène dans le tube avant d'ajouter la 1,10-phénanthroline, l' H_2O_2 va oxyder l'ion ferreux en ion ferrique qui est alors incapable de former le complexe rouge-orange avec la 1,10-phénanthroline. Ce test est utilisé depuis longtemps pour la mesure quantitative du fer dans divers échantillons.

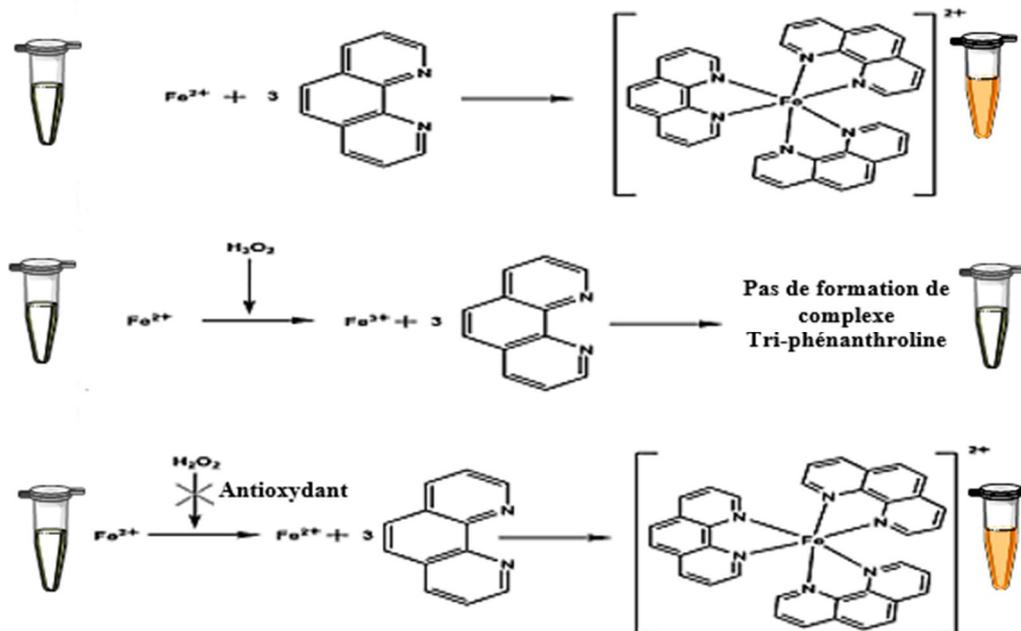


Figure 16 : Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants.

II.3.5.2. Mode opératoire :

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka et ses collaborateurs (2008). Un volume 10 μl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 50 μl de chlorure ferrique FeCl_3 0,2%, 30 μl de phénanthroline 0,5% puis 110 μl de méthanol. Après une incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Un blanc sans échantillon préparé parallèlement dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant. Le BHT et BHA sont utilisés comme standard.

II.4. Méthodes de dosage des activités inflammatoires *in vitro* :

II.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :

II.4.1.1. Principe :

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation qui conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016). Dans le but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines décrit

par Karthik et ses collaborateurs (2013). Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA, provoquée par la chaleur 72°C, par les extraits de plantes.

II.4.1.2. Mode opératoire :

Afin de déterminer l'activité anti-inflammatoire, une série de concentrations de chaque extrait végétal est effectuée, variant de 0 à 8 mg/ml. 1 ml de la solution de BSA à (0,2%) préparée dans le Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6) est ajouté à 1ml de chaque dilution. Ensuite, le mélange est incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis à 72°C pendant 5 minutes. A la fin de l'incubation, et après l'avoir vortexé, le mélange est refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc est préparé dans le but de retirer l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus. Ce blanc était constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6). Dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour les échantillons, le diclofénac a été utilisé dans ce test comme anti-inflammatoire de référence.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{[\text{DO Control} - \text{DO blanc}] - (\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO controle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA.
- **DO Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- **DO Contrôle** : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA.

II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

Cette étude a pour but d'évaluer la capacité d'extraits de plantes (*Paronychia argentea* et *Urtica dioica*) à prévenir l'hémolyse des globules rouges (GR), provoquée par un stress osmotique et thermique. Le choix des globules rouges est justifié par le fait qu'ils sont acceptés comme modèle cellulaire dans la recherche scientifique et qu'ils présentent des analogies avec d'autres membranes cellulaires, notamment celle du lysosome. En effet, lorsque les érythrocytes sont exposés à une concentration saline hypotonique et à la chaleur, leurs membranes se rompent et leur contenu cytoplasmique (hémoglobine) est libéré. On estime que l'intensité de l'hémolyse est déterminée en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée.

II.4.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes :

Du sang fraîchement prélevé à l'aide d'une seringue graduée sur rats mâles de souche *Wistar albinos*, a été mis dans des tubes héparines ensuite centrifugé à 1300g pendant 10 min (4°C), pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang. Après élimination du

surnageant, le culot a été récupéré et lavé 3 fois avec une solution d'eau physiologique (0,9%) à température ambiante, et chaque lavage consiste à une centrifugation à 1300 g pendant 5min. Le culot après la dernière centrifugation est re-suspendu à nouveau dans une solution constituée de tampon phosphate salin (PBS) à PH= 7,4, à raison d'un volume du culot et 9 volumes de PBS, permettant alors d'obtenir un hématocrite à 10% (v/v).

II.4.2.2. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire :

A. Principe :

Avant de nous concentrer sur les pouvoirs de stabilisation des membranes des extraits de plantes, un test d'innocuité sur des cellules érythrocytaires est requis afin de déterminer les concentrations à utiliser.

B. Mode opératoire :

Pour ce test, une gamme de concentrations des extraits allant de 0 à 8 mg/ml a été préparée dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). 1.6 ml de différentes concentrations des deux extraits à tester a été mélangée avec 0.4 ml de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 30 min, puis centrifugé à 1300g pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été lu à 540 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. En respectant les mêmes conditions expérimentales, un contrôle incluant 0.4 ml de la suspension de globules rouges et 1.6 ml d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement. Le diclofénac est utilisé comme molécule de référence dans cette expérience, préparer dans les mêmes conditions.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc constitué de 1.6 ml d'extrait et de 0,4 ml de tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl) est préparé, qui a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus. Les pourcentages d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées sont calculés :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc}}{\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}} \times 100$$

- **DO blanc** : Absorbance de l'extrait
- **DO échantillon** : Absorbance de l'échantillon ou du standard (test).
- **DO contrôle** : Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

II.4.2.3. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :

A. Principe :

L'objectif de cette étude est basé sur l'évaluation de la capacité des extraits de plantes à empêcher l'hémolyse des globules rouges des rats après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée en même temps suivant le protocole de Ganesh et ses collaborateurs (2013). L'intensité de l'hémolyse est estimée par la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine libérée à 540nm.

B. Mode opératoire :

Dans des tubes à essais, 0,25 ml d'extraits aqueux des plantes (dissous dans NaCl 0,9%), 0.75 ml du tampon phosphate non salin (0,15 M, pH 7,4) et 1 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,36%) ont été mélangés et incubés à 37 °C pendant 20 min. Après cela, un volume de 0,25 ml de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté dans chaque tube, suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau ambiante pendant 20 min, afin de bloquer la réaction ensuite centrifugé à 1300g pendant 10 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite alors à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le contrôle consiste d'un mélange de 1 ml de la solution hyposaline, 1 ml du tampon PBS, 0,25 ml de la suspension de globules rouges et 0,25 ml d'eau physiologique. Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc est préparé pour éliminer l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus. L'acide gallique est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait (0-800 µg/ml). Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc}}{\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}} \times 100$$

II.5. Méthode de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* :

II.5.1. Induction de l'œdème inflammatoire aigu de la patte de rat par le formol :

L'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes (*Paronychia argentea* et *Urtica dioica*) a été aussi évaluée *in vivo*, par la méthode de l'œdème de la patte de rat induit par le formol suivant la méthode décrite par Rahmani et ses collaborateurs en 2016.

L'œdème est provoqué par l'injection de formol 1% dans l'aponévrose de la plante du pied. Ce qui induit une inflammation au niveau de la voûte plantaire de la patte droite du rat. Le volume de l'enflamment causée par cet agent pathogène sera mesuré pour suivi l'évolution du processus

inflammatoire (Rahmani et al., 2016). Pour les témoins, un volume précis de chlorure de sodium à 0.9 % a été administré dans l'aponévrose de la plante du pied.

II.5.2. Traitement des animaux :

Les rats ont été partagés sur 6 lots dont, chaque lot contient 5 rats (5 normaux et 25 traités par le formol), avant l'expérimentation ces rats ont été pesés puis mis à jeun pendant 12h. Pour chaque rat, le volume initial (V0) de la patte postérieure droite a été chiffré avant la médication et les volumes des pattes injectées ont été mesurés 0, 30, 60, 120, 180 minutes après injection du formol (1%). Les différents traitements ont été administrés par voie intra-péritonéale :

- **Lot 1 (5 rats) : Formol témoin ou contrôle négatif** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale de l'eau physiologique à 10 ml/kg et 30 min après, 2,5ml/kg de formaldéhyde (10%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Lot 2 (5 rats) : Formol + Extrait aqueux de *Paronychia argentea*** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* à raison de 100mg/kg et 30 min après, 2,5ml/kg de formaldéhyde (1%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Lot 3 (5 rats) : Formol + Extrait aqueux d'*Urtica dioica*** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* à raison de 100mg/kg et 30 min après, 2,5ml/kg de formaldéhyde (1%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Lot 4 (5 rats) : Formol + Extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea*** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale l'extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* à raison de 100mg/kg et 30 min après, 2,5ml/kg de formaldéhyde (1%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Lot 5 (5rats) : Formol + Extrait hydro-méthanolique d'*Urtica dioica*** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale l'extrait hydro-méthanolique d'*Urtica dioica* à raison de 100mg/kg et 30 min après, 2,5ml / kg de formaldéhyde (1%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Lot 6 (5rats) : Formol + Diclofénac** : on injecte aux rats par voie intrapéritonéale à raison de 10 mg/kg de diclofénac et 30 min après, 2,5ml/kg de formaldéhyde (1%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du volume de la patte de rat suivant la formule :

$$\% \text{ AUG} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

- **Vt** : Volume de la patte au temps t quelconque
- **V0** : Volume initial de la patte (T0 : avant injection du formol).

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en pourcentage de réduction de l'œdème chez des rats traités par rapport aux témoins blancs selon la formule suivante :

$$\% \text{ INH} = \frac{\% \text{AUG témoin} - \% \text{AUG traité}}{\% \text{AUG témoin}} \times 100$$

II.6. Méthode de l'évaluation de l'effet antipyrétique des extraits :

La fièvre est une augmentation de la température corporelle de 1 à 4 °C au-dessus des valeurs normales. Elle reflète une élévation de la température du « thermostat hypothalamique » et constitue une réponse normale et adaptative de l'organisme contre une agression de nature variable, notamment infectieuse. Elle fait partie de mécanismes de défense plus complexes constituant la réaction inflammatoire aiguë (acute phase réponse) (Aronoff et Neilson, 2001 ; Guyton et Hall, 2006). L'injection sous cutanée d'une suspension de levure de bière entraîne une hyperthermie chez la souris. Les substances naturelles antipyrétiques et des molécules de référence dont l'aspirine, réduisent cette hyperthermie (Dosso et al., 2022). L'activité antipyrétique de l'extrait aqueux et hydrométhanolique des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* a été évaluée *in vivo* sur des souris femelles, d'un poids variant entre 25 et 35g, suivant le protocole de Embeya et Mavungu (2020).

II.6.1. Induction de l'hyperthermie :

L'activité antipyrétique des extraits a été réalisée par la méthode de pyrexie induite par la levure de bière selon la méthodologie adaptée de Sawadogo et ses collaborateurs (2006). Des souris femelles ont été répartis au hasard en six groupes (n = 5). La température rectale initiale de chaque rat a été mesurée à l'aide d'un thermomètre numérique. Ensuite, les souris, à jeun, ont reçu par voie sous cutanée, dans la région dorsolatérale, une suspension aqueuse à 20% (P/V) de levure de bière à une dose de 20 ml/kg poids corporel. Après 16 h, la température rectale a été mesurée à nouveau et les animaux qui présentaient une augmentation de la température rectale basale supérieure ou égale à 1 °C ont été sélectionnés pour le test.

II.6.2. Traitement des animaux :

Les différents lots ont reçu, par voie orale, les traitements suivants :

- **Lot 1 : témoin négatif : levure de bière 20%** : les souris de ce lot ont reçu par voie orale l'eau distillée à raison de 10 ml/kg de poids corporel des souris.
- **Lot 2 : témoin positif (Paracétamol)** : Les souris de ce lot ont été traités par voie orale avec un antipyrétique utilisé en thérapeutique (Paracétamol) à raison de 150 mg/kg de poids corporel des souris.

- **Lot 3 : Extrait aqueux de *Paronychia argentea*** : on administre aux souris par gavage l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* en raison de 200mg/kg.
- **Lot 4 : Extrait aqueux de *Urtica dioica*** : on administre aux souris par gavage l'extrait aqueux de *Urtica dioica* en raison de 200mg/kg.
- **Lot 5 : Extrait hydro méthanolique de *Paronychia argentea*** : on administre aux souris par gavage l'extrait hydro-méthanoliques de *Paronychia argentea* en raison de 200mg/kg.
- **Lot 6 : Extrait hydro méthanolique de *Urtica dioica*** : on administre aux souris par gavage l'extrait hydro-méthanoliques de *Urtica dioica* en raison de 200mg/kg.

Les températures ont été mesurées après 30, 60, 120, 180, 240, 300 min de l'administration des différents extraits, à l'aide d'un thermomètre électronique de précision. Le pourcentage de réduction de la pyrexie a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{T_p - T_n}{T_p - T_i} \times 100$$

- **T_p**: température après induction de la pyrexie.
- **T_n**: température après x temps.
- **T_i**: température initiale.

II.7. Méthode de l'évaluation de l'effet analgésique des extraits :

Cette étude a été réalisée selon la méthode décrite par Dosso et ses collaborateurs (2022). Elle consiste à induire une action algogène par l'administration à des cobayes de l'acide acétique (0,6 %), par voie intrapéritonéale (ip). Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez les cobayes par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales (Kang et al., 2008). L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 30 min après l'injection de l'agent algogène (Ochieng et al., 2012 ; Ouedraogo et al., 2012).

II.7.1. Traitement des animaux :

Sept lots homogènes de cinq souris femelles ont été constitués. Ces cobayes ont été mis à jeun 16 heures avant l'essai :

- **Lot 1 : témoin positif : acide acétique** : Les animaux de ce lot reçoivent la solution véhicule (eau physiologique) 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique (0,6%) par voie intrapéritonéale.
- **Lot 2 : lot de référence (Tramadol)** : Les animaux de ce lot ont été traités par voie intrapéritonéale avec un analgésique utilisé en thérapeutique (Tramadol) 30 minutes avant

l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique. L'administration de l'analgésique de référence se fait à raison de 15 mg/kg.

- **Lot 3 : lot de référence (Aspirine) :** Les souris de ce lot ont été traités par voie intrapéritonéale avec un analgésique utilisé en thérapeutique (aspirine) 30 minutes avant l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique. L'administration de l'analgésique de référence se fait à raison de 65mg/kg.
- **Lot 4 : Extrait aqueux de *Paronychia argentea* :** Les animaux reçoivent, par voie intrapéritonéale l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* à raison de 100 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.
- **Lot 5 : Extrait aqueux de *Urtica dioica* :** Les animaux reçoivent, par voie intrapéritonéale l'extrait aqueux de *Urtica dioica* à raison de 100 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.
- **Lot 6 : Extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* :** Les animaux reçoivent, par voie intrapéritonéale l'extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* à raison de 100 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.
- **Lot 7 : Extrait hydro-méthanolique de *Urtica dioica* :** Les animaux reçoivent, par voie intrapéritonéale l'extrait hydro-méthanolique de *Urtica dioica* à raison de 100 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.

Le pourcentage d'inhibition des crampes (PI) est calculé selon la formule suivante :

$$PI (\%) = \frac{NCTe - NCTr}{NCTe} \times 100$$

- **NCTe :** nombre moyen des contorsions dans le lot témoin.
- **NCTr :** nombre moyen des contorsions dans le lot traité.

III. Evaluation statistique :

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2019. Les données statistiques des tests effectués sont exprimées en moyenne \pm écart-type. Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Résultats **et discussion**

I. Rendement de l'extraction :

L'extraction de la partie aérienne de *Paronychia argentea* et de *Urtica dioica* par infusion dans l'eau distillée et par macération dans le méthanol 80% a permis d'obtenir des extraits de différentes couleurs, qui sont conservés au frais dans des flacons ombrés jusqu'à leur utilisation.

Les résultats des rendements et caractéristiques des extraits aqueux et hydro-méthanoliques des deux plantes sont représentés dans le **tableau numéro 07**.

Tableau 07 : Rendement et caractéristiques des extraits aqueux et hydro-méthanolique des plantes :

Le poids du matériel végétal en (g)	Les extraits	Aspect	Couleur	Le poids des extraits poudre en (g)	Le rendement en (%)
50	Ext AQ URT	Poudre	Vert foncé	12,79 g	25,58 ±0,1
	Ext HM URT	Poudre	Vert foncé	7,905 g	15,81 ± 0,005
	Ext AQ PAR	Poudre	Marron clair	10,89g	21,79 ±0,03
	Ext HM PAR	Poudre	Vert foncé	81 g	16,03 ±0,03

Les résultats recueillis montrent que le rendement de l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* est plus élevé par rapport à l'extrait hydro-méthanolique de la même plante (21,79 ±0,03% contre 16,03 ±0,03%). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Adjadj et ses collaborateurs (2015) qui ont trouvé que l'extrait aqueux était plus rentable (11,27 ±1,83%) par rapport à l'extrait méthanolique (10,97 ±0,64%).

Nous avons constaté aussi que l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* a un meilleur rendement (25,58 ±0,1%) par rapport à l'extrait hydro-méthanolique de la même plante (15,81 ±0,005%). Nos résultats pour l'extrait hydro-méthanolique d'*Urtica dioica* étaient cohérents avec ceux publiés par Stanojević et ses collaborateurs (2016) qui ont enregistré un rendement de 15,33 ±0,11%. Par contre, le résultat de l'extrait aqueux diffère de celui obtenu par Bnouham et ses collaborateurs (2003) qui ont obtenu un rendement de 21%.

Il a également été constaté que les rendements des extraits hydro-méthanoliques des deux plantes étaient inférieurs à ceux obtenus à partir des extraits aqueux des mêmes plantes.

Mechraoui et ses collaborateurs (2021) suggèrent que la différence de rendement d'extraction est due aux méthodes utilisées pendant l'extraction, aux solvants d'extraction utilisés (les solvants polaires ont un meilleur rendement d'extraction que les solvants moins polaires), au pH, à la température, au temps d'extraction et à la composition phytochimique de l'échantillon.

Selon Paulauskienė et al. (2021), cette différence est due également à la variété de la plante, au génotype, au climat, au sol, au stade végétatif, et au moment de la récolte.

II. Caractérisation quantitative des extraits de plantes :

II.1. Teneur des extraits en polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique décrite par Singleton et Rossi en 1965 en utilisant le réactif de Follin-Ciocalteu. La teneur en composé phénolique des extraits aqueux et hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* et d'*Urtica dioica* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Figure 17) et une autre d'acide tannique (Figure 18), exprimés en ($\mu\text{g/ml}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Pour l'acide gallique : $y=0,0035x - 0,0387$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9909$ et pour l'acide tannique : $y= 0,0027x - 0,0187$ avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,9969$), comme indiqué ci-dessous :

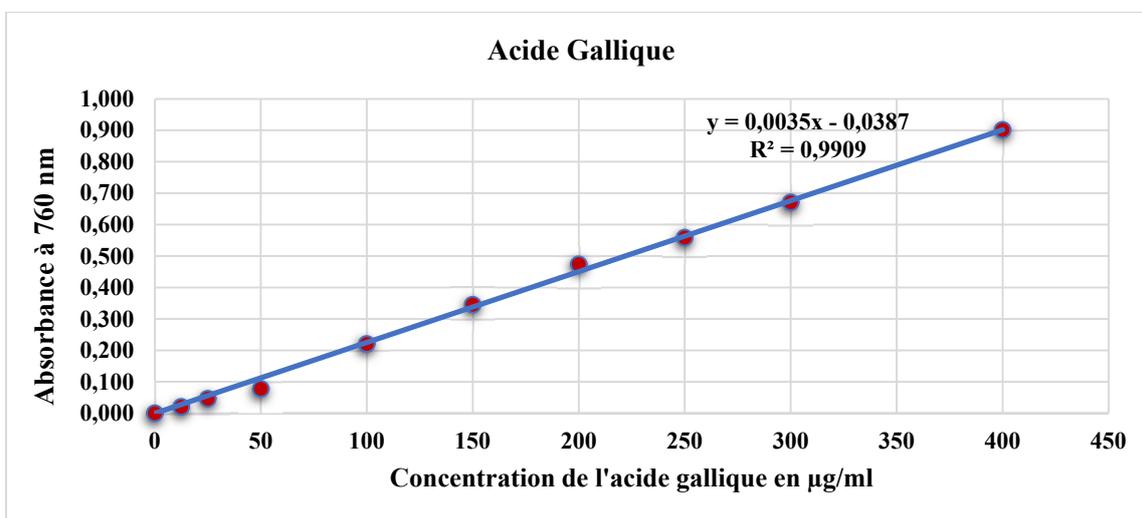


Figure 17 : Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique ((Moyenne \pm SD de trois essais)

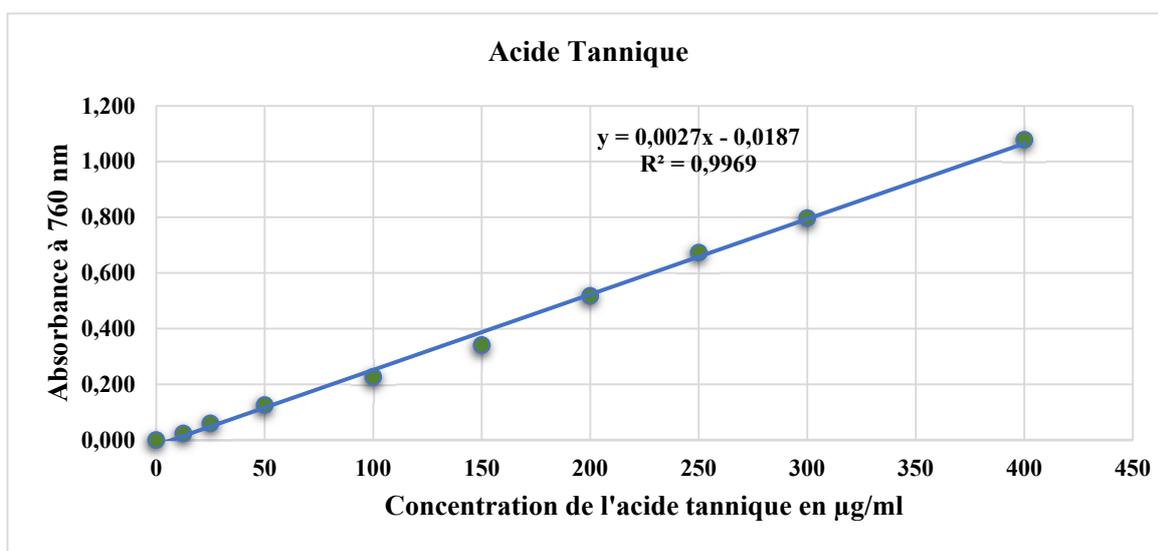


Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'Acide Tannique ((Moyenne \pm SD de trois essais)

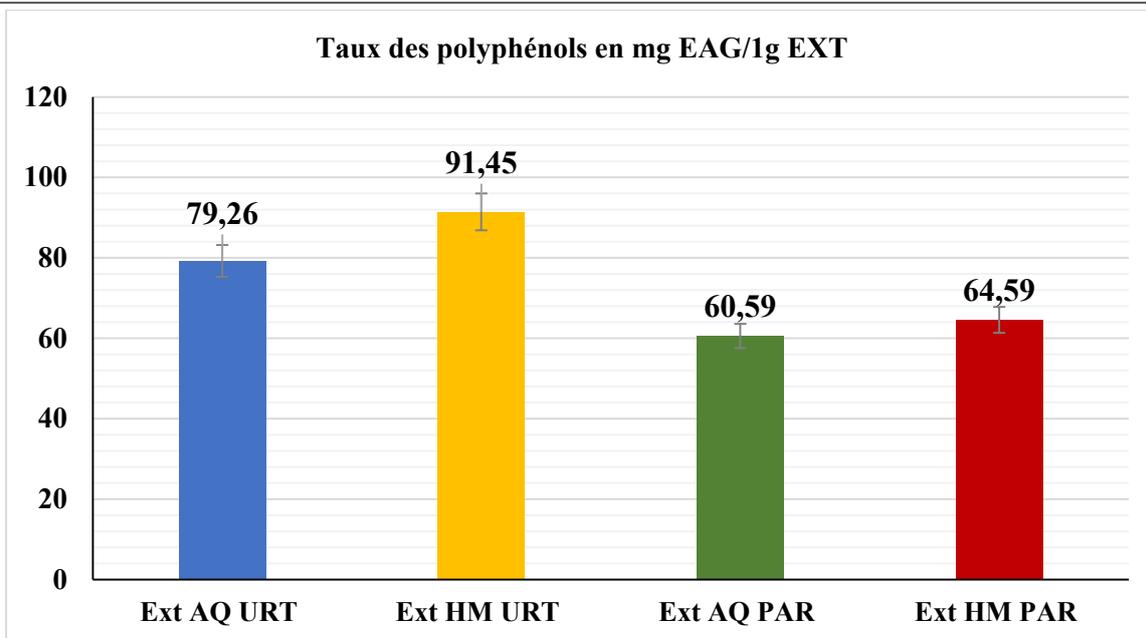


Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d’acide gallique.

D’après les résultats obtenus et illustrés dans les **Figures 19** et **20**, on peut constater que l’*Urtica dioica* possède les teneurs plus élevées en polyphénols totaux en comparaison avec *Paronychia argentea* et ceci a été remarqué pour les deux extraits hydro-méthanolique et aqueux.

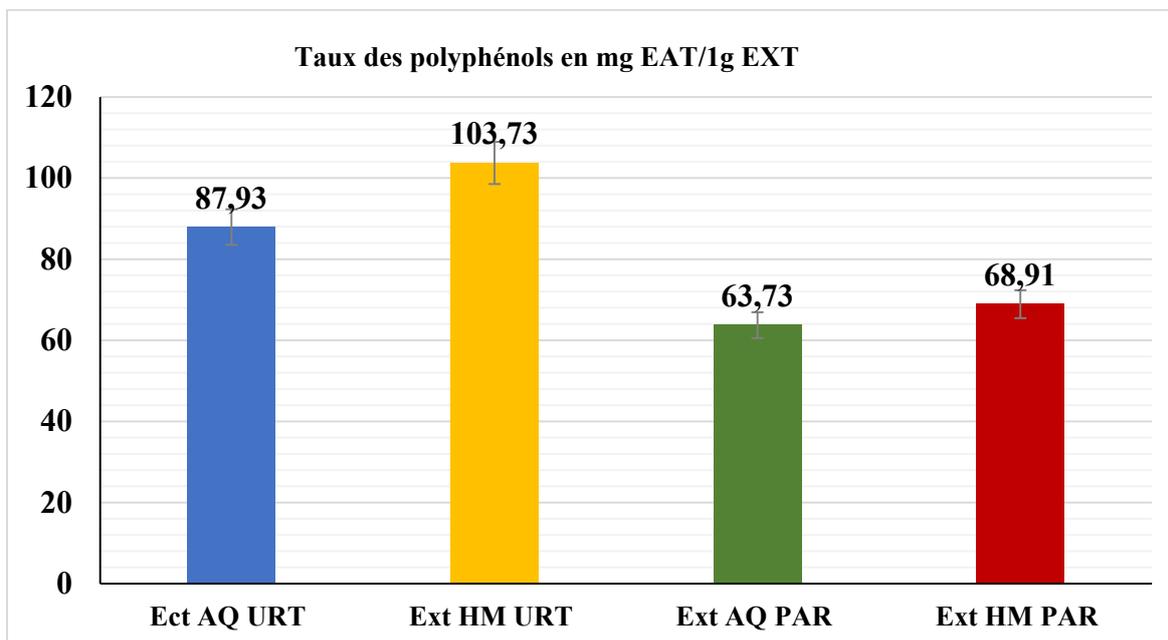


Figure 20: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d’acide Tannique.

Notre étude a montré que l’extrait hydro méthanolique de l’ortie est plus riche en polyphénol par rapport à l’extrait aqueux de la même plante (91,45 ±1,65 contre 79,26 ±0,57 mg EAG/g EXT et 103,73 ±2,14 contre 87,93 ±0,74 mg EAT/g EXT). Ces résultats ne s’accordent pas avec ceux obtenus par Ebrahimzadeh et ses collaborateurs (2015) qui ont enregistré un taux en polyphénols de 7,89 ±0,38 mg EAG/g EXT dans l’extrait aqueux de plante et de 5,30 ±0,27 mg EAG/g EXT dans l’extrait hydro-méthanolique.

En outre, il a été constaté que l'extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* est plus riche en polyphénol par rapport à l'extrait aqueux de la même plante ($64,59 \pm 2,82$ contre $60,59 \pm 2,01$ mg EAG/g EXT et $68,91 \pm 3,65$ contre $63,73 \pm 2,60$ mg EAT/g EXT). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Adjadj et ses collaborateurs (2015) qui ont enregistré un taux de $217,46 \pm 0,87$ mg EAG/g EXT dans l'extrait méthanolique.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs : facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies), la période de la récolte, le stade de développement de la plante et le patrimoine génétique (Bentabet et al., 2014).

Selon Khoddami et ses collaborateurs (2013), plusieurs paramètres peuvent influencer le rendement des composés phénoliques, notamment le temps d'extraction, la température, le rapport solvant/échantillon, le nombre d'extractions répétées de l'échantillon, type de plante et de ses composés actifs, ainsi que le type de solvant et les techniques d'extraction employées.

L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu polaire modéré qui assure l'extraction des composés. Cependant, l'utilisation de l'eau comme seul solvant donne une extraction avec un contenu élevé d'impuretés telles que des acides organiques, des sucres et des protéines solubles, qui peuvent interférer dans l'identification et la quantification phénolique (Arnnok et al., 2012).

II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon été la quercétine. La teneur totale en flavonoïdes a été calculée en mg d'équivalent de quercétine par g de l'extrait sec (mg EQU/g EXT), par référence à la courbe standard ($y = 0,0219x + 0,0008$), et un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9924$.

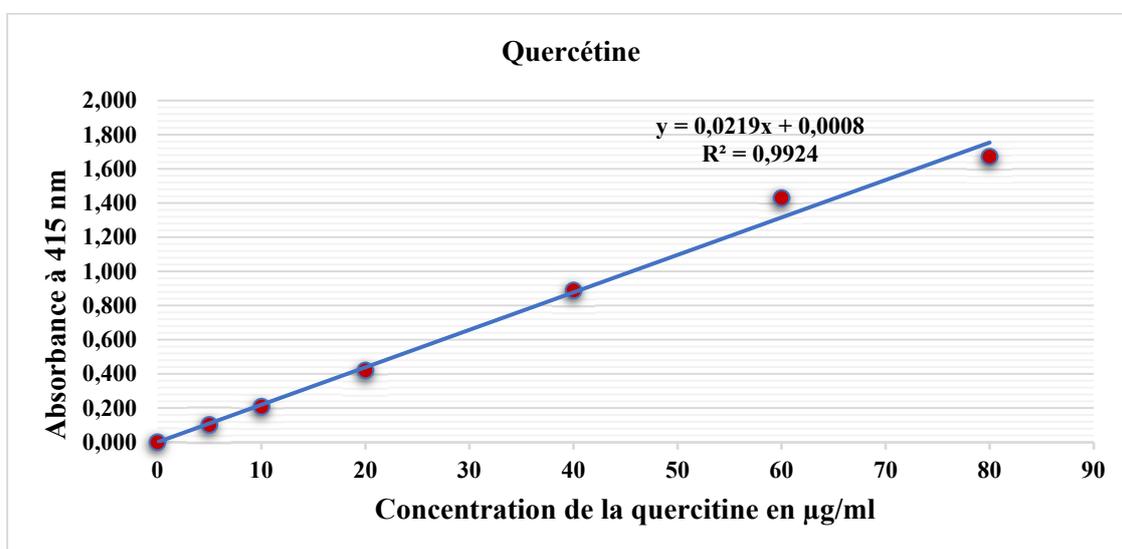


Figure 21: Droite d'étalonnage de la quercétine (Moyenne \pm SD de trois essais)

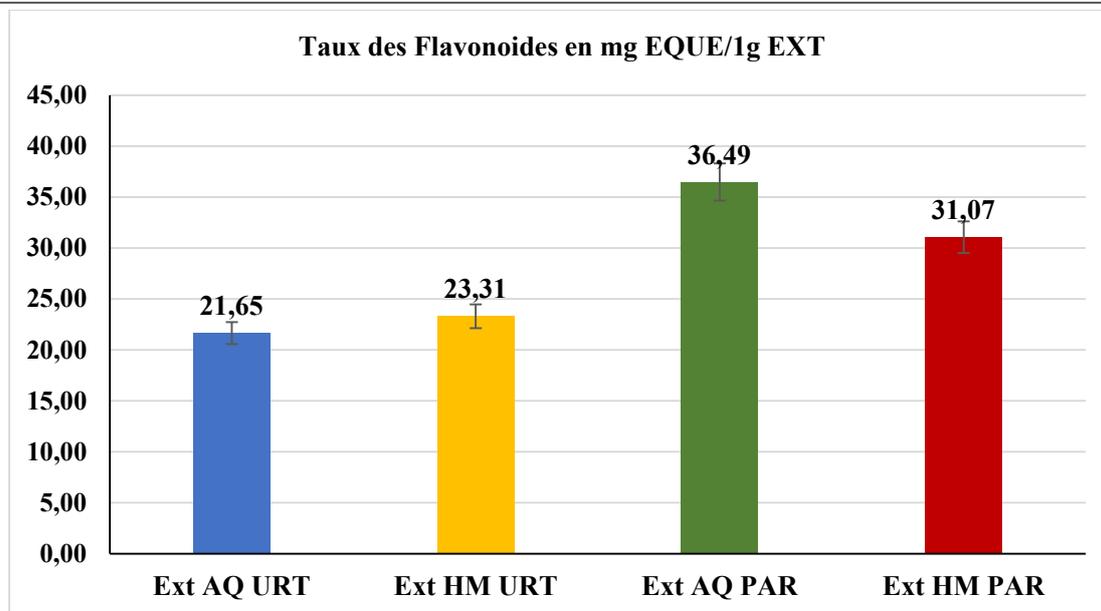


Figure 22 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux équivalant quercétine

On peut remarquer que pour l'*Urtica dioica*, l'extrait hydro-méthanolique est légèrement riche en flavonoïdes totaux par rapport à l'extrait aqueux ($23,31 \pm 0,42$ mg EQUÉ/g EXT contre $21,65 \pm 1,87$ mg EQUÉ/g EXT respectivement). Ces résultats ne sont pas compatibles avec ceux obtenus par Ebrahimzadeh et ses collaborateurs en 2015 ($5,77 \pm 0,24$ mg EQUÉ/g EXT pour l'extrait hydro-méthanolique contre $4,84 \pm 0,21$ mg EQUÉ/g EXT pour l'extrait aqueux).

Par contre pour la plante *Paronychia argentea* l'extrait aqueux est légèrement plus riche en flavonoïdes totaux par rapport à l'extrait hydro-méthanolique ($36,49 \pm 1,79$ mg EQUÉ/g EXT contre $31,01 \pm 0,33$ mg EQUÉ/g EXT). Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Sait et ses collaborateurs (2015) qui ont conclu que l'extrait éthanolique a montré la plus haute teneur en flavonoïdes, suivi par la décoction et l'infusion ($25,4 \pm 0,8$ mg/g, $8,4 \pm 0,5$ mg/g, $0,2$ mg/g, respectivement).

En comparant les deux plantes, on peut constater que *Paronychia argentea* possède des teneurs plus hautes en flavonoïdes totaux par rapport à *Urtica dioica*. Ces résultats ne sont pas en corrélation avec ceux des polyphénols. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différents solvants et de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Selon Gheffour et ses collaborateurs (2015), la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes des extraits de plantes varie d'une plante à l'autre, cela est probablement dû à la localisation géographique, les conditions climatiques et environnementales, la saison de récolte, la maturité de la plante et la durée de conservation.

III. Activité antioxydante *in vitro* :

Pour évaluer avec précision l'activité antioxydante, une seule méthode n'est pas suffisante car de nombreux facteurs peuvent affecter l'évaluation. Il est nécessaire de prendre plus d'une mesure et également de prendre en compte les différents mécanismes de l'activité antioxydante (Kukrić *et al.*, 2012). Pour cela, cinq tests ont été utilisés et dans lesquels le pouvoir antioxydant des extraits des plantes sont comparés aux molécules de références.

III.1. Le test de piégeage du radical DPPH :

L'activité antioxydante des extraits aqueux et hydro-méthanoliques des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un lecteur de microplaque, en suivant la réduction de ce radical induite par des substances antiradicalaires, qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH[•]) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm suivant le protocole appliqué en 1958 par Blois.

Les résultats obtenus dans notre étude (Figure 23) ont révélé que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards (BHA, BHT, α -Tocophérol) ou pour les différents extraits des plantes étudiées.

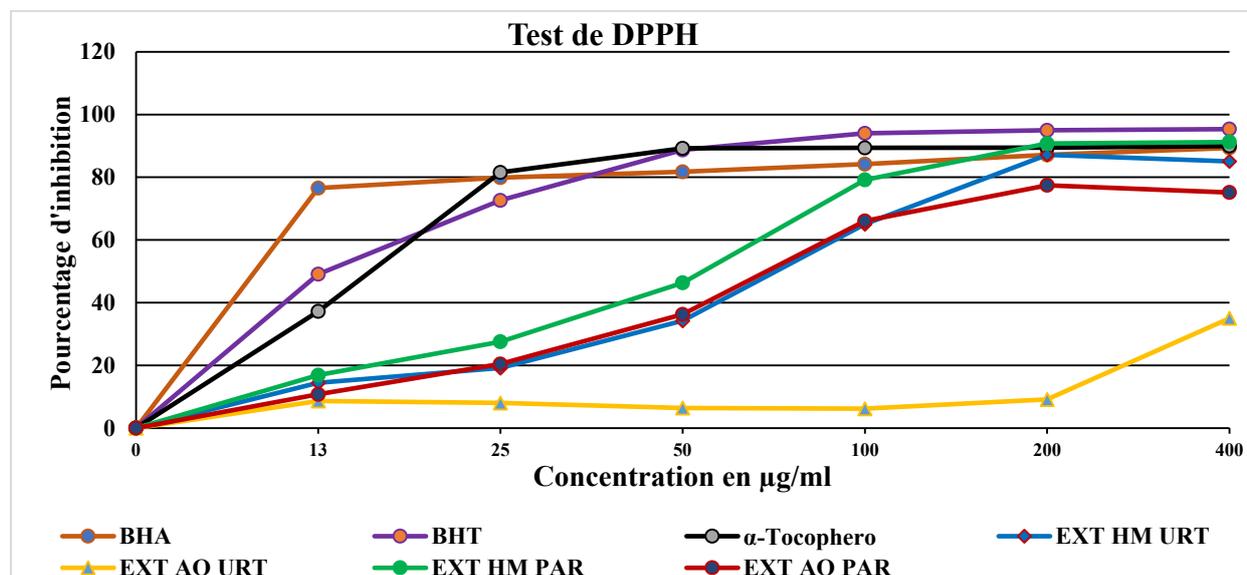


Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH[•] des antioxydants de références et des extraits testés (Moyenne \pm SD de trois essais).

Nous avons remarqué également que les pourcentages d'inhibition des quatre extraits étudiés sont inférieurs aux pourcentages d'inhibition des standards utilisés dans l'analyse ; Pour la concentration de 200 μ g/ml, les standards ont révélé les pourcentages d'inhibition de DPPH suivants : $89,99 \pm 0,23\%$ pour l' α -Tocophérol, $89,36 \pm 0,19\%$ pour le BHA et $95,38 \pm 0,41\%$ pour le BHT. À la même concentration, les extraits hydro-méthanolique d'*U dioica*, hydro-méthanolique de *P argentea* et l'extrait aqueux de *P argentea* ont montré des résultats presque similaires ($85,08$

$\pm 0,25\%$, $91,23 \pm 0,15\%$, $75,15 \pm 1,24\%$, respectivement). Par contre, l'extrait aqueux d'*U dioica*, a affiché des résultats largement inférieurs que les autres extraits ($35,06 \pm 2,02\%$).

La concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH ou IC₅₀ sont représentées dans le **tableau 08**. Il faut se rappeler que la valeur d'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50% de la concentration du radical et donc plus la valeur d'IC₅₀ est basse plus l'activité antioxydante est grande (Adjadj *et al.*, 2015).

Tableau 08 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés

	IC ₅₀ ± Ecart type (En µg /ml)
α-Tocophérol	13,020 ± 0,517
BHA	06,140 ± 0,410
BHT	12,990 ± 0,410
Ext AQ URT	673,879 ± 53,024
Ext HM URT	75,256 ± 3,207
Ext AQ PAR	73,387 ± 1,364
Ext HM PAR	58,532 ± 1,331

En se basant sur les valeurs calculées, les IC₅₀ de l'α-Tocophérol ($13,020 \pm 0,517 \mu\text{g /ml}$), du BHA ($06,140 \pm 0,410 \mu\text{g /ml}$) et du BHT ($12,990 \pm 0,410 \mu\text{g /ml}$), utilisés comme molécules de références, sont largement inférieures à celles des extraits testés et donc, des activités antioxydantes très élevées.

D'après nos résultats, on a remarqué que pour l'*U dioica*, l'extrait hydro-méthanolique présente une IC₅₀ largement inférieure à celle de l'extrait aqueux ($75,256 \pm 3,207 \mu\text{g/ml}$ contre $673,879 \pm 53,024 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats ne sont pas conformes à ceux enregistrés par Ebrahimzadeh et ses collaborateurs (2015) où ils ont conclu que l'extrait hydro-méthanolique et l'extrait aqueux des parties aériennes de l'ortie ont des IC₅₀ significativement proches ($199,71 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$ et $159,88 \pm 1,57 \mu\text{g/ml}$, respectivement). De même, nous avons constaté que l'IC₅₀ de l'extrait aqueux d'*U dioica* que nous avons enregistré est largement supérieure à celui apportés par Rolta et ses collaborateurs (2020) ($18,21 \pm 0,763 \mu\text{g/ml}$), mais proche à celui enregistrée par Derradji et ses collaborateurs (2020) auxquels ils ont obtenu une IC₅₀ de $400 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux.

D'autre part, on a constaté que les IC₅₀ obtenues pour de l'extrait hydro-méthanolique de *P argentea*, est inférieure à celle de l'extrait aqueux de la même plantes ($58,532 \pm 1,331 \mu\text{g/ml}$ contre $73,387 \pm 1,364 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats viennent donc confirmer ceux enregistrés par Al-Shamaa et ses collaborateurs (2020), auxquels ils ont conclu que l'extrait méthanolique de *P argentea* possède une excellente capacité de neutralisation du radical libre DPPH avec une IC₅₀ de $63,573 \pm 3,12 \mu\text{g/ml}$, tandis que l'extrait aqueux a montré un potentiel antioxydant, qui n'a pas

atteint 50% dans les concentrations de la chaîne ($IC_{50} = NT$). Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par Sait et ses collaborateurs (2015), auxquels ils ont conclu que la capacité de piégeage des radicaux DPPH de l'extrait aqueux obtenu par infusion de *P argentea* est supérieure à celle de l'extrait éthanolique (144,92 $\mu\text{g/ml}$ contre 208,33 $\mu\text{g/ml}$). Nous avons constaté également que nos résultats ne sont pas cohérents avec ceux obtenus par Alfarrayeh et ses collaborateurs (2022) qui ont conclu que l'extrait hydro-méthanolique de *P argentea* possède la valeur de CI_{50} de 3,42 mg/ml.

Cette différence dans les résultats peut avoir de nombreuses explications, par exemple la nature et la composition chimique de la plante, qui sont conditionnées par divers paramètres tels que la provenance géographique, les circonstances écologiques, le temps de récolte, le processus de séchage et la technique d'extraction.

Il a été prouvé que les composés phénoliques présents dans les plantes (acides phénoliques, tanins et flavonoïdes) sont principalement responsables de l'effet scavenger des radicaux libres, qui semblent être indispensables compte tenu du rôle clé des radicaux libres dans l'origine et la pathogenèse des maladies dégénératives comme l'arthrite, le cancer ou la maladie d'Alzheimer, entre autres (Sait *et al.*, 2015 ; Adjadj *et al.*, 2015). Donc l'extrait qui présente une forte activité antioxydante possède une teneur élevée en polyphénols, car ils sont des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale, pour améliorer la stabilité des radicaux en formant une liaison intramoléculaire hydrogénique entre l'hydrogène libre et leur radicaux phénoxy (Laincer *et al.*, 2014).

III.2. Le test de piégeage du radical $ABTS^{*+}$:

Selon Re et ses collaborateurs (1999), la technique de piégeage des radicaux $ABTS^{*+}$ est une méthode optimale qui permet de déterminer l'activité antioxydante totale des extraits de plantes à partir de leur capacité à inhiber le radical $ABTS^{*+}$. L'ajout de l'extrait ou du BHA/BHT, molécules de référence, entraîne une décoloration de la solution indiquant l'existence d'une activité antioxydante des échantillons. Cette décoloration est mesurée par un lecteur de microplaque à 734 nm.

Le taux d'inhibition de l' $ABTS^{*+}$ est calculé en fonction pourcentages d'inhibition des différentes concentrations des extraits issus à partir de *Paronychia argentea*, d'*Urtica dioica* et des standards sont représentés dans la **Figure 24**.

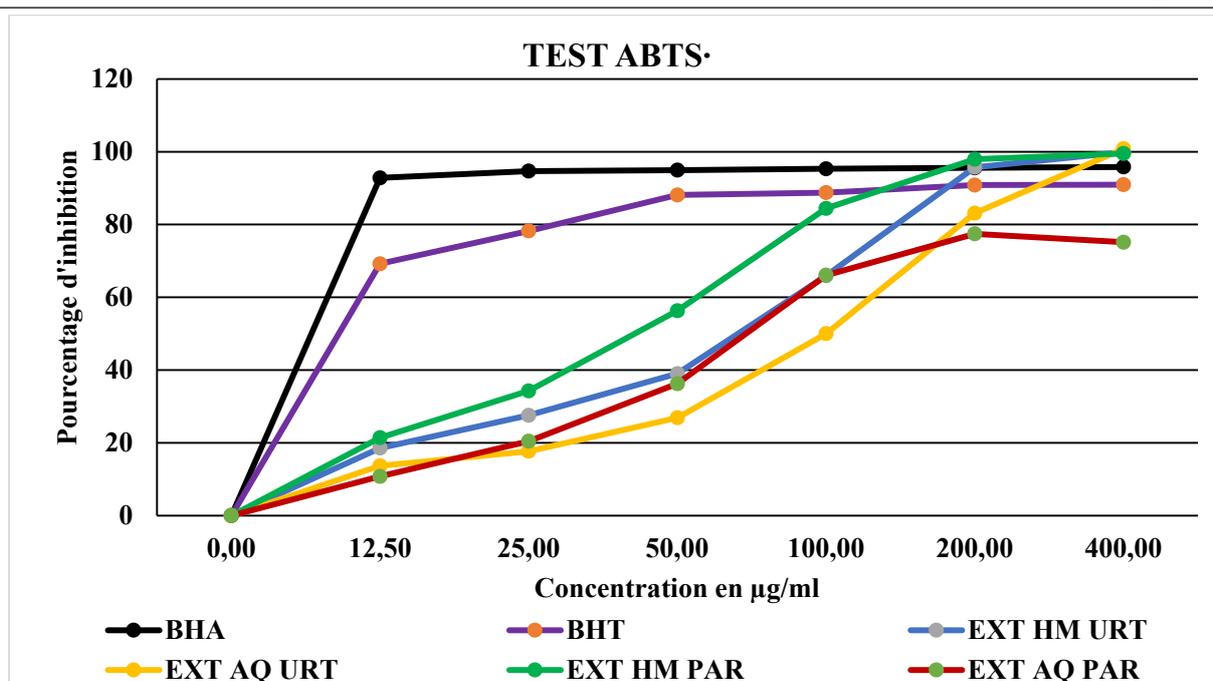


Figure 24 : Pourcentages d’inhibition du radical ABTS’ des antioxydants de références et des extraits testés (Moyenne ± SD de trois essais).

Notre étude a montré que les pourcentages d’inhibition des quatre extraits étudiés sont largement inférieurs aux pourcentages d’inhibition des standards utilisés dans cette analyse ; pour la concentration de 12,5 µg/ml le BHA a révélé un pourcentage d’inhibition du radical ABTS^{•+} de 92,83 ±1,4% suivi par le BHT 69,21 ±0,40%. Concernant les des deux plantes, pour une concentration de 200 µg/ml, le pourcentage d’inhibition du radical ABTS^{•+} est de 97,95 ±0,32% pour l’extrait hydro-méthanolique de *P argentea*, de 95,74 ±1,55% pour l’extrait hydro-méthanolique d’*U dioica*, de 83,12 ±3,95% pour l’extrait aqueux d’*U dioica* et de 77,43 ±1,32% l’extrait aqueux de *P argentea*.

L’IC₅₀ est toujours inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé (Une valeur plus faible de l’IC₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée), car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Les résultats sont exprimés en termes d’IC₅₀ dans le **Tableau 09**.

Tableau 09 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) des antioxydants de références et des extraits testés

	IC ₅₀ ± Ecart type (En µg /ml)
α-Tocophérol	NT
BHA	1,810 ± 0,100
BHT	1,29 ± 0,300
Ext AQ URT	110,283 ± 4,391
Ext HM URT	70,087 ± 1,766
Ext AQ PAR	42,076 ± 1,035
Ext HM PAR	73,387 ± 1,364

Dans cette étude, on a remarqué que le BHT possède l'activité antioxydante la plus élevée avec une valeur IC_{50} de $1,29 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$, suivie par le BHA avec une valeur de $1,810 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$ suivie par l'extrait aqueux de *P argentea* avec une valeur $42,076 \pm 1,035 \mu\text{g/ml}$, suivi par l'extrait hydrométhanolique d'*U dioica* avec une valeur d' IC_{50} de $70,087 \pm 1,766 \mu\text{g/ml}$, suivi par l'extrait hydro-méthanolique *P argentea* avec une valeur d' IC_{50} de $73,387 \pm 1,364 \mu\text{g/ml}$ et enfin l'extrait aqueux d'*U dioica* une valeur de $110,283 \pm 4,391 \mu\text{g/ml}$.

Concernant la plante *Paronychia argentea*, nos résultats sont proches à ceux obtenus par Tawaha et ses collaborateurs (2007), qui ont conclu que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante plus élevée que celle de l'extrait hydro-méthanolique ($79,0 \pm 5,0 \mu\text{g/ml}$ et $85,7 \pm 3,8 \mu\text{g/ml}$, respectivement), mais ces résultats sont largement inférieurs à ceux enregistrés par Ait Abdeslam et Ait Atmane (2013) (IC_{50} de $956,25 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux et $201,25 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait éthanolique).

Pour la plante *Urtica dioica*, l' IC_{50} de l'extrait aqueux est largement supérieur à celle de l'extrait hydro-méthanolique ($110,283 \pm 4,391 \mu\text{g/ml}$ et $70,087 \pm 1,766 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Ces résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par Kukrić et ses collaborateurs (2012) et Rolta et ses collaborateurs (2020), auxquels ils ont constaté que l'activité de piégeage des radicaux $ABTS^{+\cdot}$ est plus élevée dans l'extrait hydro-éthanolique et méthanolique de l'ortie ($23,55 \pm 0,64 \mu\text{g/ml}$ et $19,8 \pm 4 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Néanmoins il est toujours difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie dans la mesure où l'utilisation de différents solvants et de différentes méthodes d'extraction rend la comparaison entre les études moins fiables.

On a constaté que, dans la présente étude, il n'existe aucune corrélation entre les valeurs DPPH et l'activité antioxydante totale mesurée par la méthode d' $ABTS^{+\cdot}$ concernant l'extrait aqueux et hydro-méthanolique de *Paronychia argentea*. Ceci pourrait être justifié par la capacité du radical cation $ABTS^{+\cdot}$ à être plus polyvalent que le DPPH puisque ce radical libre ($ABTS^{+\cdot}$) est soluble dans l'eau et les solvants organiques. Ce qui permet d'exprimer une d'activité antiradicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles (Gülçin, 2011).

Selon Zhang et Tsao (2016), les composés phénoliques sont de puissants antioxydants, mais il convient de souligner que lorsqu'une molécule phénolique perd un électron ou lorsqu'elle agit comme agent réducteur, la molécule elle-même devient un radical, bien qu'il soit relativement stable ; ses intermédiaires oxydés peuvent également devenir des peroxydant. Il est important de noter que l'activité antioxydante obtenue peut être attribuée ou influencée par des composés non phénoliques tels que les lipides, les sucres et la chlorophylle.

Biesiada et ses collaborateurs (2010), ont conclu que la présence de composants chimiques dans les plantes n'est pas permanente mais dépend de facteurs tels que les conditions

environnementales, la phase de croissance de la plante, la forme et l'organe de la plante, le délai de récolte, l'âge de la plantation, ainsi que les conditions de stockage de la matière première.

Ces chercheurs ont constaté que des quantités plus élevées de polyphénols étaient accumulées dans les feuilles d'ortie récoltées en mai et en juillet, tandis que la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes atteignait les valeurs les plus élevées dans la matière première récoltée à partir de la coupe de septembre. De plus, ils ont confirmé que l'activité antioxydante la plus élevée a été observée dans l'ortie récoltée le plus tôt possible, en mai et juin, tandis que la plus faible a été enregistrée dans la matière première récoltée en septembre.

III.3. Le test CUPRAC :

Le test CUPRAC a été effectué pour évaluer la capacité des antioxydants des extraits et des standards en se basant sur le principe décrit par Apak et ses collaborateurs en 2004. Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu^{2+} -Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^{+} -Nc qui absorbe à 450 nm. Les résultats de ce test sont exprimés en DO et sont représentés dans la **Figure 25**.

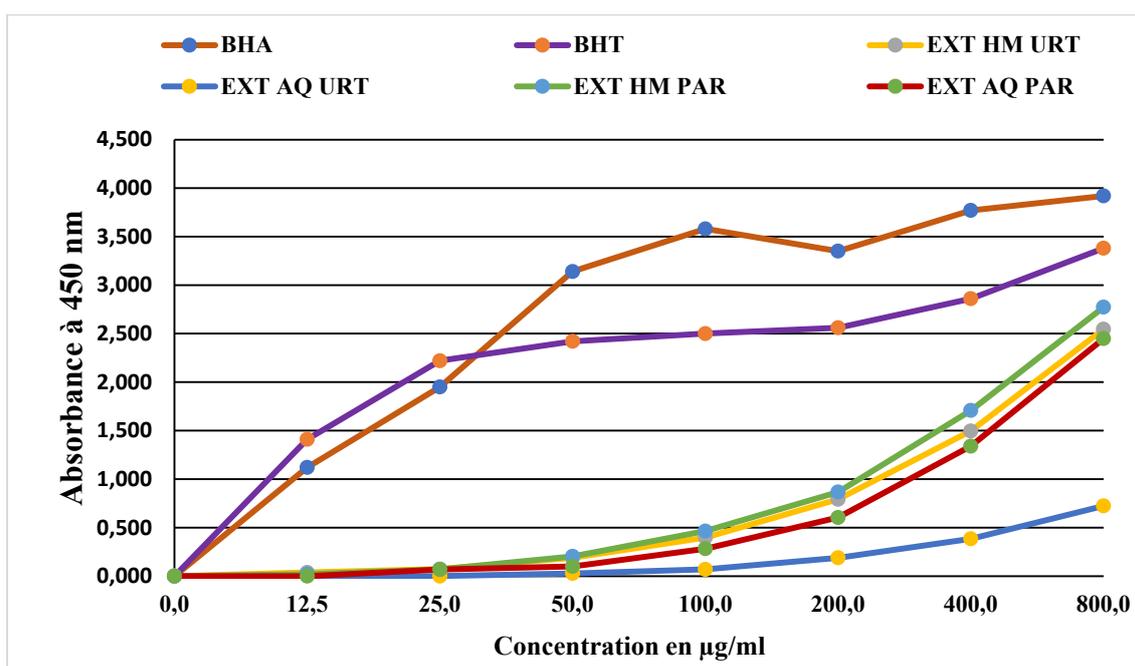


Figure 25 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode CUPRAC (chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD).

A partir de nos résultats on peut déduire que le BHT et le BHA présente une activité réductrice maximale de cuivre pour une concentration de $800\mu\text{g/ml}$ ($\text{DO} = 3,920 \pm 0,130$ et $3,380 \pm 0,130$, respectivement).

Les extraits aqueux et hydro-méthanolique des deux plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* se sont révélés capables de réduire le cuivre mais ce pouvoir reste largement inférieur à

celui des molécules de référence. Le pouvoir chélateur du cuivre augmente avec la concentration des extraits testés.

La valeur $A_{0,5}$ est définie comme étant la concentration du substrat qui donne une valeur d'absorbance de 0,5, et elle inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé (Une valeur plus faible indique une activité antioxydante plus élevée). Les résultats des $A_{0,5}$ de notre travail sont présentées dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 : le pouvoir antioxydant (exprimé par $A_{0,5}$ (en $\mu\text{g/ml}$)) des antioxydants de références et des extraits testés

$A_{0,5} \pm \text{Ecart type (En } \mu\text{g /ml)}$	
α -Tocopherol	NT
BHA	004,723± 00,010
BHT	004,650± 00,126
Ext AQ URT	525,130± 39,225
Ext HM URT	138,840± 03,736
Ext AQ PAR	154,186± 09,151
Ext HM PAR	129,248± 07,508

Les résultats obtenus montrent que les extraits hydro-méthanoliques des plantes *P argentea* et *U dioica* possèdent un pouvoir réducteur de cuivre plus important que celui des extraits aqueux (129,248 ±7,508 $\mu\text{g/ml}$ et 138,840 ±3,736 $\mu\text{g/ml}$ contre 154,186 ±9,151 $\mu\text{g/ml}$ et 525,130 ±39,225 $\mu\text{g/ml}$ respectivement). Toutefois, ce pouvoir réducteur reste largement inférieur à celui des molécules de référence (004,723 ±00,010 $\mu\text{g/ml}$ pour le BHA et 4,650 ±00,126 $\mu\text{g/ml}$ pour le BHT).

En effet, de nombreux chercheurs appuient sur l'hypothèse d'une éventuelle relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques, en décrivant les relations probables quantité/activité et structure/activité entre eux. En effet, Apak et ses collaborateurs (2004) ont identifié au niveau de la structure d'un flavonoïde les groupements responsables de la chélation du cuivre. Ces structures sont les groupements hydroxyles en position 3', 4' et 5 ainsi que le groupement carbonyle en position 4 et la double liaison C2-C3. Donc, l'important pouvoir réducteur de cuivre peut être due au fait que les groupements identifiés comme essentiels pour la réduction du cuivre n'ont pas été affectés au cours de la réaction de polymérisation.

III.4. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power) :

Les antioxydants ayant une propriété réductrice tels que les polyphénols présents dans les extraits de plantes, réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du fer Fe^{3+}

complexe ferricyanide (couleur jaune) à la forme ferreuse (couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gülçin et al., 2004)

Dans notre travail, le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986). Les valeurs des absorbances à 700nm des extraits et des standards sont illustrées dans la **Figure 26**, et les concentrations réductrices ($A_{0,5}$) à 700 nm des extraits et du standard sont présentés dans le **Tableau 11**. Les standards utilisés dans ce test sont l'acide ascorbique et α - tocophérol.

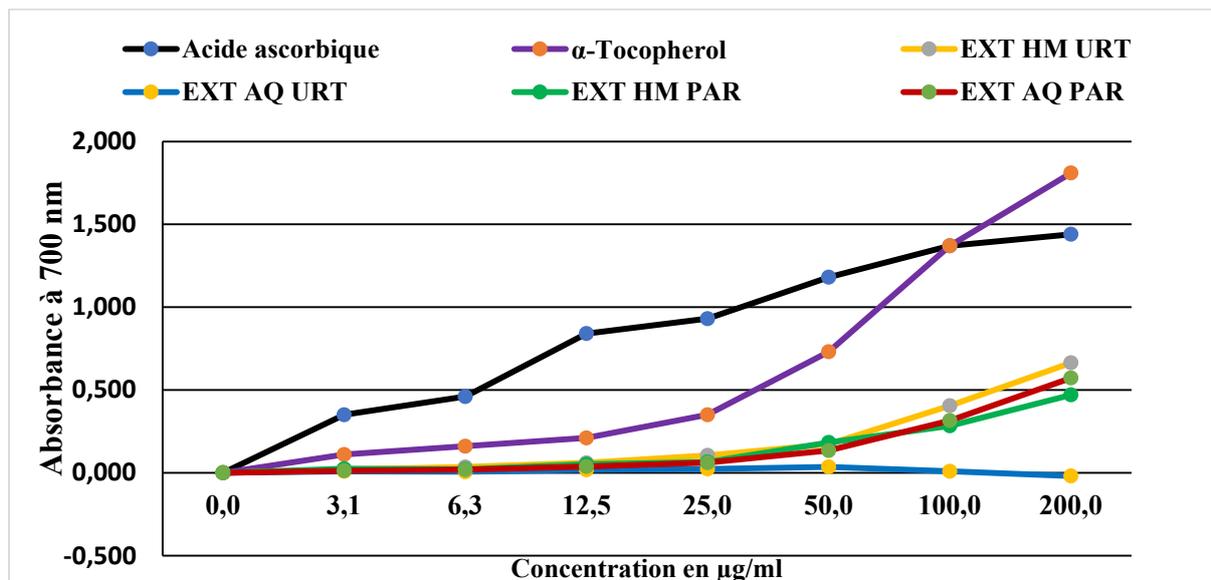


Figure 26 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode FRAP (chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD).

A partir des résultats obtenus on remarque que le pouvoir réducteur des extraits ainsi que des standards est dose dépendante (concentration dépendante) c'est-à-dire que la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des d'extraits.

Tableau 11 : le pouvoir antioxydant (exprimé par $A_{0,5}$ (en $\mu\text{g/ml}$)) des antioxydants de références et des extraits testés

	$A_{0,5} \pm \text{Ecart type (En } \mu\text{g /ml)}$
Acide ascorbique	6,845\pm 0,010
α -Tocophérol	34,293\pm 0,010
BHT	NT
Ext AQ URT	772,823\pm 192,885
Ext HM URT	146,856\pm 4,169
Ext AQ PAR	169,910\pm 18,073
Ext HM PAR	202,962\pm 3,723

En comparant les A_{50} , les résultats obtenus, révèlent des activités antioxydantes appréciables de nos extraits mais restent largement inférieure à celles des standards. Ceci s'accorde parfaitement avec les résultats test de DPPH.

On remarque que l'extrait aqueux de l'ortie possède un pouvoir réducteur des ions de fer ferrique largement inférieur à celui de l'extrait hydro-méthanolique ($772,823 \pm 192,885 \mu\text{g/ml}$ contre $146,856 \pm 4,169 \mu\text{g/ml}$). Ce résultat ne correspond pas à celui de Koczka et ses collaborateurs (2015), qui ont remarqué que la capacité antioxydant testée par la méthode FRAP était plus élevée dans l'extrait aqueux que dans l'extraits hydro-éthanoliques de l'ortie ($0,9104 \text{ mM AA/L}$ et $0,5265 \text{ mM AA/L}$ respectivement).

Pour la plante *P argentea*, l' IC_{50} de l'extrait aqueux est légèrement supérieur à celle de l'extrait hydro-méthanolique ($169,910 \pm 18,073 \mu\text{g/ml}$ et $202,962 \pm 3,723 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Ces résultats sont proches à ceux enregistrés par sait et ses collaborateurs (2015) qui ont remarqué que la décoction et l'extrait éthanolique de la plante ont un pouvoir réducteur très élevé ($178 \mu\text{g/ml}$ et $188 \mu\text{g/ml}$, respectivement).

Le pouvoir réducteur des extraits étudiés est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme de donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

Adjadj (2016) et Koczka et ses collaborateurs (2015) ont reporté une corrélation positive entre l'activité antioxydante des plantes étudiées et la teneur en composés phénoliques. Ils ont suggéré que la zone de collecte a une grande influence sur ces composés ainsi que sur leur pouvoir antioxydant.

Cependant, l'activité antioxydante des plantes n'est pas attribuée seulement au facteur quantitatif, mais également à la qualité du contenu phénolique qui joue un rôle déterminant pour cette activité biologique (**Morelló et al., 2004**).

III.5. Le test Phénanthroline :

La méthode phénanthroline est une méthode appliquée, selon Szydłowska-Czerniaka et ses collaborateurs (2008), pour mesurer la capacité antioxydante totale des extraits de plantes. Cette méthode est basée sur la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} , qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge orangé, et qui absorbe la lumière à 510 nm. Les résultats obtenus des extraits et des standards (BHT et BHA) sont illustrés dans la **Figure 27**.

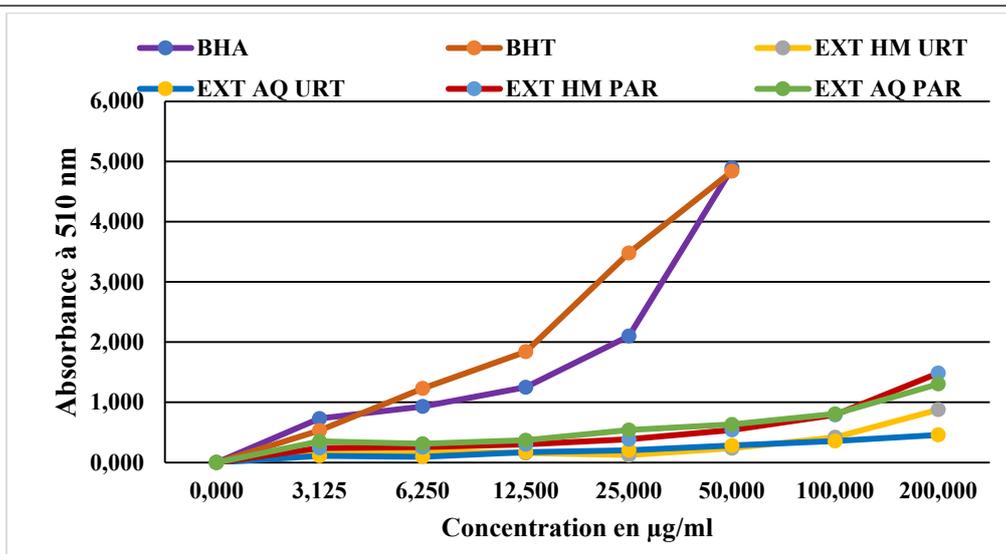


Figure 27 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode Phénanthroline (chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD).

L'analyse statistique des résultats a montré une proportionnalité entre les absorbances des standards et des quatre extraits avec leurs concentrations respectives. Plus l'absorbance est élevée, plus l'activité antioxydante est importante. Mais en comparant l'absorbance des différents extraits avec ceux des standards, nous avons constaté que l'activité antioxydante des extraits de plantes étudiés est largement inférieure à celle du BHA et du BHT.

Tableau 12 : le pouvoir antioxydant (exprimé par $A_{0,5}$ (en $\mu\text{g} / \text{ml}$)) des antioxydants de références et des extraits testés.

	$A_{0,5} \pm \text{Ecart type (En } \mu\text{g} / \text{ml)}$
Acide ascorbique	NT
BHA	$0,930 \pm 0,07$
BHT	$2,240 \pm 0,17$
Ext AQ URT	$215,580 \pm 17,355$
Ext HM URT	$111,768 \pm 2,339$
Ext AQ PAR	$32,554 \pm 0,429$
Ext HM PAR	$49,971 \pm 3,496$

D'après le **Tableau 12**, on remarque que l'extrait aqueux de l'ortie possède un pouvoir antioxydant largement inférieur à celui de l'extrait hydro-méthanolique ($215,580 \pm 17,355 \mu\text{g/ml}$ contre $111,768 \pm 2,339 \mu\text{g/ml}$). Ce résultat s'accorde parfaitement avec le résultat du test FRAP.

Cependant, on constate que l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et de *P argentea* est très proche à celle de l'extrait hydro-méthanolique de la même plante ($32,554 \pm 0,429 \mu\text{g/ml}$ et $49,971 \pm 3,496 \mu\text{g/ml}$) et largement supérieure à celles enregistrées pour la plante *Urtica dioica*. Toutefois, cette activité antioxydante reste inférieure à celle des standards utilisés dans ce test.

En conclusion de cette partie, on a pu démontrer que l'extrait hydro-méthanolique d'*Urtica dioica*, l'extrait hydrométhanolique de *Paronychia argentea* et l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* possèdent une grande activité antioxydante grâce à leur capacité de piéger directement les radicaux testés, à savoir le DPPH[•] et l'ABTS^{•+}, à leur pouvoir de réduire le cuivre (CUPRAC) et à leur pouvoir chélateur de fer (FRAP et Phénantroline). Cette activité pourrait s'expliquer par la richesse de ces deux plantes en composés phénoliques et en flavonoïdes ayant des propriétés antioxydants connues. En revanche, l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* n'a pas montré la même activité dans la majorité des tests ou parfois faible. Cela reviendrait peut-être aux interactions intermoléculaires des différentes fractions susceptibles de réduire l'effet antioxydant total et la quantité des polyphénols de chaque extrait.

L'importante activité antiradicalaire des extraits des plantes étudiées pourrait en partie expliquer leurs pouvoirs anti-inflammatoire et préventifs contre certaines maladies.

La question qui se pose à ce stade, est la suivante ; est ce que les extraits d'*U. dioica* et *P. argentea* agiraient uniquement en empêchant les radicaux libres d'endommager les macromolécules cellulaires ou bien interviendraient également par d'autres mécanismes tels que la suppression de phénomène inflammatoire induit par des agents toxiques. Ainsi on a envisagé l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*, qui fera l'objet de la partie suivante de notre étude.

IV. Activité anti-inflammatoire *in vitro* :

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits aqueux et hydro méthanolique d'*Urtica dioica* et *Paronychia argentea*, a été réalisée par deux méthodes ; l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine et la stabilisation de la membrane érythrocytaire vis-à-vis de l'hémolyse.

IV.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :

Le présent travail a pour but d'évaluer l'activité anti inflammatoire par une méthode basée sur la dénaturation thermique des protéines (BSA). La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation qui conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016). Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométacine n'inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (Sangeetha et al., 2011). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique.

Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération de la structure tridimensionnelle des protéines par la détérioration des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien cette dernière (Mizushima, 1964 ; Barros et al., 2008). Cela signifie que c'est un processus pathologique par lequel ces molécules perdent leur configuration et par conséquent leur fonctionnalité. (Belabbas, 2020).

La **figure 28** représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations en extrait. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés par le diclofénac, considérée comme molécule de référence.

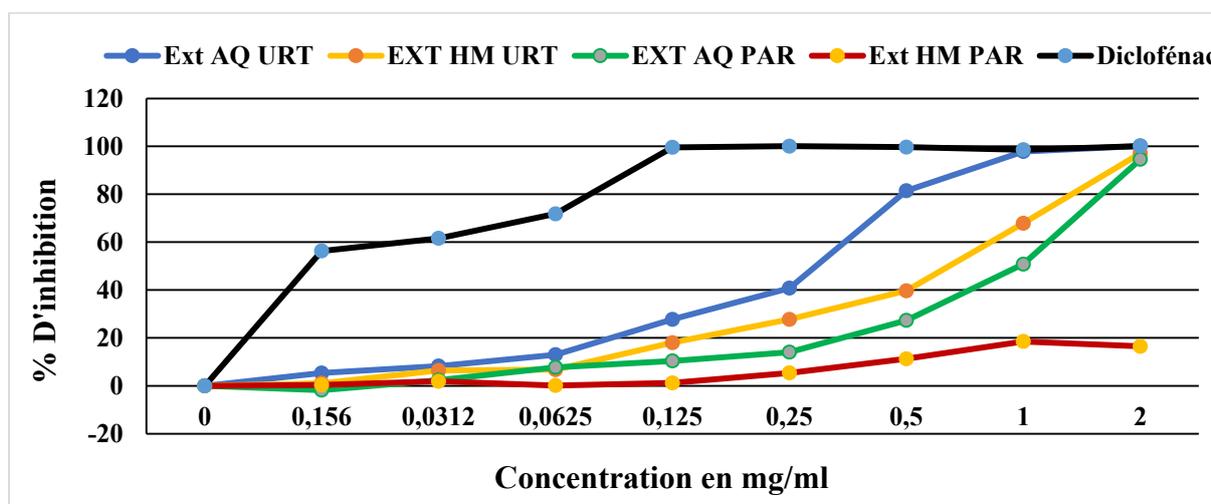


Figure 28 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA

Des solutions de différentes concentrations (0-2mg/ml) des extraits et de l'anti-inflammatoire ont été utilisées dans ce test. D'après les résultats, il apparait qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par les quatre extraits des plantes étudiées.

Nos résultats montrent que le diclofénac a relevé une inhibition de la dénaturation du BSA nettement supérieure à celle des quatre extraits. Pour une concentration de 0,250 mg/ml le diclofénac a relevé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de $100,07 \pm 0,00\%$. Concernant les extraits, pour une concentration 2 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA est de $100,18 \pm 0,23\%$ pour l'extrait aqueux d'*U dioica*, de $97,13 \pm 0,01\%$ pour l'extrait hydro méthanolique de la même plante, $94,58 \pm 2,59\%$ pour l'extrait aqueux de *P argentea*. Ses extraits ont un pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA supérieur et plus considérable par rapport à l'extrait hydro-méthanolique de *P argentea* ($16,45 \pm 0,26\%$).

La capacité anti-inflammatoire des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du BSA. Nous avons déterminé pour chaque

extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du BSA ou IC₅₀. À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 13 : le pouvoir anti-inflammatoire *in vitro* (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) d'un anti-inflammatoire de références et des extraits testés

IC ₅₀ ± Ecart type (En µg /ml)	
Diclofénac	52,87 ± 7,66
Ext AQ URT	318,06 ± 13,78
Ext HM URT	877,01 ± 14,30
Ext AQ PAR	1007,77 ± 46,34
Ext HM PAR	2611,17 ± 85,75

D'après les résultats obtenus (**Tableau 13**), on constate que pouvoir anti inflammatoire exprimé par l'IC₅₀ des extraits aqueux et hydro-méthanolique de l'ortie est largement supérieurs par rapport à l'extrait aqueux et hydro-méthanolique de *P argentea* (318,06 ± 13,78 µg /ml et 877,01 ± 14,30 µg /ml, contre 1007,77 ± 46,34 µg /ml et 2611,17 ± 85,75 µg /ml). Toutefois, l'IC₅₀ obtenu pour le diclofénac reste largement inférieur à celle des extraits des deux plantes.

Un certain nombre de travaux a rapporté que la dénaturation des protéines, *in vivo*, est l'une des causes de la polyarthrite rhumatoïde par la production d'auto-antigènes. Les agents possédant des propriétés protectives contre la dénaturation protéique, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (**Habibur et al., 2015**). Duganath et ses collaborateurs (2010) ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques.

IV.2. Activité anti-hémolytique :

IV.2.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire :

L'étude de l'activité anti hémolytique ne pouvait se faire sans l'évaluation de l'innocuité des extraits vis-à-vis des cellules érythrocytaires pour déterminer les concentrations à utiliser. Les taux d'hémolyse obtenus après incubation des érythrocytes en présence des extraits aqueux et hydro-méthanolique d'*U dioica* et de *P argentea* sont calculés en référence à un témoin positif (GR avec l'eau distillée) et à un témoin négatif (L'extrait avec le tampon phosphate salin). Ces résultats sont regroupés dans l'histogramme suivant (**figure 29**):

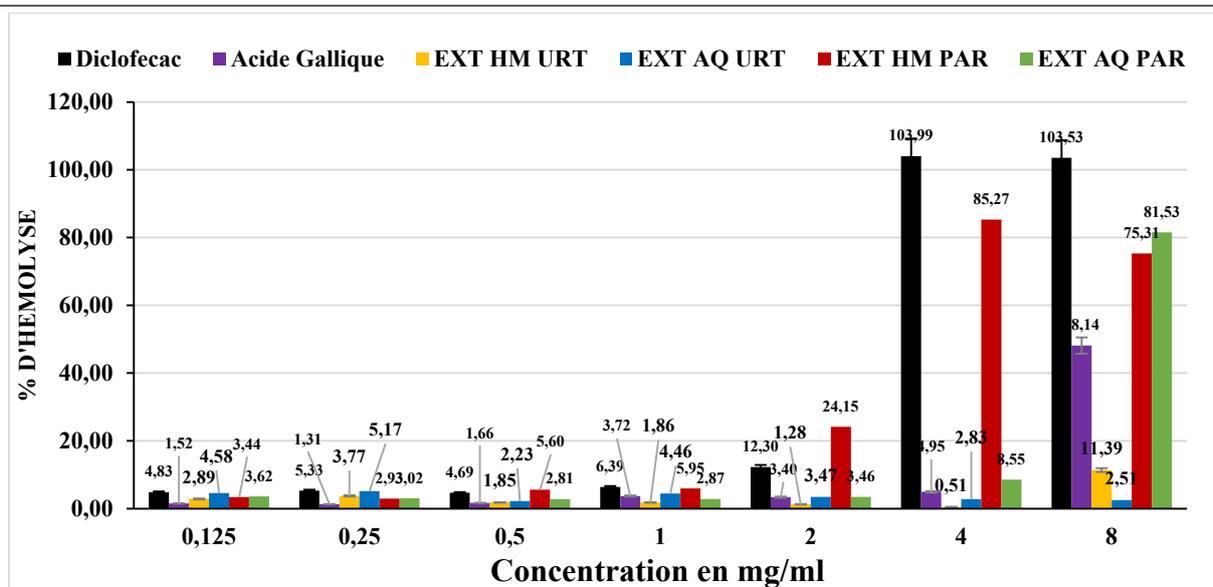


Figure 29 : Pourcentage d’hémolyse en fonction de la concentration des extraits testés

D’après les résultats obtenus, on remarque que diclofénac présente une activité hémolytique élevée par rapport au l’acide gallique avec une lyse des érythrocytes proportionnelle à l’augmentation de la concentration.

Les résultats que nous avons enregistrés montrent également que l’*U dioica* présente une activité hémolytique très modérée, qui n’a pas dépassée $5,58 \pm 1,54\%$ pour l’extrait aqueux et $11,39 \pm 0,39\%$ pour l’extrait hydro-méthanolique, à des concentrations variant de 0,025 à 8mg/ml.

Gangwar et ces collaborateurs (2014) suggèrent qu’une hémolyse de 14% par l’extrait aqueux de *Mallotus philippensis* à la concentration de 100 µg/ml est considérée comme un taux non hémolytique et que cet effet protecteur pourrait être attribué aux composés phénoliques qui s’incorporent dans la couche hydrophile externe et qui n’ont aucun effet sur la fluidité de la partie hydrophobe. Ainsi l’action protectrice des ces composés en ce qui concerne les membranes biologiques dépend du taux d’incorporation dans la partie hydrophile de cette dernière (Aberrane et Mehalla, 2019).

Nos résultats indiquent également que la lyse des érythrocytes est proportionnelle à l’augmentation de la concentration de l’extrait aqueux et hydro-méthanolique de *P argentea* où on a constaté un faible taux d’hémolyse à des concentrations allant de 0,025 à 2 mg/ml et une l’hémolyse très élevée à une concentration de 8 mg/ml (respectivement $81,53 \pm 0,06\%$ et $75,31 \pm 0,45\%$). La toxicité de *Paronychia argentea* pourra être attribuée à sa richesse en métabolites secondaires.

IV.2.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* (l'effet anti-hémolytique) des extraits aqueux et hydro méthanolique d'*U dioica* et de *P argentea*, un test de stabilisation de membranes de globules rouges a été réalisé. Ce test consiste à induire l'hémolyse de GR des rats en utilisant une solution hypotonique et la chaleur, ce qui provoque la désorganisation des membranes et la libération de l'hémoglobine donnant au surnageant une coloration rouge en fonction de proportion d'hémolyse.

La Figure 30 présente les résultats de l'effet protecteur des extraits vis-à-vis de l'hémolyse des globules rouges induite par une solution hypotonique associée à la chaleur. L'acide gallique est utilisé pour ce test comme molécule de référence pour le traitement anti-inflammatoire.

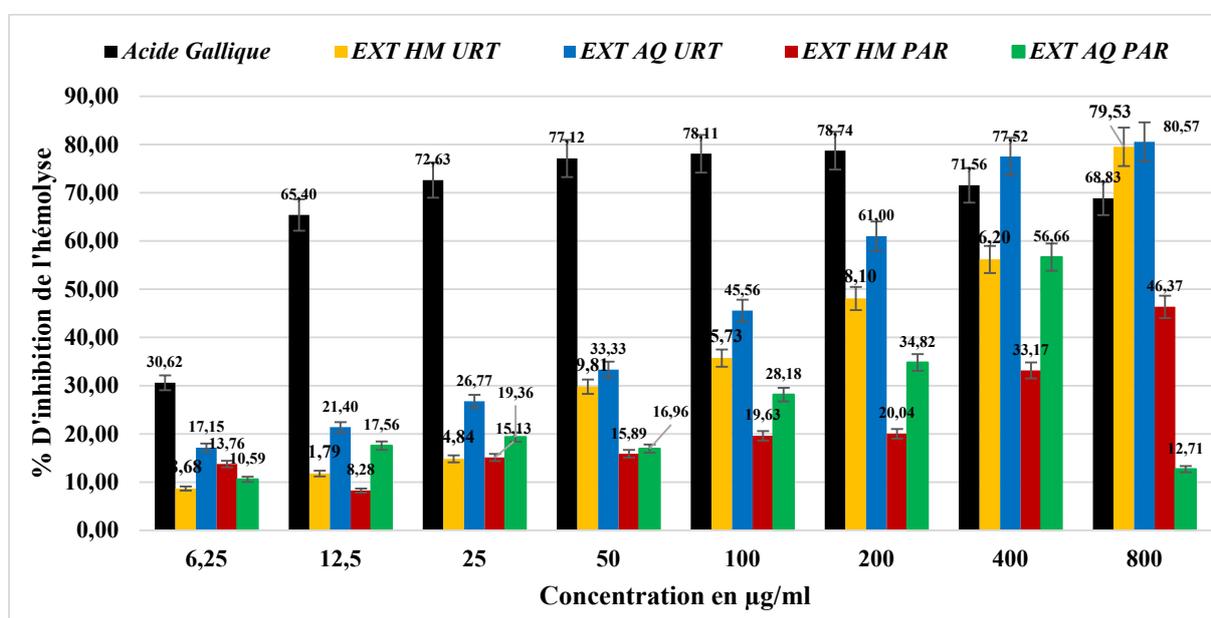


Figure 30 : Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des différentes concentrations des extraits testés.

Les résultats obtenus montrent un effet protecteur de l'acide gallique qui augmente progressivement en fonction des concentrations, jusqu'à un effet maximal de $78,74 \pm 1,69\%$ à une concentration de $200\mu\text{g/ml}$. Cet effet protecteur, a ensuite commencé à diminuer légèrement à partir de $400\mu\text{g/ml}$. Donc, l'effet de l'acide gallique contre l'hémolyse est très important avec les faibles concentrations. On a constaté également que la majorité des extraits aqueux et hydro méthanolique des plantes étudiées ont assuré aux globules rouges une protection contre l'hémolyse à des fortes concentrations.

L'extrait hydro- méthanolique et aqueux de l'ortie présentent une activité maximale de $79,53 \pm 2,99\%$ et de $80,57 \pm 1,46\%$, respectivement à une concentration de $800\mu\text{g/ml}$. L'extrait hydro-méthanolique de *P argentea* donne à la concentration de $400\mu\text{g/ml}$ son effet protecteur maximale

(33,17 ± 3,90%), par contre, l'extrait aqueux de la même plante a augmenté progressivement pour atteindre une protection maximale de 56,66 ± 0,40% à une concentration de 400µg/ml.

En analysant ces résultats, il ressort que l'activité anti hémolytique des extraits aqueux et hydro méthanolique d'*U dioica* augmente en fonction des concentrations. Ce qui prouve que la plante *U dioica* présente un effet anti inflammatoire (anti hémolytique) meilleur que celui de *P argentea*. Il s'avère également que ces résultats sont proches à ceux obtenus par Mekhahli et ses collaborateurs (2021) qui ont constaté que l'extrait aqueux d'*U urens* a présenté un effet anti hémolytique considérable (47,36 ± 0,081%) à la concentration 1000 µg/ml.

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, car la membrane érythrocytaire est comparable à la membrane lysosomale et sa stabilisation implique que les extraits pourraient bien stabiliser les membranes lysosomales (Anosike et al, 2012). La stabilisation des lysosomes est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés, tels que les enzymes bactériennes et les protéases, ce qui entraîne une inflammation supplémentaire des tissus et des dommages lors de la libération des cellules supplémentaires et les enzymes lysosomales libérées au cours de l'inflammation produisent divers troubles (Mekhahli et al., 2021).

L'activité extracellulaire de ces enzymes serait liée à une inflammation aiguë ou chronique. Les médicaments non stéroïdiens (acide gallique) mettre en action soit en inhibant ces enzymes lysosomales, soit en stabilisant la membrane lysosomale (Vadivu et Lakshmi, 2008). En outre, les érythrocytes sont considérés comme des cibles majeures pour l'attaque des radicaux libres en raison de la présence à la fois d'une concentration élevée en acides gras polyinsaturés sur la membrane, et du transport de l'oxygène associé aux molécules d'hémoglobine redox actives, qui sont de puissants promoteurs des espèces réactives de l'oxygène. (Medzhitov, 2008).

Selon Mekahli et ses collaborateurs (2021), les polyphénols sont capables de protéger les érythrocytes au stress actif ou d'accroître leur résistance aux dommages causés par les oxydants. En conclusion, l'activité anti-inflammatoire importante des deux extraits aqueux et hydro-méthanolique d'*U dioica* est peut-être attribuée à leur richesse en polyphénols et la présence de plusieurs molécules connues par leur activité anti-inflammatoire.

V. Activité anti-inflammatoire *in vivo* :

V.1. Effet anti-œdémateux des extraits :

L'inflammation aiguë se caractérise par quatre phénomènes typiques : l'œdème, la douleur, la chaleur et la rougeur (Ghalem, 2014). Pendant la phase aiguë, les prostaglandines PGE₂, principalement produites par la COX-2, stimulent l'expression des lipoxgénases par les

leucocytes, ces enzymes provoquent la synthèse de médiateurs spécialisés dans la résolution de l'inflammation (Voiriot *et al.*, 2018).

Dans cette étude, l'activité anti-inflammatoire des différents extraits de plantes (*Paronychia argentea* et *Urtica dioica*) a été évaluée en utilisant un modèle animal de l'inflammation aigüe induite par le formol aux niveaux de la patte droite des rats suivant la méthode décrite par Rahmani et ses collaborateurs en 2016. Le **tableau 14** et la **figure 31** représentent l'effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol.

Tableau 14 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol : Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ; n = 5 pour chaque groupe.

Traitement	Dose	0 h	1 h	2h	3 h
		Volume de la patte droite (Moyenne \pm SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne \pm SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne \pm SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne \pm SD) ml
Témoin (Eau physiologique)	0	1,556 \pm 0,086	2,611 \pm 0,250	2,500 \pm 0,211	2,527 \pm 0,267
Diclofénac	10 mg/ml	1,416 \pm 0,204	1,638 \pm 0,370	1,527 \pm 0,245	1,500 \pm 0,279
Ext AQ URT	100 mg/ml	1,067 \pm 0,070	1,267 \pm 0,109	1,333 \pm 0,177	1,267 \pm 0,149
Ext HM URT	100 mg/ml	1,133 \pm 0,126	1,450 \pm 0,110	1,500 \pm 0,059	1,533 \pm 0,075
Ext AQ PAR	100 mg/ml	1,117 \pm 0,046	1,267 \pm 0,090	1,250 \pm 0,118	1,150 \pm 0,037
Ext HM PAR	100 mg/ml	1,150 \pm 0,109	1,400 \pm 0,091	1,483 \pm 0,137	1,533 \pm 0,126

L'injection du formol au niveau de l'aponévrose de la plante du pied provoque une inflammation locale et la raison de cette réaction inflammatoire est une lésion tissulaire qui stimule la synthèse de l'histamine, des prostaglandines, des leucotriènes, du PAF (facteur d'activation plaquettaire), des cytokines, du NO et du TNF (Rahmani *et al.*, 2016).

Chez les témoins négatifs, l'injection du formol 1% au niveau la patte arrière droite de rats témoins œdémateux provoque une augmentation de l'œdème de 1,556 \pm 0,086 ml à 2,611 \pm 0,250 ml dans la première heure, puis à 2,500 \pm 0,211ml dans la deuxième heure et à 2,527 \pm 0,267 ml dans la troisième heure (**Tableau 14**). Ces valeurs correspondent à des augmentations en pourcentage des volumes d'œdème de 68,704 %, 61,481 % et 63,148 %, respectivement. Ces résultats montrent que l'œdème maximal a été obtenu à la première heure.

Chez les rats prétraités avec le Diclofénac 10 mg/ml, on a observé une augmentation plus faible du volume de la patte avec un maximum de 15,476 % après la première heure. Ensuite, il commence à diminuer après la deuxième heure, puis la troisième, avec un pourcentage de 7,798% et 5,417 %, respectivement.

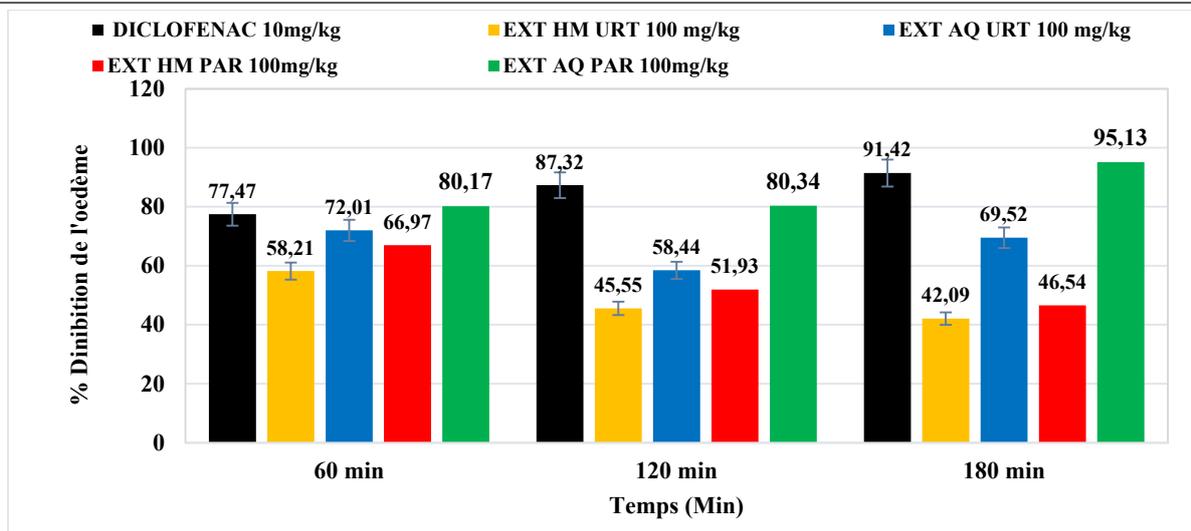


Figure 31 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l’œdème induit par le formol (Pourcentage d’inhibition de l’œdème).

L’administration intrapéritonéale de l’extrait aqueux d'*U dioica* à la dose de 100 mg/ml a provoqué une inhibition de l’augmentation de l’œdème de la patte de 72,01%, 58,44% et 69,52%, respectivement. Les pourcentages d’inhibition de l’œdème obtenus par l’extrait hydro-méthanolique d'*U dioica* par la même dose sont inférieurs à ceux obtenus par extrait aqueux (58,21%, 45,55%, 42,09%).

D’autre part, le prétraitement par l’extrait aqueux de *P argentea* à la dose 100 mg/ml par voie intrapéritonéale provoque une inhibition de l’augmentation de l’œdème de la patte de 80,17% à partir de la première heure, 80,34% dans la deuxième heure et de 95,13% dans la troisième heure. Par contre, l’administration de l’extrait hydro-méthanolique de la même plante a provoqué une inhibition inférieure que celle obtenus par l’extrait aqueux (66,97% dans la première heure, 51,93% dans la deuxième heure, 46,54% dans la troisième heure). Ces résultats montrent que l’extrait aqueux de *P argentea* est plus efficace que le diclofénac à la première et la troisième heure après injection du formol 1%

Il a également été observé que le pourcentage d’inhibition de l’augmentation de l’œdème de la patte par les extraits aqueux des deux plantes était plus efficace que celui obtenu avec les extraits hydro-méthanoliques. Donc, les extraits aqueux ont un effet anti-inflammatoire plus élevé que les extraits hydro-méthanoliques.

Ces résultats sont probablement dû au fait que les différents extraits ont aussi une action, comme le diclofénac (AINS), qui passe par l’inhibition de la prostaglandine par inhibition des cyclooxygénases (Belabbas, 2020).

Selon Hussain et ses collaborateurs (2016) les polyphénols peuvent affecter les systèmes enzymatiques et de signalisation qui sont impliqués dans les processus inflammatoires, inhibent la

libération d'acide arachidonique par les membranes cellulaires, inhibent les enzymes associées aux propriétés pro-inflammatoires telles que COX-2, LOX et iNOS.

L'effet anti-inflammatoire des extraits est probablement dû également à leur effet inhibiteur sur l'activation du NF-kappa B et du facteur de transcription génétique qui active le TNF- α et l'IL-1B dans le tissu synovial qui tapisse l'articulation (Taheri et al., 2022).

V.2. Effet antipyrétique des extraits :

Dans ce test, l'activité antipyrétique de l'extrait aqueux et hydro-méthanolique des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* a été évaluée par la méthode de pyrexie induite par la levure de bière 20% suivant le protocole de Okombe Embeya et Nzuzi Mavungu (2020).

Tableau 15 : Variation de la température provoquée par les extraits sur l'hyperthermie induite chez les souris par la levure de bière : Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ; n = 5 pour chaque groupe.

Produit	Diminution de la température rectale (°C)						
	Avant traitement	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min
Témoin (Eau physiologique)	38,24 \pm 0,29	0,12 \pm 0,09	0,40 \pm 0,16	0,70 \pm 0,31	0,94 \pm 0,21	1,28 \pm 0,21	1,28 \pm 0,28
Paracétamol 150 mg/kg	38,04 \pm 0,34	1,46 \pm 0,49	1,74 \pm 0,43	1,52 \pm 0,41	1,58 \pm 0,22	1,52 \pm 0,26	1,56 \pm 0,36
Ext AQ URT 200 mg/kg	38,04 \pm 0,23	1,60 \pm 0,45	1,84 \pm 0,036	1,06 \pm 0,44	1,06 \pm 0,51	1,18 \pm 0,65	1,28 \pm 0,71
Ext HM URT 200 mg/kg	38,20 \pm 0,37	0,46 \pm 0,49	0,54 \pm 0,40	0,90 \pm 0,21	0,94 \pm 0,47	1,02 \pm 0,39	1,18 \pm 0,27
Ext AQ PAR 200 mg/kg	37,96 \pm 0,31	0,82 \pm 0,44	1,24 \pm 0,09	1,14 \pm 0,66	1,24 \pm 0,57	1,06 \pm 0,46	1,46 \pm 0,28
Ext HM PAR 200 mg/kg	38,14 \pm 0,36	1,76 \pm 0,27	2,22 \pm 0,41	1,60 \pm 0,17	1,28 \pm 0,29	1,32 \pm 0,37	1,46 \pm 0,28

Les résultats présentés dans le **tableau 15** indique que l'injection de la suspension de levure de bière (20%) a provoqué une élévation de température rectale après 16 heures. L'*Urtica dioica*, le *Paronychia argentea* et le paracétamol, molécules antipyrétiques de référence, entraînent une diminution de la température rectale des rats traités. La température du lot de rats témoins a subit une petite diminution pendant la durée de cette expérience (1,28 \pm 0,28 °C). Cette baisse de température peut être finalement dû à la bonne santé des souris.

La baisse de la température rectale induite par le paracétamol, dosé à 150 mg/kg, est proche à celle de l'extrait aqueux de la plante *U dioica* dosé à 200 mg/kg. En effet, l'activité du paracétamol et de l'extrait aqueux d'*U dioica* se manifeste avec la même intensité 30 min après le traitement des rats. Cette activité atteint son maximum après une heure et commence à diminuer deux heures après le traitement des rats. D'autre part, l'administration l'extrait hydro-méthanolique d'*U dioica* dosé à 200 mg/kg a provoqué une diminution moins importante de la température rectale que l'extrait aqueux de la même plante.

Concernant la plante *P argentea*, l'administration de l'extrait aqueux et hydro-méthanolique à la dose de 200 mg/kg a provoqué également une forte réduction de l'hyperthermie de $1,24 \pm 0,09^\circ\text{C}$ et $2,22 \pm 0,41^\circ\text{C}$ après deux heures de traitement, de $1,14 \pm 0,66^\circ\text{C}$ et $1,60 \pm 0,17^\circ\text{C}$ après une heure de traitement et de $1,46 \pm 0,28$ et $1,46 \pm 0,28^\circ\text{C}$ après cinq heures du traitement.

La levure de bière, agent pyrogène, provoque une augmentation de la température corporelle chez la souris, après 16 heures de jeûne (Dosso et al., 2022). Cette hyperthermie déclenchée par l'injection sous-cutanée de 20% de levure de bière est en relation avec la libération de cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-6) qui, ayant atteint les vaisseaux sanguins, stimulent la biosynthèse de prostaglandines (PGE 2) au voisinage du centre hypothalamo-régulateur (Ouédraogo et al., 2012).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) déploient leur effet antipyrétique en inhibant la synthèse des PGs par leur action sur l'hypothalamus. Cette inhibition de la synthèse des PGs pourrait donc être un mécanisme possible de l'action antipyrétique des extraits étudiés similaire à l'action exercée par le paracétamol en provoquant un blocage de l'activité enzymatique de la cyclo-oxygénase inhibant ainsi la synthèse des PGs. (Okombe Embeya et Nzuzi Mavungu, 2020).

V.3. Effet analgésique des extraits :

Dans cette étude, nous avons compté le nombre de contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique (0,6%), chez les souris femelles, par voie intrapéritonéale (IP), en présence de la substance test, l'eau distillée ou un analgésique de référence selon la méthode du test de writhing, utilisée par Dosso et ses collaborateurs (2022). Le nombre de contractions abdominales sont présentés dans la **Figure 32**.

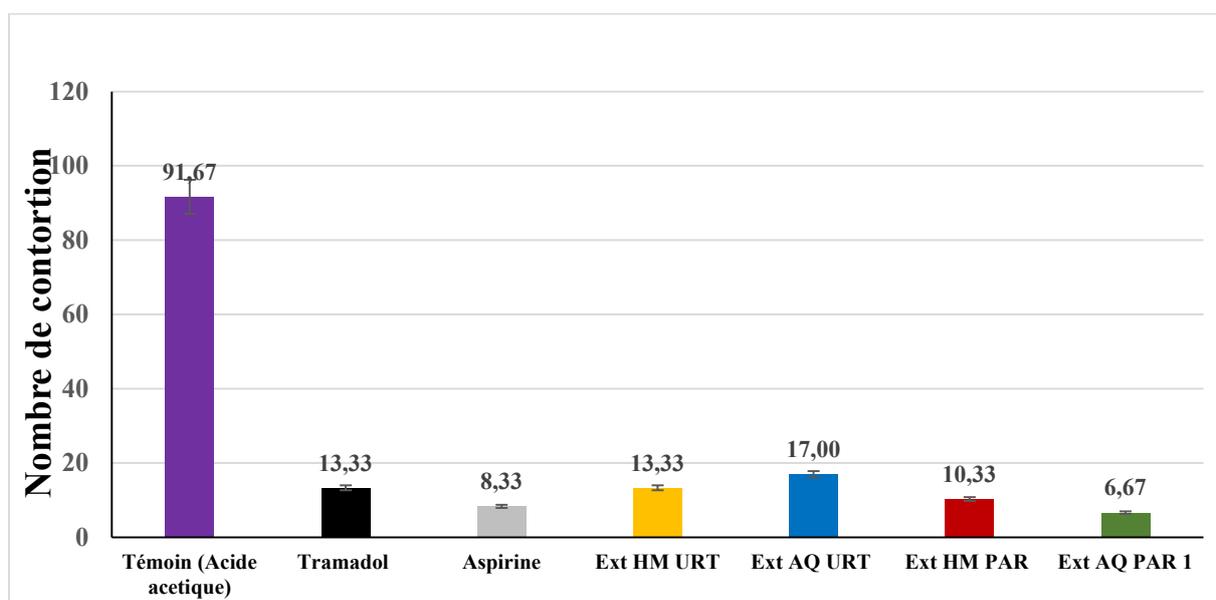


Figure 32 : Effet analgésique des extraits, Tramadol, et de l'Aspirine sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les souris.

D'après les résultats, on a constaté que le Tramadol (15mg/kg), l'Aspirine (65mg/kg), utilisés comme référence, ainsi que les quatre extraits de plantes ont réduit de façon significative les contractions abdominales chez les souris traitées par rapport aux témoins.

L'administration de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro-méthanolique d'*U. dioica* à la dose 100 mg/kg a produit presque le même effet inhibiteur que celui du Tramadol ($81,45 \pm 4,75\%$ et $85,45 \pm 10,07\%$ contre $85,45 \pm 2,51$ respectivement). Les niveaux d'anti-douleur obtenus dans ce travail sont légèrement inférieurs à ceux rapportés par Gülçin et ses collaborateurs (2004) qui avec une concentration de 100 mg/kg de poids corporel d'extrait aqueux d'*U. dioica*, ont obtenu un pourcentage de protection de 89,2%. Dans les travaux de Hajhashemi et Klooshami (2012), l'extrait hydroalcoolique de feuille d'*U. dioica* a induit un pourcentage de protection de 81% à 400mg/kg.

De même, nous avons constaté que l'administration de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro-méthanolique *P. argentea* (100 mg/kg) a permis l'obtention de pourcentages de protection contre la douleur d'environ $92,73 \pm 2,27\%$ et $88,73 \pm 2,52\%$ respectivement.

Le test de contorsions induites par l'acide acétique chez le rat est largement utilisé pour cribler et étudier des composés pour l'activité anti-nociceptive à médiation périphérique et est considéré comme une méthode appropriée (Khan et al., 2009). L'administration intrapéritonéale d'acide acétique péritonéal (0,6%) provoque la sécrétion de sérotonine, d'histamine, de bradykinine, de substance P et de prostaglandines (PGE 2 α , PGF 2 α). Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nocifs périphériques et entraînent une augmentation de la perméabilité vasculaire (Ouédraogo et al., 2012).

Selon Embeya et Mavungu (2020), les récepteurs péritonéaux locaux pourraient être la cause des contractions abdominales et l'effet analgésique périphérique est généralement corrigé par des médicaments AINS en agissant par inhibition de la cyclo-oxygénase et/ou de la lipo-oxygénase ou encore par inhibition de la réponse douloureuse produite par les nocicepteurs périphériques. Il est donc possible que les extraits des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* agisse par ce même mécanisme.

L'effet analgésique des extraits dans cette étude peut donc être dû à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes ou de saponines. Selon Safari et ses collaborateurs (2016), les flavonoïdes sont largement reconnus pour cibler les prostaglandines impliquées dans la perception de la douleur en modérant le mécanisme opioïdérique. Ces résultats nous permettent de conclure que ces plantes médicinales ont une activité analgésique périphérique et que leurs mécanismes d'action peuvent être médiés par l'inhibition des récepteurs péritonéaux locaux.

Conclusion **et perspectives**

Conclusion et perspectives

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, voire anti-inflammatoire et antioxydante demeure une tâche très utile et une piste intéressante à explorer ; de ce fait la médecine actuelle remet de plus en plus à l'honneur les plantes médicinales. Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps dans presque tous les pays comme remède aux maladies humaines grâce à leur composition riche en molécules biologiquement actives. Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique, des extraits obtenus par infusion dans l'eau distillée et par macération dans le méthanol 80% des parties aériennes des deux plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* L.

L'évaluation quantitative des composés par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé que l'*Urtica dioica* est plus riche en polyphénols que la *Paronychia argentea*. Par contre, l'analyse des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ a montré que la plante *Paronychia argentea* était plus riche en flavonoïdes que l'*Urtica dioica*.

L'activité antioxydante in vitro des extraits a été déterminée par cinq tests, à savoir le DPPH[•] et l'ABTS^{•+}, CUPRAC, FRAP et Phénantroline. On a pu démontrer que les extraits hydro-méthanoliques des deux plantes et l'extrait aqueux de *Paronychia argentea* possèdent une grande activité antioxydante en revanche à l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* n'a pas montré la même activité dans la majorité des tests ou parfois faible.

Les tests évaluant l'activité anti-inflammatoire in vitro (test de la dénaturation protéique BSA, test d'hémolyse des globules rouges et test de la stabilisation membranaire) nous ont montré que les deux plantes ont un effet anti-inflammatoire important.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo des extraits aqueux et hydro-méthanolique des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* a montré que les extraits des deux plantes présentent une forte activité anti-œdémateuse (100mg/ml) et antipyrétique (200mg/ml).

L'investigation sur l'activité analgésique a montré que les extraits aqueux et hydro-méthanolique des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* L, ont réduit de façon significative les contractions abdominales chez les souris traitées à la dose de 100 mg/ml. Ces résultats sont comparables à ceux du tramadol (15 mg/kg) et d'aspirine (15 mg/kg).

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Toutefois, nos résultats ne constituent qu'une ébauche

dans le domaine de recherche et nécessite des études ultérieures qui devraient être orientées vers l'établissement des posologies efficaces, l'isolement et la caractérisation des molécules ainsi que la recherche des mécanismes d'action des extraits de ces deux plantes dans le but de corrélérer les activités pharmacologiques aux constituants chimiques qu'elles renferment.

Références bibliographiques

A

Aberrane, S., et Mehalla, M. (2019). Etude de l'activité anti-inflammatoire et antihémolytique de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris L.* Mémoire Master en Biochimie Appliquée. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

Abu Bakar, F. I., Abu Bakar, M. F., Abdullah, N., Endrini, S., & Rahmat, A. (2018). A Review of Malaysian Medicinal Plants with Potential Anti-Inflammatory Activity. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018, 1–13.

Adjadj, M., Boumerfeg, S., Charef, N., Baghiani, A., Khennouf, S., Arrar, L., et Mubarak, M. (2015). Protective effect of *Paronychia argentea L.* on acetic acid induced ulcerative colitis in mice by regulating antioxidant parameters and inflammatory markers. *Der. Pharma. Chemica*, 8:207-218.

Adjadj, M. (2016). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Paronychia argentea L.* Thèse de doctorat en spécialité : Biochimie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 39-86.

Afifi, F.U., Al-Khalidi, B., et Khalil, E. (2005). Studies on the in vivo hypoglycemic activities of two medicinal plants used in the treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine following intranasal administration. *Journal of Ethnopharmacology*. 100, 314-318.

Afsar, A. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274-281

Ahmed KK, M., et Parsuraman, S. (2015). *Urtica dioica L.*, (Urticaceae): A Stinging Nettle. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 5(1), 6–8.

Ait Abdeslam, K et Ait Atmane, S. (2013). Etude comparative de l'extraction assistée par micro-ondes et extraction conventionnelle : Effet sur les antioxydants de *Paronychia argentea*. Mémoire de Master en Pharmacologie Moléculaire. Département de Biologie Physico-chimique, Bejaia.33.

Al-Bakri, A.G., et Afifi, F.U. (2007). Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*, 68(1), 19–25.

Alfarrayeh, I., Tarawneh, K., Almajali, D., et Awaida, W. (2022). Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant properties of the Methanolic extracts of four Medicinal plants selected from Wadi Al-Karak, Jordan related to their Phenolic contents. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 15. 2110-2116.

Al-Shamaa, I., Al-Saleh, J., et Darwish, M. (2020). Determination of Total Phenol Content and Evaluation of Antioxidant Activity of *Paronychia Argentea* L. Spread in the Syrian Coast and Determination of the Chemical Composition of its Essential Oil. *Tishreen Journal*, 42(4), 115-127.

Amroun, D. (2021). Effets anti-inflammatoire, toxicologique et analyse phytochimique des extraits de *Erica arborea*. Thèse de doctorat en spécialité : physiologie animale. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 5-10.

Amzal, H. (2010). Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de Doctorat. Faculté de Biochimie-Pharmacologie. Université Mohammed V Agdal. Maroc.

Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 1-7.

Apak, R., Güçlü, K., Ozyürek, M., et Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970–7981.

Arnnok P. Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S., Chanthai, S., (2012). Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *International Food Research Journal*. 19:235–243.

Aronoff, M. D. et Neilson E. G. (2001). “Antipyretics: Mechanisms of Action and Clinical Use in Fever Suppression,” *The American Journal of Medicine*, 111(4). 304-315.

Asgarpanah, J., et Mohajerani, R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6.

B

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., et Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086–1089.

Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111:1, 61-66.

Bayala, B. (2014). Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des

lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastome. Thèse de doctorat en spécialité : Physiologie et génétique moléculaire. U.R.R. Sciences et Technologies. Université Blaise Pascal. Burkina Faso. 25-27.

Belabbas, M. (2020). Composition chimique et propriétés biologiques des polyphénols de l'ortie (*Urtica dioica L.*). Thèse de doctorat en spécialité : Nutrition et santé. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Algérie.70-84.

Belarbi, Z., Gamby, J., Makhloufi, L., Scotta, B., et Tribollet, B. (2014). Inhibition of Calciumcarbonate precipitation by aqueous extracts of *Paronychia argentea*. *Journal of Crystal Growth*, 386, 208–214.

Benbalia, A., Aggoun, A., et Baalia, B. (2020). Etude de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale : *Moringa oleifera*. Mémoire de Master en biologie spécialité : immunologie appliquée. Université 8 Mai 1945 Guelma. 6-7.

Bensakhria, A. (2019). Chapitre 9: LE STRESS OXYDATIF. In *Toxicologie Générale* (pp. 70–86).

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364–371.

Biesiada, A., Kucharska, A., Sokół-Łętowska, A., et Kuś, A. (2010). Effect of the age of plantation and harvest term on chemical composition and antioxidant activity of stinging nettle (*Urtica dioica L.*). *Ecological chemistry and engineering*, 17(9), 1062-1067.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., et Kalayci, O., (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), pp.9-19.

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9.

Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.

Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., Aziz, M., et Legssyer, A. (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74(7–8), 677–681.

Boizot N., et Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

Bouanani, S., Henchiri, C., Migianu-Griffoni, E., Aouf, N., et Lecouvey, M. (2010). Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 129, 38-45.

Boubekri, N., Belloum, Z., Boukaabache, R., Amrani, A., Kahoul, N., Hamama, W., Zama, D., ... et Benayache, S. (2014). *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of *Genista quadriflora* Munby extracts. *Der Pharmacia Lettre*. 06.

Boudjouref, M. (2019). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*. Thèse de Doctorat en Biochimie. Département de Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 13-23.

Bougandoura N., et Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L) Briq Rev « Nature & Technologie » B-Sciences Agronomiques et Biologiques.

Bouzidi, S., Naima, B., et Zina, A. (2017). *In vitro* antioxidant activity, in vivo antipyretic and anti-inflammatory activities of *Paronychia capitata* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 177.

Braca, A., Bader, A., Siciliano, T., et de Tommasi, N. (2007). Secondary metabolites from *Paronychia argentea*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 46(1), 88–93.

Bsibsi, M., Ravid, R., Gveric, D., et van Noort, J. M. (2002). Broad Expression of Toll-Like Receptors in the Human Central Nervous System. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 61(11), 1013–1021.

Buckley, C.D., Gilroy, D.W., Serhan, C.N., Stockinger, B., et Tak, P.P. (2013). The resolution of inflammation. *Nature reviews. Immunology*, 13(1), 59–66.

Burton, G.J., et Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 25(3), 287–299.

C

Capasso, G. (2003). Phytotherapy: a Quick Reference to Herbal Medicine. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. 84

Celik, I., et Tuluçe, Y. (2007). Elevation protective role of *Camellia sinensis* and *Urtica dioica* infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Phytother Res*. 21 (11): 1039-1044.

Chatterjee, S. (2016). Chapter Two - Oxidative Stress, Inflammation, and Disease. *Oxidative Stress and Biomaterials*, 35-58.

Chaussemier, M., Pourmohtasham, E., Gelus, D., Pécou, N., Perrot, H., Lédion, J., Cheap-Charpentier, H., et Horner, O. (2015). State of art of natural inhibitors of calcium carbonate scaling. A review article. *Desalination*, 356, 47-55.

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., et Zhao, L. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218.

D

Dar, S.A., Ganai, F.A., Yousuf, A.R., Balkhi, M., Bhat, T.M., et Sharma, P. (2012). Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharmaceutical Biology*, 51(2), 170–180.

Das, A. S. (2020). A study on the anti-inflammatory role of ribosomal protein L22 and transcriptional parallels in different inflammatory signalings in macrophages. Thèse de doctorat en spécialité : Molecular Biology and Biotechnology. Tezpur University. Inde. 1-2.

Davies, K. (2001). An Overview of Oxidative Stress. *IUBMB Life*, 50(4), 241–244.

Defraigne, J.O., et Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*, 2008(63), 10-19.

Derradji, L., Saidi, O., et Hade, Y. (2020). Evaluation of the antioxidant activity of the bioactive components in an aqueous extract of *Urtica dioica* L leaves from eastern Algeria. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 12. 235-239. 10.30574/gscbps.2020.12.1.0215.

Dhouibi, R., Affes, H., ben Salem, M., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., et Ksouda, K. (2020). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 150, 67–77.

Diallo, K. (2014). Recensement des plantes anti-inflammatoire de la flore sénégalaise. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar. Sénégal. 3-9.

Djamilatou Z.S., Djibo A.K. Sahabi B. et Seini S.H. (2021). Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes anti-hypertensives du Niger. *European Scientific Journal, ESJ*, 17(17), 335.

Dosso, M., Koffi, A. E., Soro, D., Traore, A., & Diarrassouba, N. (2022). Activités analgésique, antiinflammatoire et antipyrétique d'un extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou

(*Anacardium occidentale L.*). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(5), 1842–1852.

Douaouri, N. (2018). Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum L.*) – Etude *in vivo*. Thèse de Doctorat en spécialité Plantes Médicinales et Phytothérapie. Université Abdelhamid Ibn Badis De Mostaganem. 5-8.

Ducros, V., et Favier, A. (2004). Métabolisme du sélénium. *EMC - Endocrinologie*, 1(1), 19–28.

Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2), 1-7.

E

Ebrahimzadeh, M., Gharekhani, M., Ghorbani, M., & Dargany, P. (2015). Effect of Extract of Aerial Parts of *Urtica dioica* (Urticaceae) on the Stability of Soybean Oil. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(1), 125.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

Febvre-James, M. (2019). Effets régulateurs du ruxolitinib sur l'expression de marqueurs de l'inflammation et de protéines de détoxification des médicaments. Thèse de doctorat en spécialité : sciences pharmaceutiques. L'université de rennes 1. France. 17-19.

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108, 31-37.

Fischer, R., et Maier, O. (2015). Interrelation of Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease: Role of TNF. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 1–18.

Fofié, N., Yao, K., Traoré-Koné, K., Sanogo, R., et Koné-Bamba, D. (2017). Évaluation des activités antioxydante et anti-hyperglycémiantes des feuilles de *Ocimum gratissimum L* (*Lamiaceae*). 2. 19-30.

Fokunang, C.N., Fokunang, E.A., Frederick, K., Ngameni, B., et Ngadjui, B.T. (2018). Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) in resource limited countries.

Frikha, R., et Sefari, R. (2020). Etude in vivo de l'effet des extraits de la plante « *Paronychia argentea* L » sur le syndrome métabolique induit par fructose. Mémoire de Master en spécialité : Biochimie de la nutrition. Université Freres Mentouri. Constantine 1. Algérie. 3.

G

Ganesh, G., Maru, S., et Sarada, N. C. (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi* L. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 5:6, 125-130.

Gangwar, M., Gautam, M. K., Sharma, A. K., Tripathi, Y. B., Goel, R. K., et Nath, G. (2014). Antioxidant capacity and radical scavenging effect of polyphenol rich *Mallotus philippensis* fruit extract on human erythrocytes: an in vitro study. *TheScientificWorldJournal*, 2014, 279451.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., et Amiot, M. J. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370–1373.

Ghalem, M. (2014). Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. Thèse de Doctorat en Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen. 4-7.

Ghasemian, M., Owlia, S., & Owlia, M. B. (2016). Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, 1–11.

Ghauri, M. A., Liaqat, I., Ali, R., Uzma, H., Naveel, A., et Aqeel, J., (2021). In vivo anti-inflammatory, antipyretic, analgesic activity and *in vitro* anti-proliferative activity of aqueous methanolic extract of *Euphorbia granulata* Forssk. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(34).

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapy* 3, 162–169.

Gheffour, K., Boucherit, K., et Boucherit-Otmani, Z. (2015). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288–294.

Gill, R., Tsung, A., et Billiar, T. (2010). Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(9), 1121–1132.

Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. I., Jain, P., et Khan, Z. K. (2019). Potential Role of Flavonoids in Treating Chronic Inflammatory Diseases with a Special Focus on the Anti-Inflammatory Activity of Apigenin. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(2), 35.

Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., Romano, A. (2013). The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products* 43, 465-471.

Grisham, M. (1994). Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *The Lancet*, 344(8926), 859–861.

Grissa, O. (2010). Défenses antioxydantes, inflammation et immunomodulation, au cours du diabète gestationnel, dans les compartiments maternel, fœtal et placentaire. Thèse de Doctorat en Physiologie Cellulaire. Université de Bourgogne. Université de Monastir (Tunisie). France. 57-62.

Gülçin, I. (2011). Antioxidant activity of eugenol: a structure-activity relationship study. *Journal of medicinal food*, 14(9), 975–985.

Gülçin, L., Küfrevioğlu, R., Oktay, M., & Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2–3), 205–215.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2006). Textbook of Medical Physiology. 11th Edition, Elsevier Saunders, Amsterdam.

H

Habibur, R., Eswaraiah, M. C., et Dutta, A. M. (2015). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 15. 115-121.

Habouche, H., et Mimoune, S. (2019). Etude in vitro de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Matricaria pubescens*. Mémoire de Master en biologie spécialité: biochimie appliquée. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. 9.

Hajhashemi, V., Ghannadi, A., et Heidari, A. H. (2012). Anti-inflammatory and wound healing activities of *Aloe littoralis* in rats. *Research in pharmaceutical sciences*, 7(2), 73–78.

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla l.* Et de *l'ormenis mixta l.* (asteraceae). Thèse de Doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie. Université Mohammed V. Maroc. 40-45.

Halliwell, B. (1993). The Chemistry of Free Radicals. *Toxicology and Industrial Health*, 9(1–2), 1–21.

Hamdan I.I., Afifi F.U. (2004). Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 117-121.

Hannoodee, S., et Nasuruddin, DN. (2021). Acute Inflammatory Response. [Updated 2021 Nov 21]. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearl.

Henricks, P. A., et Nijkamp, F. P. (2001). Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 14(6), 409–420.

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., et Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9.

J

Jayanthi, P., et Lalitha, P.R. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3. 126-128.

John, K. K., Shcherazade, O. S. F., Georges, A., Ernest, Z. N., Roger, K. K., Emile, B. K., Mireille, K. T. K., Jean-Jacques, K. K., et Severin, K. (2021). Activité Anti-Inflammatoire Et Études Phytochimiques De L'extrait Aqueux Des Écorces *Distemonanthus Benthamianus* Baill. (Caesalpinaceae : Leguminosae - Caesalpinioideae). *European Scientific Journal ESJ*, 17(7).

Joshi, A. (2017). Antioxidative antidiabetic and anti-inflammatory activity of some medicinal plants. Thèse de doctorat. Devi Ahilya Vishwavidyalaya University. Inde. 15-17.

K

Kang, T. H., Hwang, E. I., Yun, B. S., Shin, C. S., & Kim, S. U. (2008). Chitin synthase 2 inhibitory activity of O-methyl pisiferic acid and 8,20-dihydroxy-9(11),13-abietadien-12-one, isolated from *Chamaecyparis pisifera*. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 31(4), 755–759.

Karthik, K.N., Rathna, B., Kumar, P.S., Venupriya, R., Sunilkumar, K.N., et Singh, R. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729-730.

Keshavarzian, A., Sedghi, S., Kanofsky, J., List, T., Robinson, C., Ibrahim, C., et Winship, D. (1992). Excessive production of reactive oxygen metabolites by inflamed colon: analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology*, 103(1), 177–185.

Khan, R.S., Durrani, F.R., Chand, N., Anwar, H., Naz, S., Farooqi, F.A., & Manzoor, M.N. (2009). Effect of Cannabis sativa fortified feed on muscle growth and visceral organs in broiler chicks. *International Journal of Biology and Biotechnology*, 6, 179-182.

Khansari, N., Shakiba, Y., et Mahmoudi, M. (2009). Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, 3(1), 73–80.

Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375.

Koczka, N., Petersz, D. et Stefanovits-Bányai, É. (2015). Total phenol content and antioxidant capacity (frap) of *Urtica dioica L.* Leaf extracts. *Acta Horticulturae*. 207-210.

Kruidenier, L., et Verspaget, H. W. (2002). Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16(12), 1997–2015.

Kukrić, Z., Topalić-Trivunović, L., Kukavica, B., Matoš, S., Pavičić, S.S., Boroja, M.M., et Savić, A. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica L.*). *Acta Periodica Technologica*, 2012, 257-272.

L

Lagnika L. (2005) Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises, *thèse de doctorat*, Pharmacognosie, Université de Strasbourg 1, France, 86.

Laincer, F., Laribi, R., Tamendjari, A., Arrar, L., Rovellini, P., et Venturini, S. (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, 65(1), 001.

Lauridsen C. (2019). From oxidative stress to inflammation: redox balance and immune system. *Poultry science*, 98(10), 4240–4246.

Lesley J., Susan L., et Laura J. (2003). The Antioxidants-Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids, *Journal of Agromedicine*, 9:1, 65-82.

Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219–224.

Levy, E., Rizwan, Y., Thibault, L., Lepage, G., Brunet, S., Bouthillier, L., et Seidman, E. (2000). Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. *The American journal of clinical nutrition*, 71(3), 807–815.

Lih-Brody, L., Powell, S.R., Collier, K.P., Gautam, M., Reddy, M., Renee, C., Ellen, K. ... et Gerard E.M. (1996). Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Digest Dis Sci* 41, 2078–2086.

M

Maietti, A., Tedeschi, P., Catani, M., Stevanin, C., Pasti, L., Cavazzini, A., et Marchetti, N. (2021). Nutrient Composition and Antioxidant Performances of Bread-Making Products Enriched with Stinging Nettle (*Urtica dioica*) Leaves. *Foods*, 10(5), 938.

Maione, F., Russo, R., Khan, H., & Mascolo, N. (2016). Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*, 30(12), 1343–1352.

Mansoor, S. (2015). Evaluation of Anti-Microbial Anti-Oxidant and Anti Carcinogenic Activities of Certain Medicinal Plants Extracts. Thèse de Doctorat en Microbiology. Département de Microbiology. Integral University. Inde. 35.

Mapp, P. I., Grootveld, M. C., et Blake, D. R. (1995). Hypoxia, oxidative stress and rheumatoid arthritis. *British Medical Bulletin*, 51(2), 419–436

Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. et Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine sciences*, 20(4), 458–463.

McKenzie, S. J., Baker, M. S., Buffinton, G. D., et Doe, W. F. (1996). Evidence of oxidant-induced injury to epithelial cells during inflammatory bowel disease. *The Journal of clinical investigation*, 98(1), 136–141.

Mechraoui, O., Imessaoudene, A., Maiz, M. Y., Banouh, H., Mouni, L., Rebiai, A., Belfar, M. L., Elboughdiri, N., Ghernaout, D., et ben Seghir, B. (2021). In vitro Antiurolithiatic activity of the leaves and flowers extracts of *Paronychia argentea*, a plant used in traditional medicine in Algeria. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 401–411.

Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428.

Mekhahli, I., Djedouani, Z., et Bennasam, M. (2021). Analyse phyto-chimique et évaluation in vitro des activités biologiques des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens*. Mémoires de Master. Départements de Biologie Moléculaire et Cellulaire. Jijel.

Mekhahli, I., Djedouani, Z., et Bennisam, M. (2021). Analyse phyto-chimique et évaluation in vitro des activités biologiques des extraits hydro-éthanolique et aqueux d'*Urtica urens*. Mémoire de master en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université de Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel.43.

Meziti, H. (2018). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora L.* Mémoire de Magister En Biochimie et physiologie expérimentale. Département de Biologie. Université Ferhat Abbas –Setif. 06-26.

Miara, M.D., Ait Hammou, M., Hadjadj-Aoul, S. et Hamerlain, A.S. (2013). Bioclimats, étages de végétation et zonation altitudinale des groupements végétaux dans la région de Tiaret. Rev. Ecol. Env 9.

Mizushima Y. (1964). Inhibition de la dénaturation de protéines par des agents antirhumatiques ou antiphlogistiques. *Arch Int PharmacodynTher*, 149,1-7.

Morelló, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J., et Romero, M. P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (*cv Arbequina*) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85(3), 357-364.

Mukhopadhyay, D., Dasgupta, Sinha, D., Roy, Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S., et Dastidar, S. (2016). A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6. 123-131.

Murphy, H. (2008). Chapitre 2 Inflammation. Rubin, R., & Strayer, D. S. (2008). *Rubin's pathology: Clinicopathologic foundations of medicine*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.

Murugesan, D., et Deviponnuswamy, R. (2014). Potential anti-inflammatory medicinal plants - A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 43-49.

N

Nagarajan, J., Ramanan, R. N., Raghunandan, M. E., Galanakis, C. M., et Galanakis, C. M. (2017). Chapter 8 - Carotenoids. In N. P. Krishnamurthy (Ed.), *Nutraceutical and Functional Food Components* (2nd ed., pp. 259–296). *Academic Press*.

Nardi G.M., Farias Januario, Freire A.G., Megiolaro C.G., Schneider F., Perazzoli K., Do Nascimento M.R., Gon S.R., Mariano A.C., Wagner L.N., Niero G., et Locatelli R., (2016). Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. *Pharmacogn. Res.8 (suppl 1)*, 42-49.

Nonkululeko, B. (2017). Anti-inflammatory, anti-oxidant and wound-healing properties of selected South Africa medicinal plants. Mémoire de Master science appliqué. Durban University of Technology, Durban, South Africa. 8-11.

O

Ochieng, C., Ishola, I., Opiyo, S., Manguro, L., Owuor, P., et Wong, K. C. (2012). Phytoecdysteroids from the Stem Bark of *Vitex doniana* and Their Anti-Inflammatory Effects. *Planta Medica*, 79(01), 52–59.

Okombe Embeya, V., et Nzuzi Mavungu, G. (2019). Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium sativum* L.). *Journal of Applied Biosciences* 141: 14419 – 14425.

Okombe Embeya, V., et Nzuzi Mavungu, G. (2020). Evaluation de l'activité antipyrétique, analgésique et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Vitex congolensis* De Wild. & T. Durand. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(7), 3066–3078.

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

Ospelt, C., et Gay, S. (2010). TLRs and chronic inflammation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(4), 495–505.

Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., Dijoux, M. G., et Guissou, I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Sözgen Başkan, K., Erçağ, E., Karademir Çelik, S., Baki, S. ..., et Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*. 3.

P

Pahwa, R., Goyal, A., et Jialal, I. (2021). Chronic Inflammation. [Updated 2021 Sep 28]. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls.

Pasdeloup Grenez, E. (2019). Phytothérapie - exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Lille. France. 19-20.

Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française Des Laboratoires*, 1995(276), 87–92.

Paulauskienė, A., Tarasevičienė, I., et Laukagalis, V. (2021). Influence of Harvesting Time on the Chemical Composition of Wild Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.). *Plants*, 10(4), 686.

Pawar, R. S. (2016). Study of oxidative stress antioxidant status and protease antiprotease imbalance in chronic obstructive pulmonary disease COPD patients. Thèse de Doctorat. Maharashtra University of Health Sciences. Inde. 189.

Punchard, N.A., Whelan, C.J., et Adcock, I. (2004). The Journal of Inflammation. *J Inflamm*, 1(1).

R

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., et Dhama, K. (2014). Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International*, 2014, 1–19.

Rahmani, S., Belboukhari, N., Sekkoum, K., et Cheriti, A. (2016). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (plumbaginacea). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*.6:1, 80-86.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., et Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

Reimund, J. M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 275–284.

Remmelt, V. D. W. (2013). Evaluation du pouvoir anti-oxydant des aliments : recherche de leurs effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète. Thèse de Doctorat en Chimie/Chimie analytique. Université de Strasbourg. France. 23-24.

Ribèreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod*. 5-217

Rolta, R., Kumar, V., Sourirajan, A., Upadhyay, N., et Dev, K. (2020). Phytocompounds of three medicinal plants (*Juniperus communis*, *Urtica dioica* and *Coleus forskohlii*) of North West

Himalayas increases the potency of antibacterial and antifungal antibiotics. *Plant Archives*. 481-489.

Ryan, G. B., et Majno, G. (1977). Acute inflammation. A review. *The American journal of pathology*, 86(1), 183–276.

S

Safari, V.Z., Ngugi, M., Orinda, G., Njagi, E. (2016). Anti-pyretic, Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Aqueous Leaf Extract of *Urtica Dioica* (L.) in Albino Mice. *Medicinal & Aromatic Plants*. 5(2). 1-7.

Sait, S., Hamri-Zeghichi, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Rigou, P., Brighenti, V., Pio Prencipe, F., Benvenuti, S., et Pellati, F. (2015). HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 111, 231–240.

Salzano, S., Checconi, P., Hanschmann, E. M., Lillig, C. H., Bowler, L. D., Chan, P., Vaudry, D., ... et Ghezzi, P. (2014). Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(33), 12157–12162.

Sangeetha G, Rajeshwari S, et Venckatesh R (2011). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: structure and optical properties. *Mater Res Bull* 46(12):2560–2566.

Sawadogo, R., Lompo, M., Somé, N., Guissou, P., et Nacoulma-Ouedraogo, G. (2011). Anti-Inflammatory, Analgesic and Antipyretic Effects of *Lepidagathis Anobrya Nees* (Acanthaceae). *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines*. 8. 420-4.

Sene, M., Ndiaye, M., Barboza, F. S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., Ndiaye-Sy, A., Dieye, A. M., et Sy, G. Y. (2016). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (ARECACEAE) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(6), 2568.

Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291–295.

Simmonds, N. J., Allen, R. E., Stevens, T. R., Van Someren, R. N., Blake, D. R., et Rampton, D. S. (1992). Chemiluminescence assay of mucosal reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 103(1), 186–196.

Singleton V.L., et Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16: 3, 144-158.

Soomro, S. (2019). Oxidative Stress and Inflammation. *Open Journal of Immunology*, 09(01), 1–20.

Stanojević, L. P., Stanković, M. Z., Cvetković, D. J., Cakić, M. D., Ilić, D. P., Nikolić, V. D., et Stanojević, J. S. (2016). The effect of extraction techniques on yield, extraction kinetics, and antioxidant activity of aqueous-methanolic extracts from nettle (*Urtica dioica* L.) leaves. *Separation Science and Technology*, 51(11), 1817–1829.

Subedi, L., Timalseña, S., Duwadi, P., Thapa, R., Paudel, A., et Parajuli, K. (2014). Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(5), 584–590.

Szydlowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., et Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905.

T

Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., Shaheen, S., Azmi, L. ... et Cho, W. C. (2022). *Urtica dioica*-Derived Phytochemicals for Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1–30.

Tawaha, K., Alali, F., Al-Gharaibeh, M., Mohammad, M., et El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*. 104. 1372-1378.

V

Vadivu, R., & Lakshmi, K. S. (2008). In vitro and in vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssp Laurina. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 3(2), 121-124.

Vaziri N. D. (2008). Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. *Iranian journal of kidney diseases*, 2(1), 1–10.

Veeraraghavan, V. P., Hussain, S., Balakrishna, J. P., et Krishna Mohan, S. (2020). Paronychia argentea: A Critical Comprehensive Review on its Diverse Medicinal Potential and Future as Therapeutics. *Pharmacognosy Journal*, 12(5), 1172–1179.

Voiriot, G., Chalumeau, M., Messika, J., Basille, D., Philippe, B., Ricard, J. D., Andrejak, C., Jounieaux, V., Sanchez, O., et Fartoukh, M. (2018). Risques associés à la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens au cours de la pneumonie. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 35(4), 430–440.

W

Wagner, H., Willer, F., Samtleben, R., et Boos, G. (1994). Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 1(3), 213–224.

Willcox, J. K., Ash, S. L., et Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4), 275–295.

Wolf F., Gulbin, K., et Mielke, F. (2001). Aktivierte Arthrose: BrennesselblätterExtrakt mit Leitsubstanz HOTrE (STRAT 59) hummt tumor-Nekrose-Faktor- α . *Kassenarzt*; 16:42–7

Wolf, F. (1998). Gonarthrose: Brennesselblätter-Extrakt IDS 23 in der Langzeitanwendung. *Kassenarzt* 44: 52–54

X

Xiao, C., et Ghosh, S. (2005). NF- κ B, an Evolutionarily Conserved Mediator of Immune and Inflammatory Responses. *Advances in experimental medicine and biology*. 560. 41-5.

Y

Yefrida, Suyani, H., Alif, A., Efdi, M., et Hermansyah, A. (2018). Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 22. 28-35.

Z

Zama, D., Meraihi, Z., Tebibel, S., Benayssa, W., Benayache, F., Benayache, S., et Vlietinck, A.J. (2007). Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and foetus in pregnant rats: the protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 39(3), 145.

Zeghal K.M., et Sahnoun Z. (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes. « Médecines D'Asie — Savoirs & Pratiques », vol 2. Springer, Paris.

Zerbato, M. (2010). Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1 2009. 8.

Zhang, H., et Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33–42.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : ASSILA Ibtissem
CHOUGUI Lamis
ROUAA Meriem Amira

TITRE : Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* L

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques, option : Toxicologie

RESUME

Le présent travail a pour but d'étudier les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits aqueux et hydro-méthanoliques des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica*.

Dans un premier temps, notre étude a montré que les deux plantes sont riches en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs légèrement plus importantes pour les deux extraits hydro-méthanoliques. Ce résultat représente un bon indice du potentiel thérapeutique des extraits, car beaucoup d'activités biologiques sont intimement liées à l'aspect quantitatif mais aussi qualitatif de ces biomolécules.

La deuxième étape consiste en l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*. L'activité antioxydante a été déterminée par cinq tests : DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et le test Phénantroline. Cette étude a montré que les extraits aqueux et hydro-méthanolique de *Paronychia argentea* et l'extrait hydro-méthanolique d'*Urtica dioica* possèdent un excellent pouvoir antioxydant par rapport à l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* dans la plupart des tests. Ces résultats sont peut-être attribués à la qualité des composés phénoliques et de flavonoïdes dans ces extraits. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* possède une excellente capacité de protéger la BSA contre la dénaturation thermique ($IC_{50} = 318,06 \pm 13,78 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. De même, l'analyse de la protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique a montré que l'efficacité des extraits aqueux et hydrométhanolique d'*Urtica dioica* est supérieure à celle des deux extraits de *Paronychia argentea* ($80,57 \pm 1,46\%$ et $79,53 \pm 2,99\%$, contre $56,66 \pm 0,40\%$ et $33,17 \pm 3,90\%$ respectivement).

Dans la dernière étape, l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* a révélé que les extraits aqueux et hydro-méthanoliques des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* ont réduit l'oedème de la patte droite des rats induit par le formol 1% et les contractions abdominales produites par l'injection de l'acide acétique 0,6% chez la souris. L'hyperthermie chez la souris induite par la levure de bière 20% a été réduite par les deux plantes, cet effet reste cependant plus marqué pour l'extrait hydro-méthanolique de *Paronychia argentea*.

Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que les deux plantes présentent de très bonnes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui méritent plus d'intérêt de la part des secteurs du pharmaceutique, du parapharmaceutique, ainsi que celui de l'agroalimentaire. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Mots-clés : *Paronychia argentea*, *Urtica dioica* L, Anti-inflammatoire, Antioxydant, Antipyrétique et Analgésique.

Laboratoires de recherche :

- Laboratoire de Génie Microbiologique et Applications (Université Frères Mentouri, Constantine 1).
- Laboratoire de Biologie et d'Environnement (Université Frères Mentouri, Constantine 1).
- Centre de Recherche en Biotechnologie (Constantine)

Président : ZAMA Djamila Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : BOULDJADJ Redouane MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Examineur : BEKHOUCHE Khadidja MCB- Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques.