



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 قسنطينة الاخوة منتوري 1

Université Frère Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature
Et de la Vie
Département de biochimie et
biologie cellulaire et moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيوكيمياء والبيولوجيا الخلوية و
الجزينية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation De l'Activité Antioxydante et Anti-inflammatoire d'une espèce du Genre " *LINUM* "

Présenté par : M^{lle} Mimoune Romaissa

Le 21/06/2023

M^{lle} Ziadi Lamis

Jury d'évaluation :

Président du juré : Mr BOUANIMBA Nour (MCA-Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mr KITOUNI Rachid (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr BEZZI Tarek (MRB – Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine).

Année universitaire
2022 – 2023

Remerciement

Au nom d'Allah, le Miséricordieux, le clément,

Louange à Allah, le seigneur de l'Univers, et que Ses bénédictions et Sa paix soient sur notre bien-aimé Prophète Muhammad.

En ce jour béni de notre soutenance de mémoire, nous souhaitons à exprimer nos gratitude envers Allah, qui nous accordé la force, la persévérance et la sagesse nécessaire pour accomplir ce parcours académique. Nous remercions humblement infinie qui nous soutenue tout au long de cette aventure intellectuelle.

Nous souhaitons également exprimer notre profonde gratitude envers notre encadrant, Monsieur **Kitouni Rachid**, qui a été un guide bienveillant, un mentor dévoué et une source inestimable de savoir. Votre expertise, votre patience et votre soutien sans faille ont été essentiels dans la réalisation de ce travail de recherche. Nous lui remercions très chaleureusement de nous avoir confié ce sujet, de nous avoir fait confiance, d'avoir été soutenu. Merci.

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe de Laboratoire d'obtention des substances organiques **LOST** et plus précisément au professeur **Kaabouche Zahia**.

Nos sincères, vifs et chaleureux remerciements sont adressés au Monsieur **Bahri Laid** pour vos conseils et vos remarques pertinentes que vous n'avez jamais hésité à nous donner avec un grand cœur généreux. Vous méritez tout notre profond respect et toute nos reconnaissances, monsieur.

Nous remercions également tout le personnel rencontré au niveau du laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie **CRBT** pour leur accueil, leur précieux conseils, leur gentillesse et leur disponibilité.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers Monsieur **Bouldjadj Redouane** pour sa précieuse contribution, son soutien inestimable et sa disponibilité exceptionnelle pour la réalisation de ce mémoire.

Nous souhaitons remercier le président du jury monsieur **Bouanimba Nour**, ainsi que l'examineur monsieur **Bezzi Tarek**, pour l'évaluation de notre travail.

Et nous tenons à exprimer notre gratitude à tous ceux qui nous ont transmis des informations, voire même un mot gentil, pendant cette période.

Qu'Allah bénisse chacun d'entre vous et accorde le succès à tous ceux qui cherchent à acquérir le savoir dans le chemin de la vérité et du bien. Que cette soutenance de mémoire soit le commencement d'une vie vouée à l'apprentissage continu à la contribution à la société et à l'élévation des âmes.

Amine.

Dédicaces

وَأخِرُ دَعْوَانَا أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

الحمدُ لله الذي ما كان اشتدَّ لنا ساعد ولا أُصيبَ لنا رمي لولا أن رمى (وما رميت إذ رميت ولكن الله رمى)

الحمد لله على نعمة التوفيق والسداد

هذا فرح في كف رجلٍ لطالما امتزج جلدُها بعرق جَدِّ وتعب كثير؛ هذا فرح في كف امرأة طالما رَفَعَتْهَا أَنَاءَ

الليل ومطلع الفجر؛ لكفيهما هذا اللحم حقيقة تتدفق بين أصابعهما

ولعينيهما ما يلقي الناجحُ من العنا؛ بل لعينيهما كل نجاح؛ بل لعينيهما أنا

لعيون والدي وعيون والدي أهدى هذا الفرح

بهن اشتد الأزرُ والعضدُ؛ بنات ألبُب تفضنَ بالفرح ابتهاجا؛ الفرخُ في قلبي والبسمةُ في وجههن؛ هن مُفاسماتُ

الفرح والتعب؛ هن أخواتي شريكاتُ فرحتي بدرة؛ فطيمة؛ يسرى؛ منال؛ سهيلة.

هي اللطف الناعمُ المُداعبُ لقساوة السهر؛ تمرُّ على أوراقِ كفراشات صافات ثم تقبض وتغفو على عُصن

ياسمين؛ هو أول المطر الذي يأتي ليُذهب الرمض بعد قُنطة؛ هو أنيس المنزل والعمر هو ضحكة القلب؛ هُم فلقَةُ

القمر وسُكر البيت؛ رفيف؛ غيث؛ أنس لضحكاتهم أهدى فرحي.

يا صاحبي الدرب؛ إني أراك تعصرُ شُرَيانا تسري أزا هيحُ الفرح فيه دما؛ إني أراك تحملُ حلما تأكل أطيأرُ

عيوننا منه؛ طالما اشتهينا هذا اللحم؛ طالما تضررت عيوننا جوعًا لالتهامه. يا صاحبي الدرب؛ هذا صدءُ

المتاعب قد انجلى؛ هذه ظُلمة ليلٍ _ حسبناه يطولُ _ قد تشققت سماؤه وتسللت شمس من بين الثغور.

يا صاحبي الدرب؛ ما كان استقام لي اعوجاج إلا بك؛ وما كان نُشر لي طي إلا بوجودك قُربي؛ أقاسمك يا

لميس _ مثلما

قاسمتُك الخطوات والضحكات والكبوات والعقبات _ أقاسمك هذه الفرحة.



Romaissa Mimoune

Dédicaces

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات والحمد لله حتى يبلغ الحمد منتهاه اهدي هذا النجاح الى كل من أحبهم في الله ويتوق القلب ليخاطب من شذى بذكرهما اللسان وقال فيهما الرحمن «وقضى ربك الا
"تعبد الا إياه وبالوالدين احسانا

" " الى اوفى خلق الله واحبهم الى قلبي تمنيت لو حضر ولكن

فإلى روحه وذكراه التي تسكن ذاكرتي الى الابد

رحمك الله يا ابي

الى شمعة احترقت لتثير لي طريق حياتي امي الحبيبة، الى تاج فخر طالما حملته على راسي

الى رفيق الدرب وصديق الأيام من كان وما زال سندي بكل تصميم ودعم تقي الدين

الى من عشت معها أجمل ايامي وكانت اسعد الناس بنجاحي اختي هاجر

الى مصدر البسمة والفرح سجود وفراس

الى رفيقة المشوار التي قاسمتني لحظاته رميسة فما قد حققنا ما كان بالأمس حلما

الى كل من دعموني ولو بكلمة مشجعة وتبقى قائمتي هذه مفتوحة لا تسعني هذه الورقة ولا
حتى الكلمات

Lamis Ziadi 

Résumé

Le travail présent vise à étudier les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, enzymatiques et la toxicité des extraits d'une espèce du genre *Linum* obtenus à partir d'extractions avec des solvants de différentes polarités.

L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de différentes méthodes, le DPPH, l'ABTS, le FRAP, la Phénanthroline et le SNP, a montré que les extraits d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol présentaient une excellente capacité à neutraliser les radicaux libres DPPH et ABTS, avec des pourcentages d'inhibition IC_{50} respectifs de ($12,08 \pm 0,76 \mu\text{g/mL}$, $8,39 \pm 5,93 \mu\text{g/mL}$) et ($13,69 \pm 2,21 \mu\text{g/mL}$, $6,45 \pm 1,69 \mu\text{g/mL}$) ainsi qu'une bonne activité de réduction du fer ferrique en fer ferreux. En revanche, les tests de Phénanthroline et de SNP ont montré des effets faibles et négligeables. Les extraits d'éther et de chloroforme, quant à eux, ont présenté les valeurs les plus basses par rapport aux autres extraits, avec une bonne activité oxydante pour neutraliser les radicaux DPPH et ABTS, ainsi que le FRAP, mais une faible activité pour la Phénanthroline et le SNP.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *n*-butanol a révélé une faible activité pour protéger la protéine BSA, avec un IC_{50} de $2,09 \pm 0,49 \mu\text{g/mL}$. L'extrait de *n*-butanol a également montré une bonne activité anti-hémolytique vis-à-vis des globules rouges, avec une valeur de protection remarquablement élevée de 64,395% pour la première concentration élevée de 14,4 mg/mL.

En ce qui concerne l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase, nos quatre extraits ont montré une faible activité enzymatique.

Enfin, le test de toxicité sur les larves de *Tenebrio molitor* suggère que l'extrait de *n*-butanol ne présente aucune toxicité, tandis que les autres extraits testés, à savoir l'acétate d'éthyle, l'éther et le chloroforme, présentent une toxicité significative, mais seulement à des concentrations élevées.

Mots clés : antioxydante, anti-inflammatoire, activité enzymatique, toxicité, *Linum*.

Abstract

The present work aims to study the antioxidant, anti-inflammatory, enzymatic activities, and toxicity of extracts from a *Linum* species obtained through extractions with solvents of different polarities.

The evaluation of antioxidant activity using various methods such as DPPH, ABTS, FRAP, Phenanthroline, and SNP showed that the extracts of ethyl acetate and *n*-butanol exhibited excellent capacity to neutralize DPPH and ABTS free radicals, with respective IC₅₀ inhibition percentages of (12.08±0.76 µg/mL, 8.39±5.93 µg/mL) and (13.69±2.21 µg/mL, 6.45±1.69 µg/mL), as well as a good activity in reducing ferric iron to ferrous iron. However, Phenanthroline and SNP tests showed weak and negligible effects. On the other hand, ether and chloroform extracts presented the lowest values compared to other extracts, demonstrating good oxidative activity in neutralizing DPPH and ABTS radicals, as well as FRAP, but weak activity in Phenanthroline and SNP.

The evaluation of the anti-inflammatory activity of *n*-butanol extract revealed low activity in protecting BSA protein, with an IC₅₀ of 2.09±0.49 µg/mL. The *n*-butanol extract also exhibited a significant anti-hemolytic activity against red blood cells, with a remarkably high protective value of 64.395% for the first high concentration of 14.4 mg/mL.

Regarding the inhibitory activity of alpha-amylase enzyme, all four extracts showed weak enzymatic activity.

Finally, the toxicity test on *Tenebrio molitor* larvae suggests that the *n*-butanol extract has no toxicity, while the other tested extracts, namely ethyl acetate, ether, and chloroform, exhibit significant toxicity, but only at high concentrations.

Keys words: antioxidant activity, anti-inflammatory activity, enzymatic activity, toxicity, *Linum*.

ملخص

العمل الحالي يهدف إلى دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة، المضادة للالتهابات، الإنزيمية، وسمية المستخلصات لنوع من جنس *Linum*، المستخلصة باستخدام مذيبات ذات قطبيات مختلفة.

أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام أساليب مختلفة مثل DPPH, FRAP, ABTS و Phénanthroline و SNP أن مستخلصات acétate d'éthyle و n-butanol تمتلك قدرة ممتازة في تثبيط الجذور الحرة DPPH و ABTS، بنسب IC_{50} للتثبيط تبلغ على التوالي ($12.08 \pm 0.76 \mu\text{g/mL}$ و $8.39 \pm 5.39 \mu\text{g/mL}$) و ($13.69 \pm 2.21 \mu\text{g/mL}$ و $6.45 \pm 1.69 \mu\text{g/mL}$). وكذلك نشاطاً جيداً في إرجاع الحديد الحديدي Fe^{3+} إلى حديدي ثنائي Fe^{2+} ، من ناحية أخرى أظهرت اختبارات Phénanthroline و SNP تأثيرات ضعيفة ولا يُمكن تجاهلها. بالمقابل، أظهرت مستخلصات ether و chloroforme القيم الأدنى مقارنة بالمستخلصات الأخرى، حيث تمتلك نشاطاً أكسدة جيد في تثبيط الجذور DPPH و ABTS، وكذلك FRAP، ولكن نشاطاً ضعيفاً في Phénanthroline و SNP.

كشفت تقييم النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص n-butanol عن نشاط منخفض لحماية بروتين BSA. مع IC_{50} تساوي $(2,09 \pm 0,49 \mu\text{g/mL})$. أظهر مستخلص n-butanol أيضاً نشاطاً جيداً مضاداً ضد انحلال خلايا الدم الحمراء، مع قيمة عالية بشكل ملحوظ تبلغ % 64,395 لأول تركيز مرتفع يبلغ $14,4 \text{ mg/mL}$.

فيما يتعلق بالنشاط المثبط لأنزيم alpha-amylase أظهرت مستخلصاتنا الأربعة نشاطاً منخفضاً للأنزيم.

أخيراً، يشير اختبار سمية اليرقات *Tenebrio molitor* إلى أن مستخلص n-butanol ليس ساماً، في حين أن المستخلصات الأخرى التي تم اختبارها، و هي acétate d'éthyle و chloroforme و ether سامة بشكل كبير ولكن فقط بتركيزات عالية.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة، مضاد الالتهابات، نشاط إنزيمي، سمية، *Linum*.

Liste d'abréviation

A

ATP : Adénosine-Triphosphate.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AP-1 : protéine activatrice-1.

AGEs : les produits fins de glycation des protéines.

AD: Alzheimer Disease.

ABTS: 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate).

B

BHA: Butylhydroxyanisole.

BHT: Butylhydroxytoluène.

B-caténine/W nt.

BH-4 : tétrahydrobioptérine.

C

CAT : Catalase.

Cu : Cuivre.

Cu¹⁺ : Ion Cuivre I.

Co²⁺: Ion cobalt.

Cr V: Chromium-vanadium.

CL⁻ : Chlore.

COV : Composées organiques volatils.

CAM : molécules d'adhésion cellulaire.

°C: le degré Celsius.

D

DPPH: 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl.

E

ERN: Espèce reactive d'azote.

ERO: Espèce réactive d'oxygène.

É : Electron.

EC : Enzyme commission.

EGF : facteur de croissance épidermique.

EGFR : dérivés de facteur de croissance épidermique.

F

Fe²⁺ : Ion ferreux.

Fe³⁺ : Ion ferrique.

FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma.

G

GPx : Glutathion peroxydase.

GST : Glutathion-s-transférase.

G : gramme.

H

¹H : Hydrogène.

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

HNE: hedroxynonenal.

I

IKB: inhibiteur de kappa B.

IKK: IkappaB kinase.

IL-16 : interleukine 16.

IL-18 : interleukine 18.

IL-6 : interleukine 6.

iNOS : oxyde nitrique inductible.

NOX : NADPH Oxidase.

IC50 : concentration inhibitrice médiane.

J

JAK: Janus kinase.

JNK: jun-N-terminal kinase.

Jrs : jours.

K

Kcal: Kilocalorie.

KDa: Kilodalton.

L

LDL: Low-Density lipoprotein.

LCR : céphalo-rachidien.

M

Mn : Manganèse.

Mt NOS : NO synthase. Mitochondriale.

MAPK: Mitogen-activated protein kinases.

MCP1/2 : protéines chimiotactiques 1 et 2.

MIF : facteur d'inhibition de la migration des macrophages.

MMP : métalloprotéinases matricielles.

MPO : myéloperoxydase.

MEC : matrice extracellulaire.

MCI : **Mild** cognitive impairment (des troubles de la mémoire).

mM : milimolaire.

M : masse.

Min : minute.

N

NO : Oxyde nitrique.

NOX : Oxyde d'azote.

NOS : NO synthase.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NF-KB : le facteur nucléaire kappa B.

NF-KT : le facteur nucléaire kappa T.

Nr f-2: Nuclear factor like 2.

NLRP3: NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3.

Nm : nanomètre.

O

OG : Octyl gallate.

P

PG : Peroxyle gallate.

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

PMN : les polymorphonucléaires.

PDGF : récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes.

PTK: Protéine tyrosine kinase.

Pi3K: Phosphoinositide 3-kinase.

PTP: Protéine tyrosine phosphatase.

PTP-1B: Protéine-tyrosine phosphatase 1B.

PAMPs: Pathogen-associated molecular pattern.

PKc: Protéine kinase C.

PCAD: Phosphatidylcholine Alzheimer disease.

pH: potential hydrogène.

PBS: phosphate-Buffered saline.

R

REDOX: Reaction oxidoreductase.

ROS: reactive oxygen species.

RTK : récepteur tyrosine kinase.

RAGE : Récepteur aux produits de glycation avancée.

R: Rendement.

S

S: Second.

SOD : Superoxide dismutase.

SAT : Statu antioxydant.

SH : Sullhydride.

Se-OH : Sélénoles.

Src : Famille tyrosine kinase.

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise.

SGC : guanylate cyclase soluble.

SP : Plaques séniles.

SNP : Silver nanoparticles assay.

T

TBHQ : Tert-butylhydroquinone.

TBP : Trihydroxybutyrophenone.

Ti³⁺: Titanium.

TLR: récepteur Toll-like.

TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha.

TGF β : facteur de croissance transformant bêta.

TCA : Tris-cloro-acide acétique.

U

UV : Ultraviolet.

V

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

VEGF : facteur croissance endothélial vasculaire.

VSMC: Vascular smooth muscle cells.

Z

Zn : Z

% : Pourcentage.

μL : microlitre.

Liste Des figures

Figure 1: Illustration du déséquilibre entre oxydantes et antioxydantes chez l'humain,	7
Figure 2 Adaptations évolutives à l'apparition d'O ₂	7
Figure 3 Intermédiaires réduits de l'oxygène (les quatre étapes de réduction mon- électronique de l'oxygène	10
Figure 4 : Principales réactions faisant intervenir des ERO.	11
Figure 5 : Chemin représente la relation entre le stress oxydant et nitrosant.	14
Tableau 2 : Le récapitulatif des sources de radicaux libres.	15
Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés/azotés et espèces réactives dans les processus biologiques.	17
Figure 7 : La structure d'acide urique, de la glutathion et de la bimirubine	19
Figure 8 : La structure d'acide ascorbique et d'alpha-tocophérol	21
Figure 9 : Les différentes classes de Flavonoïde	21
Figure 10 : Interrelation entre les ERO, le stress oxydatif, l'inflammation, la physiologie et la pathologie cellulaires.	36
Figure 10 : Voies de signalisation MAPK induites par les ROS	40
Figure 11 : Modèle proposé de l'activation des TLR par les DAMPs dans les lésions d'éshémie/reperfusion.	41
Figure 12 : Espèces radicalaires libres générées lors de l'inflammation	42
Figure 13 : Vue d'ensemble de l'interdépendance entre le stress oxydatif et l'inflammation. (Lorsque le stress oxydatif apparaît comme un trouble primaire, l'inflammation se développe comme un trouble secondaire et amplifie davantage le stress oxydatif. D'un autre côté, l'inflammation en tant que trouble primaire peut induire le stress oxydatif comme un trouble secondaire qui peut à son tour amplifier l'inflammation).	43
Figure 14 : Les principales espèces réactives de l'oxygène (ERO), leurs interaction et conséquences biologiques.	45
Figure 15 : Interaction oxyde nitrique-superoxyde dans la pathogenèse de l'athérosclérose. ...	45
Figure 16 : La néphropathie diabétique.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17 : Catabolisme du glucose et de la synthèse de l'ATP et de leur dysfonctionnement oxydatif dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer (AD) et du trouble cognitif léger amnésique.	48
Figure 18 : Fleurs et gaines de Lin.	52

Figure 19 : Récapitulatif d'extraction solide-liquide, liquide-liquide de la plante étudiée.	59
Figure 20 : Réduction de DPPH par un antioxydant (Hatano et al., 1988).....	61
Figure 21 : Formation et réduction du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	63
Figure 22 : Mécanisme réactionnel du test FRAP.	65
Figure 23 : Formation du complexe Fe ⁺² phénanthroline	67
Figure 24 : Réaction de SNP avec Trisodium de citrate.....	68
Figure 25 : Les stades de développement du <i>Tenebrio molitor</i>	75
Figure 26 : Résultats de rendements des extraits. E : éther, C : chloroforme, A : acétate d'éthyle, B : n-butanol.	78
Figure 27 : Résultats du test DPPH sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).	80
Figure 28 : Analyse comparative des pourcentages d'inhibition entre les antioxydants de référence et les extraits testés vis-à-vis du radical DPPH [•] (moyenne écart.type de trois essais).	80
Figure 29 : Histogramme montre les valeurs d'IC50 des extraits et des standards du test DPPH.	81
Figure 30 : Résultats du test ABTS sur microplaques. (Trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).	83
Figure 31 : Analyse comparative des pourcentages d'inhibition entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical ABTS ^{•+} (moyenne écart.type de trois essais).	84
Figure 32 : Histogramme montre les valeurs d'IC50 des extraits et des standards du test ABTS.	85
Figure 33 : Résultat du test FRAP sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).	87
Figure 34 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical FRAP (moyenne écart.type de trois essais).	87
Figure 35 : Histogramme montre les A0,5 des extraits et des standards du test FRAP.	88
Figure 36 : Résultat du test Phénanthroline sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).	90
Figure 37 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du phénanthroline (moyenne écart.type de trois essais).	90

Figure 38 : Histogramme montre les A0,5 des extraits et des standards du test Phenanthroline.	91
Figure 39 : Résultat du test SNP sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).	92
Figure 40 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical SNP (moyenne écart.type de trois essais).	93
Figure 41 : Histogramme montre les A0,5 des extraits et des standards du test SNP.	94
Figure 42 : Analyse comparative des pourcentages d'inhibition entre l'anti.inflammatoire de référence et l'extrait testé (moyen écart.type de trois essais)	96
Figure 43 : Histogramme montre les valeurs d'IC50 d'un anti.inflammatoire de référence et d'extrait testé.	98
Figure 44 : Histogramme montre les pourcentages d'hémolyse des hématies des différents concentrations de références utilisées : diclofénac et acide gallique.	99
Figure 45 : Histogramme montre les pourcentages d'hémolyse d'extrait n-butanolique testé.	99
Figure 46 : Histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des concentrations de l'extrait testé et l'acide gallique.	101
Figure 47 : Résultats du test alpha-amylase sur microplaque (Trois essais avec un blanc pour chaque extrait E, C, A, B respectivement)	102
Figure 48 : Histogramme montre l'IC50 de standard utilisé et les quatre extraits testés.	103
Figure 49 : Effets des extraits de la plante étudiée sur les larves injectées par différentes concentrations.	106
Figure 50 : Histogramme des pourcentages de mortalité, de survie et de développement des extraits et des standards lors du test de toxicité sur les vers de farines <i>Tenebrio molitor</i>	106

Liste du tableau

Tableau 1 : Le récapitulatif des espèces réactives d'oxygène et d'azote radicalaires et non radicalaires	13
Tableau 2 :Le récapitulatif des sources de radicaux libres.	15
Tableau 3 : Récapitulatifs des effets des radicaux libres sur les cellules et de leurs cibles biologiques.	16
Tableau 4 : Les divers maladies liées où stress oxydatif.....	22
Tableau 5 :Médiateur pro-inflammatoire.	31
Tableau 6 :Médiateur anti-inflammatoire.	31
Tableau 7 :Présentation du linum.	50
Tableau 8 :Présentation de quelques espèces de genre linum.....	53
Tableau 9 : Les solvants utilisés dans la macération et leurs propriétés physiques.	56
Tableau 10 : Les solvants des différentes polarités utilisés dans l'extraction liquide-liquide et leurs propriétés physiques.	57
Tableau 11 : Rendement et caractéristiques des extraits de la plante. (Sachant que E : éther, C : chloroforme, A : acétate d'éthyle, B : n-butanol).	57
Tableau 12 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des extraits testés et des standards utilisés du test DPPH.	80
Tableau 13 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des extraits testés et des standards utilisés.	84
Tableau 14 : Récapitulatif des résultats d'absorbances et des A0,5 des extraits testés et des standards utilisés.	87
Tableau 15 : Récapitulatif des résultats d'absorbances et des A0,5 des extraits testés et des standards utilisés.	90
Tableau 16 : Récapitulatif des résultats d'absorbances et des A0,5 des extraits testés et des standards utilisés.	93
Tableau : Récapitulatif des résultats IC50 des cinq tests antioxydants.	95
Tableau 17 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition d'extrait testé et le standard utilisé.	97
Tableau 18 : Les résultats des valeurs IC50 pour l'extrait aqueux et hydroalcoolique de plante linum usitatissimum L.	98
Tableau 19 : Récapitulatif des pourcentages de protection de l'extrait testé et le standard utilisé.	100

Tableaux 20: Récapitulatif des résultats d'absorbances et des A0,5 des extraits testés et des standards utilisés.	103
Tableau 21: Evaluation du pourcentage de mortalité, de survie, de développement des larves de Ténébrions Molitor après l'injection des quatre extraits.	104

Table des matières

Liste d'abréviation	
liste des tableaux	
liste des figures	
<i>INTRODUCTION</i>	2

Chapitre1 : Etude bibliographique

Section 1 : Stress oxydatif

1. Le stress oxydatif	6
1.1 Définition	6
1.2 Origine	7
2. Les Ero/Ern Et Les Radicaux Libres : Leurs Rôles En Biologie	8
2.1 Les radicaux libres	8
2.2 Les diverses variantes des espèces réactives générées pendant le stress oxydatif	8
3. La relation entre le stress oxydant et le stress nitrosant	13
4. Sources des espèces réactives	14
5. Les Dégâts du radicaux libres et leurs cibles biologiques	15
6. Le paradoxe des radicaux libre et leurs rôles physiologiques	16
7. Les antioxydants : prévention des maladies chroniques	17
7.1 Introduction	17
7.2 C'est Quoi un anti-oxydant	17
7.3 Principaux antioxydants et mécanismes de défense cellulaire	18
7.3.1 Anti-oxydants naturels	18
7.3.2 Anti-oxydants synthétiques	21
8. Conséquences Pathologiques du stress oxydatif	22
9. Détection du stress oxydant chez les patients	22

Section2 : Inflammation

1. Définition	25
2. Catégories d'inflammation	25
2.1 L'inflammation aigue	25
2.1.1. Les différentes phases de l'inflammation aigue	25
2.2. L'inflammation chronique	26
3. Les cellules immunitaires et l'inflammation	27
2.1. Les mastocytes	27
2.2. Les monocytes	27
2.3. Les macrophages	28
2.4. Les polynucléaires	28
2.4.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)	28
2.4.2. Les polynucléaires basophiles (PNB)	28

2.4.3. Les polynucléaires éosinophiles (PNE).....	29
2.5. Les lymphocytes.....	29
2.6. Les plaquettes.....	29
2.7. Les cellules endothéliales.....	30
2.8. Les fibroblastes.....	30
3. Les médiateurs d'inflammation.....	30
3.1. Les médiateurs cellulaires.....	30
3.1.1. Les médiateurs vasoactifs.....	30
4.1.2. Les cytokines.....	30
3.2. Les médiateurs plasmatiques.....	31
3.2.1. Les kinines plasmatiques.....	31
3.2.2. Le système de complément.....	32
3.3. Les médiateurs lipidiques.....	32
3.3.1. Les Eicosanoïdes.....	32
4. Les pathologies inflammatoires.....	32
5. Les anti-inflammatoires.....	33
5.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	33
5.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	34
5.3. Les anti-inflammatoires végétales.....	34

Section3 : La relation entre le stress oxydatif et l'inflammation

1. Introduction.....	36
1. ROS et stress oxydatif : activateurs inflammatoires.....	37
2.1. Facteurs de transcription pro-inflammatoires.....	37
2.2. Récepteur et non-récepteur tyrosine kinase.....	38
2.3. Inflammasome NLRP3.....	38
2.4. Le 8-isoprostane.....	39
2.5. Les protéines tyrosine phosphatases PTP.....	39
2.6. Toll-like récepteurs.....	40
3. Inflammation : une cause majeure de stress oxydatif.....	41
4. Stress oxydatif et syndromes inflammatoires chroniques.....	44
4.1. Maladies vasculaires.....	44
4.2. Néphropathie diabétique.....	46
4.3. Maladie d'Alzheimer.....	46
4.4 Les troubles cérébraux.....	48

Chapitre2 : Procédure expérimentale

1. Matériels.....	50
1.1 Matériel végétal.....	50
1.1.1. Présentation de linum (lin).....	50

1.1.2. Culture	51
1.1.3. Description botanique	51
1.1.4. Classification	52
1.1.5. Quelques espèces de genre linum	53
1.2. Matériel animale	54
1.3. Les réactifs	54
1.4. Les appareils	54
2. Méthode	55
2.1. Préparation des extraits	55
2.1.1. Préparation de la plante	55
2.1.2. Extraction	56
2.1.2.1. Extraction solide liquide.....	56
2.1.2.2. Extraction liquide-liquide.....	56
2.2. Les activités biologiques	60
2.2.1. Les activités anti-oxydants	60
2.2.1.1. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH.....	60
2.2.1.1.1. Principe.....	60
2.2.1.1.2. Protocole.....	61
2.2.1.2. Activité de piégeage de radical ABTS● ⁻	62
2.2.1.2.1. Principe.....	62
2.2.1.2.2. Protocole.....	63
2.2.1.3. L'Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).....	64
2.2.1.3.1. Principe.....	64
2.2.1.3.2. Protocole.....	65
2.2.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ .phenanthroline.....	66
2.2.1.4.1. Principe.....	66
2.2.1.4.2. Protocole.....	67
2.2.1.5. Activité de SNP (Silver nanoparticles assay)	68
2.2.1.5.1. Principe.....	68
2.2.1.5.2. Protocole.....	68
2.2.2. Les activités anti.inflammatoires	69
2.2.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par inhibition de la dénaturation thermique des protéines.....	69
2.2.2.1.1. Principe.....	69
2.2.2.1.2. Protocole.....	69
2.2.2.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet anti-inflammatoire par la méthode de stabilisation membranaire : étude de l'activité anti-hémolytique.....	70

2.2.2.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes.....	71
2.2.2.2.2. Test d'innocuité d'extrait vis-à-vis des globules rouges.....	72
2.2.2.2.2.1. Principe.....	72
2.2.2.2.2.2. Protocole.....	72
2.2.2.2.3. La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.....	73
2.2.2.2.3.1. Principe.....	73
2.2.2.2.3.2. Protocole.....	73
2.2.3. L'activité enzymatique inhibitrice d'alpha-amylase.....	74
2.2.3.1. Protocole.....	74
2.2.4. Évaluation de la toxicité sur <i>Tenebrio molitor</i> , un modèle d'organisme vivant.....	75
2.2.4.1. Principe.....	74
2.2.4.2. Protocole.....	75

Chapitre3 : Résultats et discussion

1. Le rendement de l'extraction :.....	78
2. Les activités biologiques :.....	79
2.1. Les activités anti-oxydants :.....	79
2.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH :.....	79
2.1.2. L'activité de piégeage des radicaux libres ABTS :.....	83
2.1.3. L'activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) :.....	86
2.1.4. Evaluation de l'activité de la réduction par la formation du complexe Fe+2-Phenanthroline :.....	89
2.1.5. Activité SNP (Silver nanoparticles assay) :.....	92
2.2. Activités anti-inflammatoires :.....	95
2.2.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines BSA :.....	96
2.2.2. Activité anti-hémolytique :.....	98
2.3. Activité enzymatique alpha-amylase.....	101
2.4. Test de toxicité sur les larves de farines <i>Tenebrio molitor</i> :.....	103
<i>Conclusion et perspectives</i>	109

➤ ***INTRODUCTION***
GENERALE

INTRODUCTION

Ces derniers temps, il existe une demande croissante visant à substituer les antioxydants synthétiques, qui comportent différents risques pour la santé, par des antioxydants d'origine naturelle. *(Lahmadi et al., 2020)*

Le stress oxydant survient lorsque l'équilibre entre les facteurs pro-oxydants et antioxydants de l'homéostasie est perturbé, entraînant ainsi la formation de composés réactifs de l'oxygène (ROS) potentiellement toxiques. *(Betteridge, 2000)* En outre, l'inflammation est un élément essentiel de la réponse biologique complexe des tissus vasculaires face à des stimuli nuisibles. Il s'agit d'une réaction de protection des cellules du corps contre les dommages, les infections, ainsi que les irritations allergiques ou chimiques. *(Soomro, 2019)*

L'inflammation et le stress oxydatif sont étroitement liés, formant un cycle auto-entretenu qui peut contribuer à la progression de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète et ses complications, l'hypertension et les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, l'hépatopathie alcoolique, les maladies rénales chroniques, le cancer et le vieillissement *(Biswas, 2016)*. Le processus inflammatoire est complexe et est déclenché par divers facteurs, tels que des molécules bactériennes ou chimiques qui causent des dommages cellulaires ou la mort cellulaire. Les lésions tissulaires résultant de ces traumatismes entraînent la libération de médiateurs inflammatoires, y compris des espèces réactives de l'oxygène. *(Soomro, 2019)*

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales sont utilisées à des fins thérapeutiques, et différentes méthodes de traitement à base de plantes sont largement adoptées dans de nombreux pays. En raison des effets secondaires associés aux médicaments synthétiques, les produits à base de plantes sont de plus en plus recherchés et appréciés pour leur utilisation dans divers secteurs tels que la pharmacie, l'alimentation et les cosmétiques. *(Latifian & Arslanoğlu, 2018)*

Le continent africain regorge d'une grande diversité de plantes médicinales. En effet, parmi les 300 000 espèces végétales reconnues à travers le monde, plus de 200 000 espèces sont présentes dans les pays tropicaux d'Afrique et possèdent des propriétés médicinales *(Sofowora, 1993)*.

L'Algérie, grâce à sa riche et diverse flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique. Cela lui confère une place privilégiée parmi les pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale et qui font face à diverses pathologies *(Miara et al., 2017)*



Il reste encore un grand nombre d'espèces végétales sauvages à étudier, dont certaines sont encore peu connues en termes de leurs propriétés biologiques et phytochimiques. Le genre Lin (*Linum*), qui comprend 13 espèces présentes dans la flore algérienne, suscite un grand intérêt à la fois sur le plan industriel et thérapeutique. (*Quézel, 1962*)

L'objectif de l'étude portant sur une espèce du genre "*Linum*", qui est le sujet de ce travail, est de mieux comprendre le potentiel phytochimique et thérapeutique de la flore sauvage algérienne. Cette recherche vise à découvrir de nouvelles molécules naturelles qui pourraient être utilisées en médecine en remplacement des molécules synthétiques actuellement utilisées.

Ce manuscrit est divisé en trois parties principales :

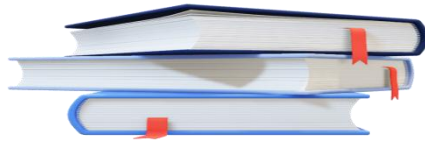
➤ La première partie de ce travail propose une synthèse bibliographique comprenant une introduction au stress oxydatif et à l'inflammation, en mettant en évidence leur relation.

➤ La deuxième partie de ce travail présente une synthèse sur l'espèce végétale étudiée. Décrit la méthodologie expérimentale, en détaillant les techniques d'extraction employées ainsi que l'évaluation *in vitro* des activités biologiques de la plante. Ces activités comprennent l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, enzymatique, ainsi que l'évaluation de la toxicité.

➤ La troisième partie de ce travail présente l'ensemble des résultats obtenus, ainsi que la discussion qui mettra en évidence leur signification par rapport aux données de la littérature existante.

➤ **CHAPITRE 1**

ÉTUDE



BIBLIOGRAPHIQUE

(Cadre théorique et conceptuel)

Section 1 :

Le stress oxydatif

1. Le stress oxydatif

Depuis sa première formulation, le stress oxydatif a été largement étudié et continue de susciter l'intérêt des chercheurs dans divers domaines de la médecine.

1.1 Définition

Les cellules et les tissus peuvent subir différentes formes d'agressions qui les exposent à des dommages physiques tels que les traumatismes, l'irradiation, l'hyperthermie ou l'hypothermie, ainsi qu'à des agressions chimiques telles que l'acidose ou les toxines, et des agressions métaboliques telles que l'exposition à des substances étrangères (xénobiotiques) ou la privation de facteurs hormonaux ou de croissance. La plupart de ces agressions entraînent un état commun appelé stress oxydatif, qui résulte d'une perturbation de l'équilibre physiologique normal et se manifeste par une surproduction de radicaux libres dérivés de l'oxygène..(Walker et al., 1982)

Le concept de stress oxydatif a été initialement formulé dans le chapitre introductif du livre intitulé "Le stress oxydatif" publié en 1985 par Helmut Sies, où il est défini comme "un déséquilibre en faveur des processus pro-oxydants par rapport aux processus antioxydants".(Sies et al., 2017;Helmut Sies, 1985).

Au repos, les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme maintiennent un équilibre entre les antioxydants et les espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce qui prévient les dommages oxydatifs aux cellules et aux tissus. Cependant, cet équilibre redox peut être perturbé de deux manières. D'une part, une surproduction d'ERO peut se produire, comme c'est le cas lors du vieillissement ou de l'athérosclérose. D'autre part, les capacités antioxydantes peuvent diminuer, comme chez les individus obèses ou les fumeurs (Migdal & Serres, 2011). Ces perturbations peuvent devenir toxiques pour les éléments cellulaires essentiels tels que les lipides, les protéines et les acides nucléiques (ADN/ARN), entraînant ainsi un stress oxydatif (Djamilatou et al., 2021 ; Mbida et al., 2022).



Figure 1: Illustration du déséquilibre entre oxydantes et antioxydantes chez l'humain,

1.2 Origine

La mitochondrie joue un rôle essentiel dans la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans l'organisme. L'oxygène est indispensable à la production d'énergie dans de nombreuses formes de vie, que ce soit les plantes, les animaux ou les bactéries. La phosphorylation oxydative, qui génère de l'énergie sous forme d'ATP, se déroule notamment à travers des chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries. (Migdal & Serres, 2011).

Dans le métabolisme oxydatif mitochondrial des cellules, des espèces d'ERO telles que des peroxydes organiques sont produites (Mohamed et al., 1999). Bien que ce processus soit normal lors de la respiration cellulaire, les cellules contiennent des enzymes endogènes telles que la superoxyde dismutase (SOD) qui protègent contre les dommages causés par les ROS en neutralisant ces radicaux libres (Chatterjee, 2016). Ce processus complexe implique la réduction de l'oxygène moléculaire en eau au niveau de la membrane mitochondriale (Schoots et al., 2018).

Lorsque le transfert d'électrons est inhibé et que la phosphorylation oxydative est découplée au niveau de la respiration mitochondriale, cela entraîne une modification du potentiel REDOX (réaction d'oxydoréduction) qui favorise l'auto-oxydation des biomolécules et la génération d'ERO (Ahmad, 2012). Pendant le transport d'électrons et au niveau de la chaîne mitochondriale, environ 2% de l'oxygène consommé est transformé en anion superoxyde en raison de fuites d'électrons. Dans la mitochondrie, de nombreux sites pourraient potentiellement générer des ERO (Reiter et al., 2018).

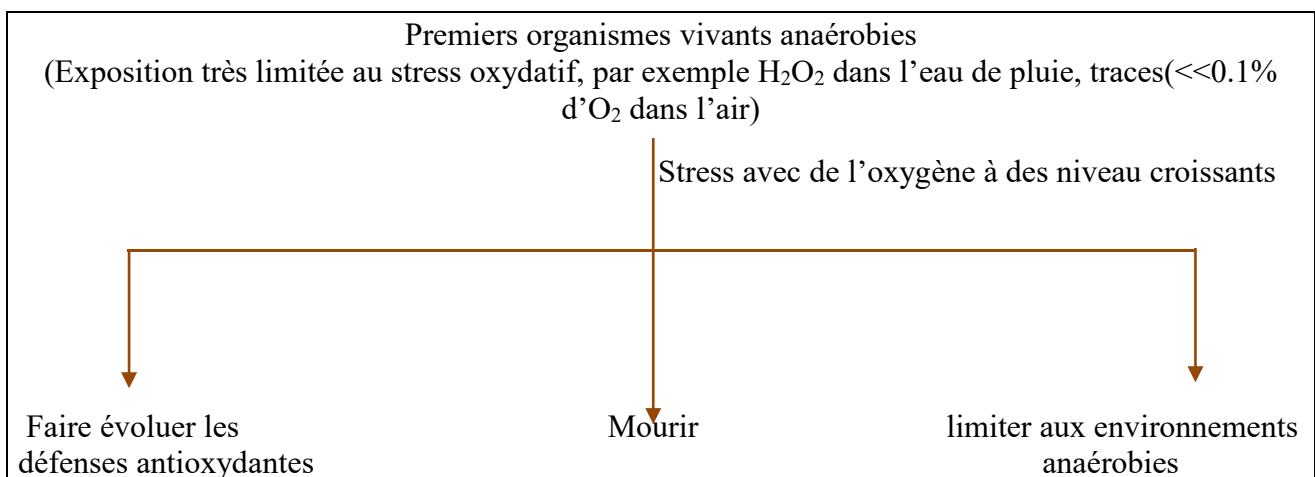


Figure 2: Adaptations évolutives à l'apparition d'O₂. Selon : (Halliwell & Gutteridge, 2015b)

Lorsque l'apport d'oxygène est réduit, les mitochondries libèrent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui peuvent activer des mécanismes tels que la vasodilatation pour augmenter l'apport d'oxygène aux tissus. La vasodilatation correspond à une dilatation des vaisseaux sanguins, favorisant ainsi un flux sanguin accru et une meilleure oxygénation des tissus. De plus, les

mitochondries peuvent stimuler la production d'agents vasodilatateurs tels que l'oxyde nitrique (NO) par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, contribuant ainsi à la vasodilatation et à l'augmentation de l'apport en oxygène aux tissus (*Dupic et al., 2010*). (*Pichard & Cano, 2006*).

En résumé, les mitochondries jouent un rôle clé dans la régulation de l'apport d'oxygène aux tissus en cas de manque d'oxygène.

2. Les Ero/Ern Et Les Radicaux Libres : Leurs Rôles En Biologie

2.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, des molécules ou des ions très instables et réactifs, avec des électrons non appariés. Ils peuvent provenir d'oxygène, d'azote ou de soufre par exemple. (*Kumar & Pandey, 2015*)

En raison de leur électron non apparié, les radicaux libres cherchent constamment à se lier à d'autres molécules afin de stabiliser leur électron non apparié. Cela les rend très réactifs et capables de réagir avec d'autres molécules afin de stabiliser leur électron non apparié, y compris les protéines, les lipides et l'ADN.

Lorsque les radicaux libres réagissent avec ces molécules biologiques, cela peut causer des dommages oxydatifs, qui peuvent contribuer à l'apparition de diverses maladies. (*Lehucher-Michel et al., 2001*) (*Koehler-Ramonatxo, 2006*)

2.2 Les diverses variantes des espèces réactives générées pendant le stress oxydatif

Les espèces réactives d'oxygène (ERO)

Ces espèces réactives sont générées à des niveaux modérés dans les cellules aérobies. Elles peuvent être des sous-produits du transport des électrons dans les mitochondries, connus sous le nom d'"espèces primaires", tels que l'anion superoxyde (O_2^-) et le radical hydroxyle ($OH\cdot$). Elles peuvent également être produites par diverses oxydoréductases et catalyseurs métalliques lors de l'oxydation des métabolites, et sont appelées "espèces secondaires". La concentration de ces espèces réactives est régulée par un équilibre entre leur production et leur élimination par les systèmes antioxydants. (*Forman & Torres, 2002*) (*RAHMANI, 2015*) (*Migdal & Serres, 2011*)

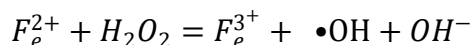
✓ L'oxygène singulier (1O_2)

C'est un radical très instable et extrêmement réactif face à des molécules riches en électrons. Il se forme principalement sous l'effet de l'absorption des rayons UV à des pressions importantes

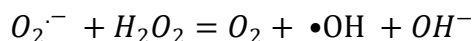
en oxygène. Sa durée de vie est très courte et il est disparait très rapidement, en moins de 10^{-6} second. (*Bensakhria, 2018*)

✓ Anion superoxyde (O_2^-)

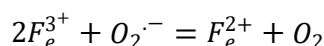
C'est une espèce très réactive envers les substances bio-organiques, et c'est l'une des principales espèces impliquées dans la production de radicaux libres dans les cellules. Lorsqu'il réagit avec certains métaux redox actifs, comme le fer, cela peut conduire à la production d'autres radicaux libres plus réactifs, comme le radical hydroxyle ($\bullet OH$) dans la réaction de Fenton.



Le radical superoxyde participe également à la réaction de Haber-Weiss



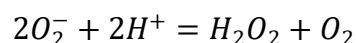
Cette réaction comprend la réaction de Fenton et la réduction des ions Fe^{3+} par le superoxyde, ce qui produit Fe^{2+} et l'oxygène.



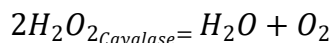
Selon : (*Valko et al., 2006*)

✓ Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Ce n'est pas un radical libre, il est stable et possède des propriétés oxydantes et réductrices. Il peut être produit par la dismutation de l'oxygène en présence de la superoxyde dismutase selon la réaction suivante :



Plusieurs enzymes différentes peuvent éliminer le H_2O_2 . La catalase, que l'on trouve généralement que dans les peroxysomes, catalyse une réaction de dismutation très rapide :

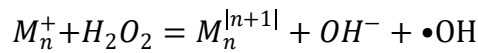


Le H_2O_2 peut agir directement sur les molécules pour les oxyder ou être converti en radicaux hydroxyles $HO\bullet$. (*Forman & Torres, 2002*) (*Bensakhria, 2018*)

✓ Hydroxyle $HO\bullet$

L'espèce la plus réactive dans l'attaque des molécules biologiques. Il réagit rapidement avec les molécules environnantes à proximité de son lieu de production, plutôt qu'à distance.

Produit dans la réaction de Fenton : décomposition de H₂O₂ en présence de métaux Mⁿ⁺ tels le Fe²⁺ ou le Cu¹⁺, le Co²⁺, le Ti³⁺ ou le Cr V selon :



La durée de vie des radicaux hydroxyles est < 10⁻⁶ s. (Bensakhria, 2018) (Amzal, 2010; Meziti, 2018)

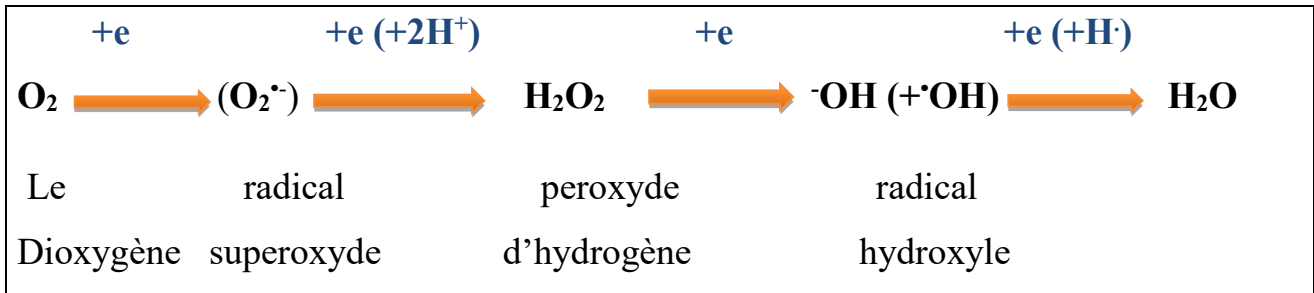
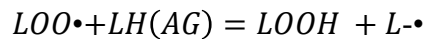


Figure 3 : Intermédiaires réduits de l’oxygène (les quatre étapes de réduction mon- électronique de l’oxygène.(Gardès-Albert et al., 2003)

✓ **Radical peroxyde (ROO[•])**

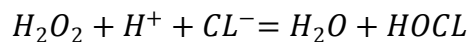
Nommé aussi LOO[•], produit durant la dégradation lipidique selon :



Selon : (Kh, 1993) (Amzal, 2010; Meziti, 2018)

✓ **Acide hypochlorique HOCl**

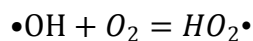
L’espèce réactive est l’OCL, hautement réactif, et produit durant le sursaut respiratoire pour détruire les organismes invasifs dans les neutrophiles selon :



(Amzal, 2010; Meziti, 2018) (Klaunig & Kamendulis, 2004)

✓ **Radical hydroperoxyde HO₂[•]**

Appelé aussi radical perhydroxyle, obtenu par l’addition d’un radical hydroxyle à une molécule d’oxygène selon : HO₂

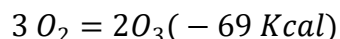


(Gardes-Albert, 2006)

✓ **Ozone O₃**

Ce n'est pas un radical libre (**o-o-o**), à une durée de vie de quelques secondes.

La formation d'une molécule d'ozone (O_3) à partir de molécules de dioxygène (O_2), est une réaction endothermique, l'énergie nécessaire est fournie par les ultraviolets du soleil ou par des étincelles électriques.



C'est un puissant agent oxydant : $O_3 + 2H^+ + 2e = O_2 + HO_2$

En effet, il atténue bon nombre de ses effets toxiques par le biais de réactions radicalaires :

- Soit directement par l'oxydation de biomolécules pour donner des espèces radicalaires classique telle que OH.
- Soit en favorisant la production dépendant des radicaux d'espèces cytotoxiques non radicalaires telles que les aldéhydes et les ozonides. (*Kelly et al., 1995*) (*Bensakhria, 2018*)

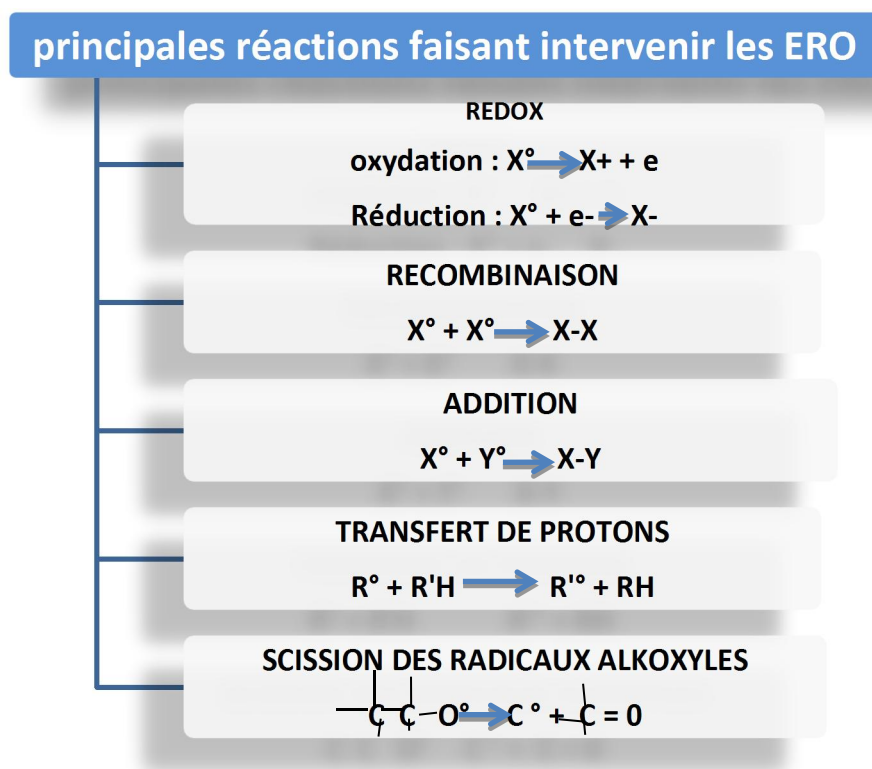


Figure 4 : Principales réactions faisant intervenir des ERO. (*Bensakhria, 2018*)

Les espèces réactives d'azote (ERN)

Chez les mammifères proviennent principalement du monoxyde d'azote et du nitrite. Il est important de noter que le NO, le nitric étant son produit d'auto-oxydation stable, est à l'origine de la formation des ERN. Cependant, d'autres sources d'ERN, telles que les oxydes d'azote (NO_x),

existent également. (Peyrot, 2004). La surproduction d'espèces azotées réactives est appelée stress nitrosatif. (Valko et al., 2006)

La découverte des espèces chimique radicalaires présentes normalement dans l'organisme, a bouleversé votre compréhension des mécanismes biologiques. (Favier, 2003)

✓ **Le monoxyde d'azote (NO[•])**

C'est une molécule gazeuse hautement diffusible et réactive qui peut, dans les milieux biologiques, se former par une réaction catalysée par la NO synthase mitochondriale (mt NOS) entre un atome d'azote appartenant à une L-Arginine et O₂.

Il peut réagir soit avec l'O₂^{•-} pour former des dérivés oxydants (principalement le ONOO⁻ mais aussi l'anion nitroxyl (NO⁻) et le dioxyde d'azote NO₂), qui sont responsables du stress oxydatif.

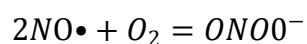
Soit avec l'O₂ lui-même, pour former le N₂O₃, qui est également responsable du stress oxydatif. (Massion et al., 2002)

✓ **Nitrique oxyde (NO⁺)**

C'est un radical libre endogène produit par l'oxydation du monoxyde d'azote (NO[•]) par l'oxyde nitrique synthétase. Le NO⁺ se combine avec (O₂) pour produire ERN, dont la durée de vie est très courte, d'environ 1s. (Amzal, 2010; Meziti, 2018)

✓ **Peroxynitrite (ONOO⁻)**

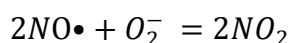
Un agent oxydant puissant, qui n'est pas un radical libre, il peut réagir pour générer le dioxyde de nitrogène (NO₂).sa durée de vie est très courte, de l'ordre de 10⁻³ s.



(Bensakhria, 2018)

✓ **Dioxyde de nitrogène (NO₂)**

C'est un oxydant fort, à une durée de vie 1 s, formé par l'oxydation du monoxyde d'azote (NO[•]) dans l'air par les oxydants disponibles tels que l'oxygène, l'ozone et les COV.



(Jarvis et al., 2010)

✓ **Acide peroxy-nitrique (ONOOH)**

C'est un puissant oxydant stable à deux électrons qui est généré par la dissociation de l'ion Peroxynitrite lui-même produit par la réaction entre le monoxyde d'azote (NO^\bullet) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$). (Nagy & Winterbourn, 2010)

Tableau 1 : Le récapitulatif des espèces réactives d'oxygène et d'azote radicalaires et non radicalaires. (Bartosz, 2003), (Devasagayam et al., 2004) (Biswas, 2016)

<i>L'espèce réactive</i>	<i>Symbole</i>	<i>Radicalaire/Non radicalaire</i>
<i>Les espèces réactives de l'oxygène</i>		
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet-}$	Oui
Radical hydroxyle	OH^\bullet	Oui
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Non
Radical peroxyde	ROO^\bullet	Oui
Hydro peroxyde	ROOH	Non
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$	Non
Ozone	O_3	Non
<i>Les espèces réactives de l'azote</i>		
Oxyde nitrique	NO^\bullet	Oui
Oxyde nitrique cation	NO^+	Non
Oxyde nitrique anion	NO^-	Non
Peroxynitrite	ONOO^\bullet	Non
Acide peroxynitrique	ONOOH	Non
Dioxyde de nitrogène	NO_2^\bullet	Oui

3. La relation entre le stress oxydant et le stress nitrosant

Un équilibre délicat existe entre le stress oxydant et le stress nitrosant dans le corps. Le radical superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) arrête les nitrosations, tandis que le radical nitrique libre (NO^\bullet) atténue les effets oxydants du peroxynitrite (ONOO^-) en cas d'excès. Cependant, si le NO^\bullet est présent en quantité excessive, il peut convertir le stress oxydant en stress nitrosant par le biais de diverses réactions, ce qui prolonge le stress cellulaire sous une forme différente. (Massion et al., 2002)

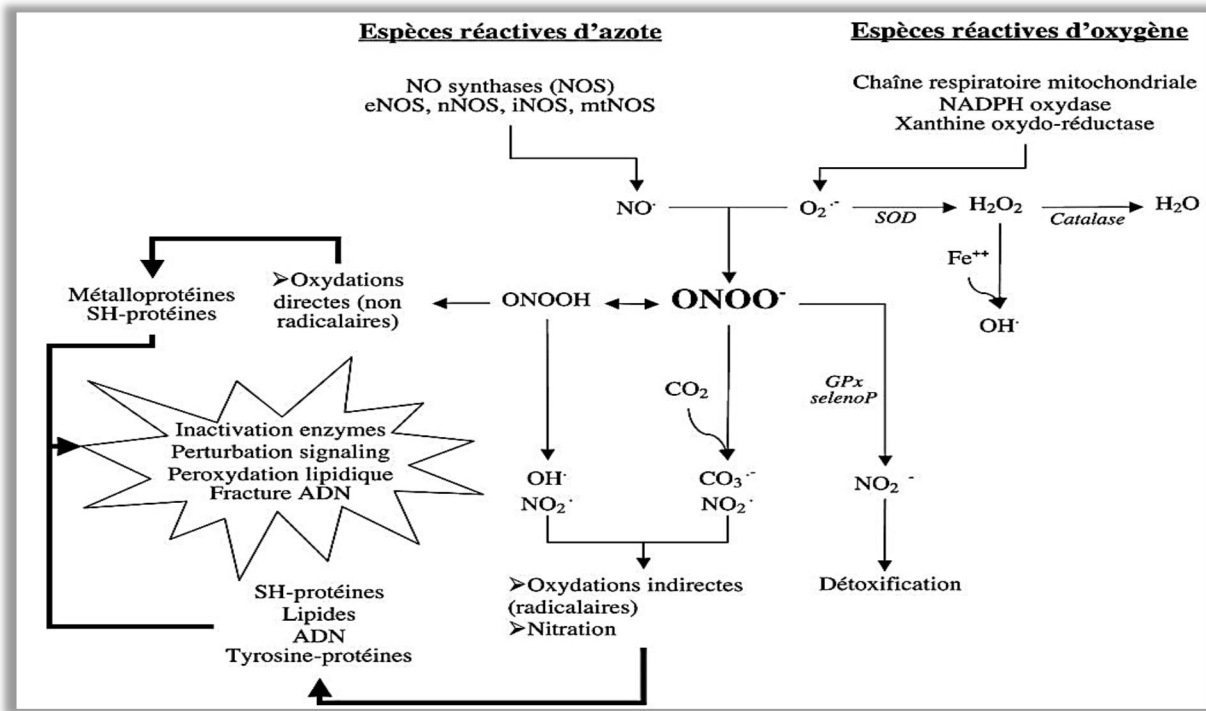


Figure 5 : Chemin représente la relation entre le stress oxydant et nitrosant. (Liaudet, 2007)

4. Sources des espèces réactives

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont continuellement produites à l'intérieur et à l'extérieur des cellules eucaryotes par divers mécanismes, ce qui englobe des sources endogènes et exogènes (Favier, 2003). L'inflammation est associée à une augmentation de la production d'ERO, principalement par les cellules phagocytaires activées comme les macrophages et les neutrophiles, dans un processus appelé "explosion oxydative". Ce phénomène est déclenché par l'activation de l'enzyme NADPH oxydase, qui utilise l'oxygène moléculaire pour produire des anions superoxydes à la membrane cellulaire. Par ailleurs, le monoxyde d'azote (NO) est également produit par différentes isoformes de l'enzyme NO synthase (NOS) présentes dans les neurones, les cellules endothéliales et les macrophages, afin de réguler diverses fonctions physiologiques.

Les mécanismes du cycle redox impliquent l'oxydation et la réduction de molécules telles que les quinones dans l'organisme. Les quinones peuvent subir une oxydation spontanée ou être oxydées par des enzymes comme les cytochromes P450. Cependant, une oxydation excessive des quinones peut conduire à la formation d'ERO, ce qui explique leur implication dans la toxicité de diverses substances telles que l'alcool, les résidus de fumée de cigarette et certains médicaments.

La réaction de Fenton peut être une source importante de radicaux hydroxyles dans les systèmes biologiques contenant des métaux toxiques tels que le chrome, le cuivre, le vanadium et le fer libre. Cette réaction implique la combinaison d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Les particules inhalées telles que l'amiante et la silice sont également des sources d'ERO. Elles peuvent aggraver la phagocytose et leur surface est revêtue de sels de fer.

Enfin, les rayonnements peuvent générer des radicaux libres en scindant la molécule d'eau, que ce soit par des rayons X ou Y, ou en activant des molécules photosensibilisantes lorsqu'il s'agit de rayons ultraviolets. Ces processus peuvent produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet. (Favier, 2003).

Tableau 2 : Le récapitulatif des sources de radicaux libres. (Kumar et al., 2013 ; Kumar & Pandey, 2015 ; Pandey et al., 2012). (Lobo et al., 2010)

<i>-Source Endogène</i>	<i>-Source Exogène</i>
Mitochondrie	Cigarette
Phagocytoses	Radiation ionisantes
Xanthine oxydase	Pollutions diverses
Métaux de transition	Rayonnement UV
Peroxisomes	Produits chimique / médicaments
Inflammation	Ozone
Voies de l'arachidonate	Les pesticides
L'ischémie	L'exercice physique

5. Les Dégâts du radicaux libres et leurs cibles biologiques

Les principales cibles du stress oxydatif sont les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Chang et al., 2011). Les lipides, en particulier leurs acides gras polyinsaturés, sont particulièrement vulnérables à l'attaque par le radical hydroxyle, qui peut arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, conduisant à la formation de radicaux diéniques conjugués et de radicaux peroxydes. Ce processus est connu sous le nom de peroxydation lipidique. La peroxydation lipidique peut entraîner la formation de LDL oxydées qui sont captées par des macrophages, contribuant ainsi à la formation de dépôts lipidiques dans les plaques d'athérome associées aux maladies cardiovasculaires. De plus, l'attaque des phospholipides membranaires altère la fluidité de la membrane et peut affecter le fonctionnement des récepteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

L'ADN, en tant que support de l'information génétique, est susceptible d'être endommagé par le radical hydroxyle, qui réagit avec tous les composants de la molécule d'ADN, y compris les bases puriques et pyrimidiques ainsi que le squelette désoxyribose. Ces dommages oxydatifs permanents au niveau de l'ADN sont considérés comme la première étape impliquée dans les processus de mutagenèse, de carcinogenèse et de vieillissement (*Valko et al., 2007*).

Les protéines, en particulier celles contenant des groupements sulfhydriles (SH), sont très sensibles aux attaques des radicaux libres et à l'oxydation (*Cadet et al., 2002; Favier, 2003*). Les résidus de cystéine contenant des groupements SH peuvent subir des modifications oxydatives, ce qui peut altérer leur structure et leur fonction.

Tableau 3: Récapitulatifs des effets des radicaux libres sur les cellules et de leurs cibles biologiques. (*Favier, 2003*), (*Valko et al., 2007*)

<i>-Cibles</i>	<i>- Effets</i>
Protéines	Diminution de l'activité enzymatique
Lipides	Dégâts membranaires / Oxydation
ADN	Mutation
<i>Résultats</i> : altération de la structure et des fonctions cellulaires	

6. Le paradoxe des radicaux libre et leurs rôles physiologiques

Effectivement, les radicaux libres sont des molécules à double tranchant, pouvant avoir des effets bénéfiques ou nocifs selon leur quantité et leur emplacement dans le corps. Les radicaux libres d'azote sont également essentiels à la vie car ils jouent un rôle important dans de nombreuses fonctions biologiques essentielles. Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques pour éliminer les bactéries à l'intérieur des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des processus cellulaires critiques tels que la mort cellulaire programmée (apoptose) et l'adhésion des leucocytes (*Migdal & Serres, 2011; Favier, 2003*). En effet, le monoxyde d'azote est impliqué dans de nombreux domaines de la médecine, tels que la croissance intra-utérine, la prééclampsie, le transport au niveau du néphron, l'asthme bronchique, la cirrhose, le choc septique, le cancer et l'infection par le VIH (*Massion et al., 2002*).

Les radicaux libres d'oxygène sont également impliqués dans la production d'énergie cellulaire, la régulation du système immunitaire, la signalisation cellulaire, l'élimination des cellules endommagées, la régulation des gènes et l'activation des facteurs de transcription. Ils jouent également un rôle dans la formation de la mémoire et la régulation de la dilatation des vaisseaux sanguins (*Huet & Duranteau, 2008; Favier, 2003*).

Il est important de souligner que bien que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) puissent être dangereuses pour les cellules, certaines quantités sont nécessaires pour maintenir la physiologie cellulaire normale (Rahman, 2007).

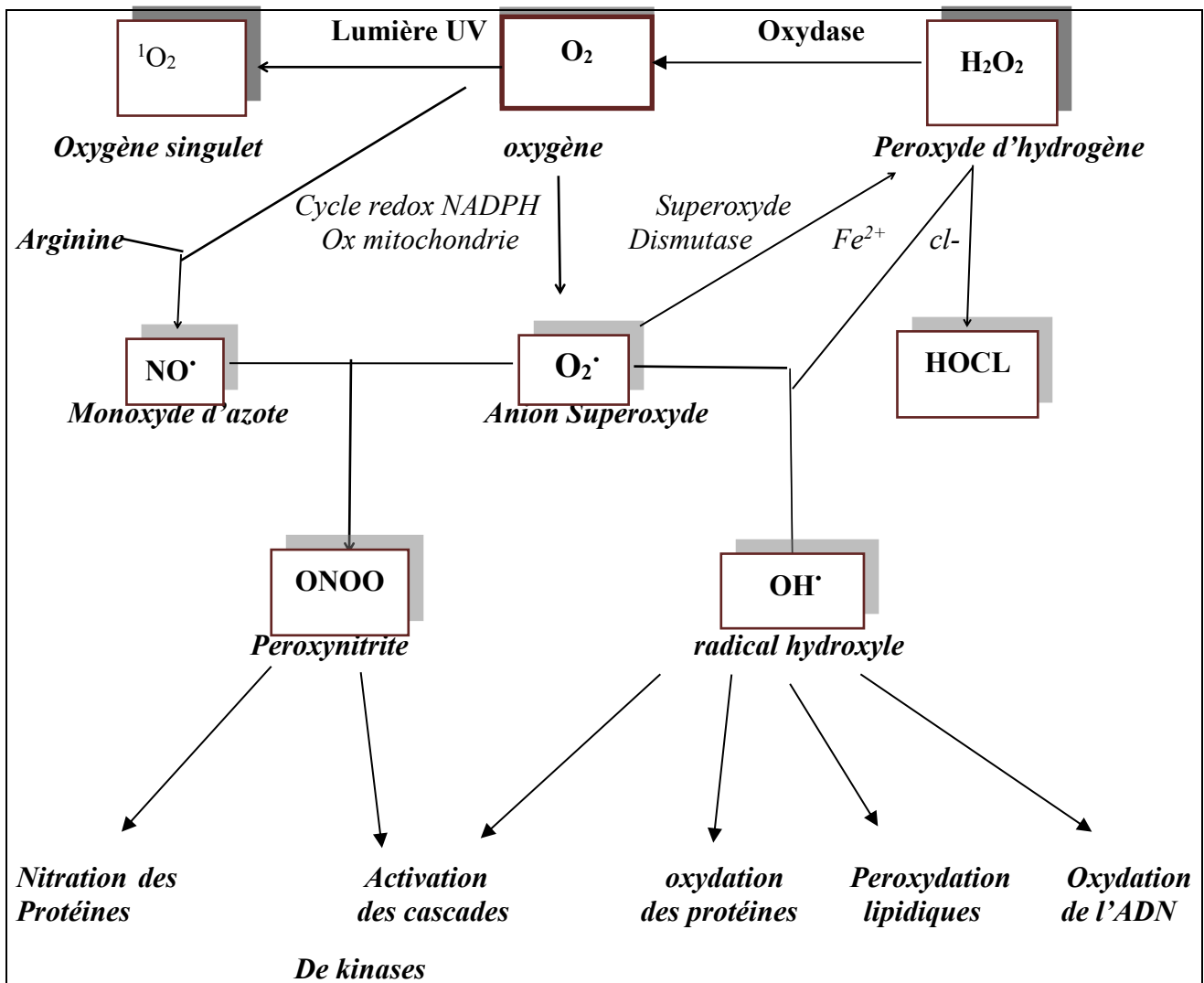


Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés/azotés et espèces réactives dans les processus biologiques. (Favier, 2003)

7. Les antioxydants : prévention des maladies chroniques.

7.1 Introduction

Au 21^e siècle, la demande d'apport d'aliments antioxydants ou d'antioxydant alimentaire augmente avec l'espoir de garder la santé humaine des maladies causés par les radicaux libres. (Rajendran et al., 2014)

7.2 C'est Quoi un anti-oxydant

Le terme "anti-oxydant" fait référence à toute molécule capable de protéger les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres. Les anti-oxydants sont des molécules

suffisamment stables qui neutralisent les radicaux libres en leur donnant un électron supplémentaire, ce qui réduit leur capacité à endommager les cellules et à se déchaîner. Cela les rend moins nocifs pour les cellules du corps. (K. Rahman, 2007) (Lobo et al., 2010)

7.3 Principaux antioxydants et mécanismes de défense cellulaire

7.3.1 Anti-oxydants naturels

Constituent l'essentiels des mécanismes de défenses de la cellule et ils peuvent être endogènes ou exogènes.

7.3.1.1 Les anti-oxydants endogènes : qui peuvent être enzymatique et non enzymatique.

- **Anti-oxydant enzymatique** : sont à leur tour regroupés au sein des systèmes de défense primaire et secondaire.

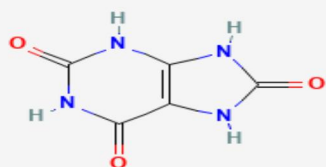
La principale défense est formée par ces trois enzymes capables de neutraliser les radicaux libres :

- ✓ **Glutathion peroxydase** : il existe deux formes de cette enzyme, l'un qui est le sélénium dépendant (GPx, EC 1.11.1.19) et l'autre indépendant du sélénium (glutathion-s-transférase, GST, EC25.1.18). Chez l'homme il existe quatre types différents de Se-dépendants glutathion peroxydases, de faible poids moléculaire, et ceux-ci sont connues pour ajouter deux électrons réduire les peroxydes en formant des sélénoles (Se-OH) et les propriétés anti-oxydantes de ces sélénio-enzymes leur permettent éliminer les peroxydes comme substrats potentiels pour la réaction de Fenton. (Alscher et al., 1997) (Chaudière & Ferrari-Iliou, 1999; Matés et al., 1999; K. Rahman, 2007)
- ✓ **Catalase (CAT) (EC1.11.1.6)** : cette enzyme est présente dans le peroxydosome des aérobie cellulaires tels que les hématies et les hépatocytes) elle est très efficace pour catalyser la conversion de 6 millions molécules du peroxyde d'hydrogène en l'eau et en oxygène chaque minute. (Sorg, 2004) (Matés et al., 1999 ; Rahman, 2007)
- ✓ **Superoxyde dismutase (SOD) (EC1.15.1.1)** : c'est l'un des agents enzymatiques intracellulaires les plus efficaces. Elle existe sous trois formes, la plus importante a pour cofacteur le cuivre et le zinc (CuZn-SOD) et se trouve dans le cytoplasme, une deuxième a pour cofacteur le manganèse (Mn-SOD) et est localisée dans la mitochondrie, et une troisième a pour cofacteur le cuivre et zinc extracellulaire et se trouve dans la lymphe et le plasma. Les trois formes catalysent la même réaction, qui consiste à transformer les anions superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Zelko et al., 2002) (Pisoschi et al., 2016) (K. Rahman, 2007)

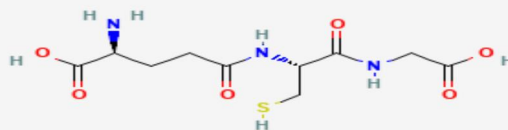
La défense secondaire comprend : la glutathion réductase et le glucose-6-phosphate déshydrogénase. (Gamble & Burke, 1984; Pisoschi et al., 2016) Tandis que ces deux enzymes ne neutralisent pas directement les radicaux libres, elles favorisent l'activité anti-oxydant endogène. (Carocho & Ferreira, 2013)

- **Anti-oxydant non enzymatique :**

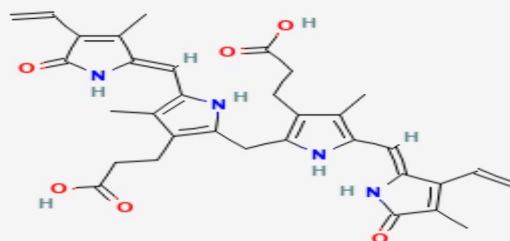
Regroupent des composés à faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse tels que : le glutathion, l'acide dipeptide, l'acide alpha-lipoïque, le coenzyme Q, soit des molécules issues du métabolisme cellulaire telles que l'acide urique et des protéines telles que la ferritine, la bilirubine, la métallothionéine et L-carnitine. Ces molécules contribuent à la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition, ce qui permet de prévenir la formation des radical hydroxyle via la réaction de Fenton. (Kohen & Nyska, 2002; Semalty et al., 2017) (Martinez-Cayuela, 1995)



Acide urique.



Glutathion.



La bilirubine.

Figure 7 : Les structures d'acide urique, de Glutathion et de la bilirubine.

7.3.1.2 Les anti-oxydants exogènes : pour cette deuxième catégorie, la source est représentée par les denrées alimentaires, les produits pharmaceutiques et les compléments alimentaires, ils sont importants pour lutter contre les ERO, lorsque les composés endogènes ne sont pas en mesure d'assurer une protection complète. (*Ahmad et al., 2014; Pisoschi et al., 2016; Ratnam et al., 2006*)

Représentées par :

- ✓ **Vitamine E** : il s'agit d'une vitamine liposoluble existant sous huit formes différentes, chez l'homme alpha-tocophérol est la forme la plus active. La formation principale de la vitamine E est de protéger contre la peroxydation des lipides, et empêchant leur propagation. (*Rahman, 2007 ; Hensley et al., 2004*) (*Liebler et al., 1986*)
- ✓ **Vitamine C (acide ascorbique)** : est un anti-oxydant hydrosoluble, elle peut réagir avec les ERO et former un radical semidehydroascorbate peu réactif. Ses principaux partenaires anti-oxydants sont la vitamine E et les caroténoïdes pour l'inhibition de la peroxydation lipidique. Cependant à forte dose et en présence de quantités importantes de fer, la vitamine C peut devenir pro-oxydante. (*Denisov & Afanas' ev, 2005*) (*K. Rahman, 2007*)
- ✓ **Caroténoïdes** : ce sont principalement des pigments colorés présents dans les plantes et les micro-organismes, présent dans le sang humain en quantité très faible, leur activité antioxydante se pose en raison de la capacité de ceux-ci à délocaliser des électrons non appariés. (*Mortensen et al., 2001; K. Rahman, 2007*) (*Sies & Stahl, 1995*)
- ✓ **Flavonoïdes** : sont en effet une large classe de métabolites végétaux ubiquitaires et font partie du régime alimentaire humain. Ils ont suscité un intérêt important en raison de leur action antioxydante et leur rôle potentiel dans la prévention des maladies chroniques liées à l'âge.

Les flavonoïdes peuvent piéger les radicaux peroxyde et sont des inhibiteurs efficaces de la peroxydation lipidique. De plus, ils peuvent chélater les métaux redox-actifs et empêcher la dégradation catalytique du peroxyde d'hydrogène. (*K. Rahman, 2007; Rice-Evans, 2001; Schroeter et al., 2002; Cao et al., 1997*)

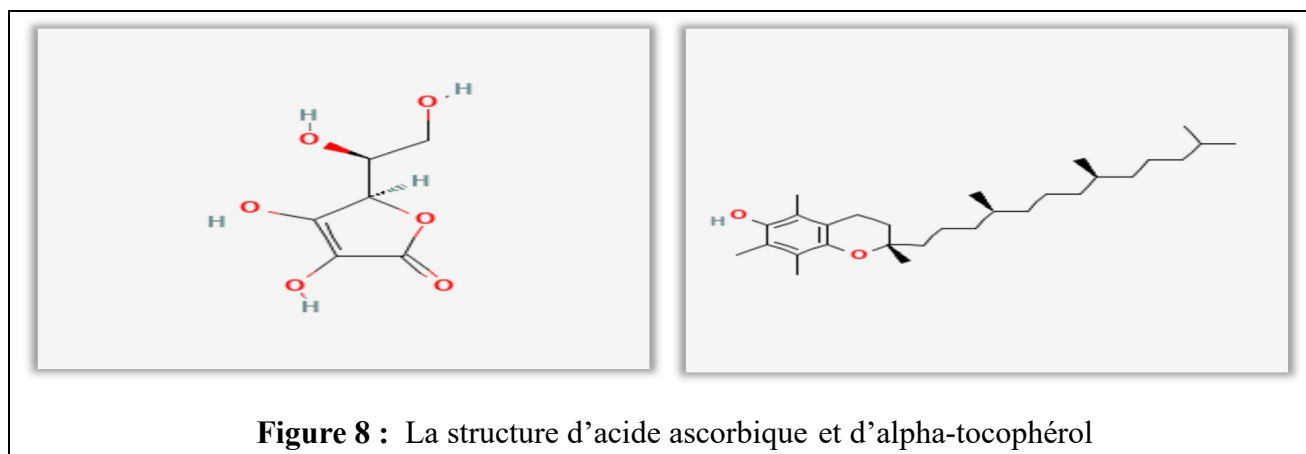


Figure 8 : La structure d'acide ascorbique et d'alpha-tocophérol

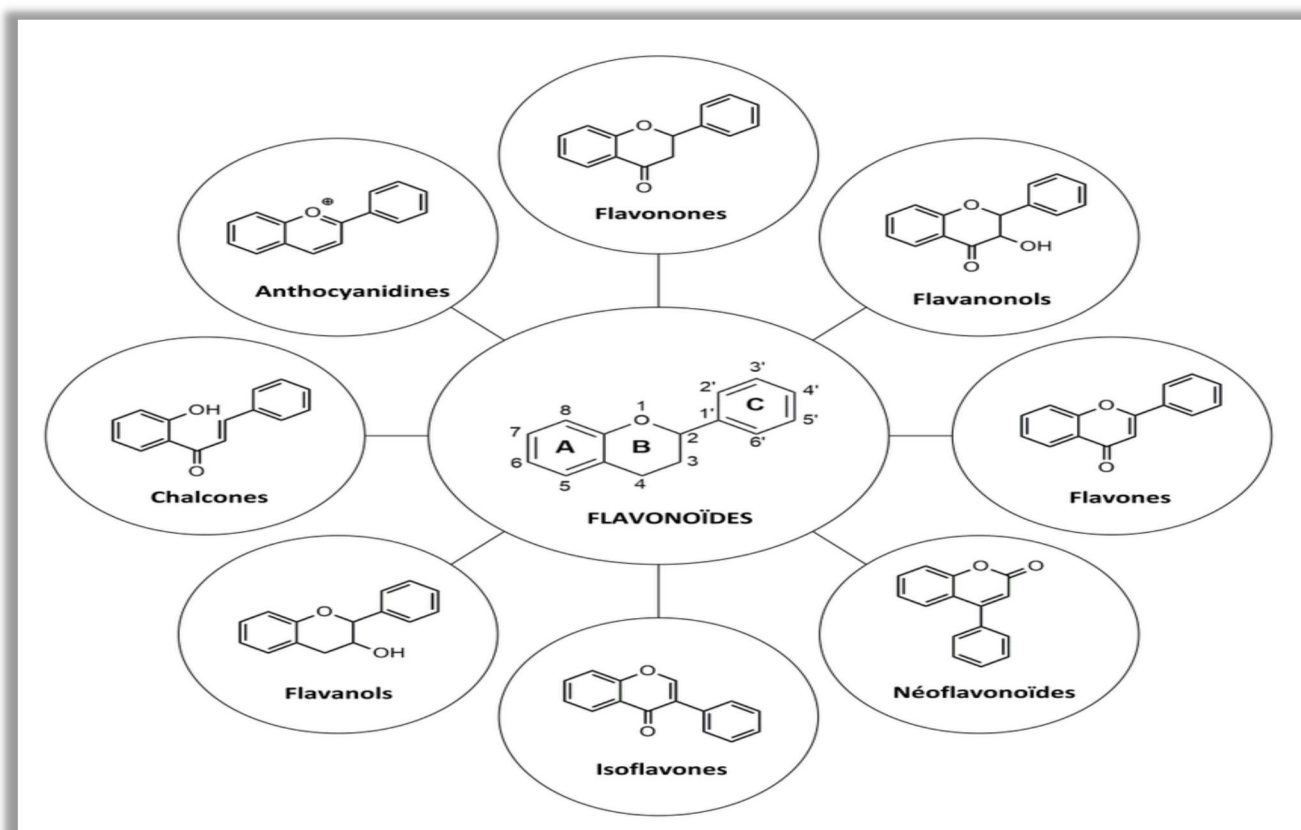


Figure 9 : Les différentes classes de Flavonoïde selon: (Rousserie, 2019)

7.3.2 Anti-oxydants synthétiques

Ce sont des composés chimiques contenant des structures phénoliques ajoutés aux aliments dans le but de prévenir le rancissement des lipides. Des exemples d'antioxydants commerciaux incluent le BHA (butylhydroxyanisole), le BHT (butylhydroxytoluène), le TBHQ (tert-butylhydroquinone), le PG (propyl gallate), l'OG (octyl gallate), et le 2,4,5 TBP (trihydroxy butyrophénone). Ils sont utilisés comme additifs alimentaires pour empêcher l'oxydation des lipides (Pisoschi et al., 2016; Yang et al., 2002) (Soares et al., 2003)

8. Conséquences Pathologiques du stress oxydatif

La découverte des espèces chimiques permis de mieux comprendre les conséquences du stress oxydatif sur la santé et la maladie.

Tableau 4: Les divers maladies liées où stress oxydatif

<i>- Pathologie</i>	<i>- Référence</i>
<i>-Les maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale.</i>	
Cancer.	<i>(Klaunig, 2018)</i>
Maladies auto-immunes.	<i>(Benhamou et al., 2014)</i>
Cataracte.	<i>(Desmettre & Lecerf, 2005)</i>
<i>- Les maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur.</i>	
Maladie d'Alzheimer.	<i>(Favier, 2006) (Gilbert et al., 2013)</i>
Stérilité masculine.	<i>(Haiba et al., 2014)</i>
Rhumatismes.	<i>(Afonso et al., 2007)</i>
Asthmes.	<i>(Andrianjafimasy, 2020)</i>
<i>- Les maladies entraînant un stress oxydatif secondaire.</i>	
Diabète sucré.	<i>(Delattre et al., 2001) (Kabamba et al., 2014)</i>
Insuffisance rénale.	<i>(Tbahriti et al., 2014)</i>
Maladie de parkinson.	<i>(Jenner, 2003)</i>
Anémie drépanocytaire.	<i>(Hierso, 2015)</i>
Emphysème (BPCO).	<i>(Koechlin-Ramonatxo, 2006)</i>
Cardiogénèse.	<i>(Klaunig & Kamendulis, 2004)</i>
<i>-Les maladies où le stress oxydatif joue un rôle complexe.</i>	
Athérosclérose.	<i>(Beaudeau et al., 2006) (Bonnefont-Rousselot et al., 2002)</i>
Lésions de respiration post-ischémique.	<i>(Beray-Berthat, 2003) (Pucheu, 1994)</i>
Arthrite rhumatoïde.	<i>(Khither, 2019)</i>
Neurodégénérative.	<i>(Emerit et al., 2004)</i>
Huntington.	<i>(Browne et al., 1999)</i>

9. Détection du stress oxydant chez les patients

Différentes méthodes utilisées pour évaluer le stress oxydatif dans l'organisme comprennent des mesures directes telles que la chimiluminescence et la résonance paramagnétique électronique, ainsi que des mesures indirectes utilisant des marqueurs immunohistochimiques. Les marqueurs d'oxydation lipidique tels que le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE), les isoprénones et les anticorps anti-LDL oxydés sont utilisés. Les marqueurs d'oxydation protéique incluent les protéines carbonylées comme la bityrosine, la L-Dopamine et l'orthotyrosine. Les marqueurs d'oxydation nucléique comprennent l'8-OHdG. Pour évaluer les antioxydants, on mesure le statut antioxydant total (SAT), les vitamines, les enzymes et les oligoéléments. La méthode du

Trolox équivalent antioxydant capacité (TEAC) est utilisée pour mesurer l'activité antioxydante totale, tandis que la quantification des enzymes comprend la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase. La quantification des oligoéléments utilise la spectrométrie d'absorption atomique. (*Bensakhria, 2018*)

Section 2 :

*L'inflammation : Processus dynamique
de la réponse immunitaire*

1. Définition

L'inflammation est un processus immunitaire bénéfique qui vise à éliminer les agents pathogènes, qu'ils proviennent de l'intérieur ou de l'extérieur du corps. *(Marie-Céline Ray, 2016)*

Elle peut être déclenchée par plusieurs facteurs tels que les infections causées par des micro-organismes comme les bactéries, les virus et les parasites, les lésions physiques telles que les traumatismes, les variations de température et les radiations, ainsi que les altérations tissulaires telles que la nécrose ischémique et les réactions immunitaires comme les débris cellulaires, les allergènes et les greffes. *(Rousselet et al., 2005)*

Les symptômes cliniques courants de l'inflammation incluent une chaleur locale et une douleur. *(Dr Anne-Christine Della Valle, 2019)*

2. Catégories d'inflammation

Il y'a deux types principaux d'inflammation : l'inflammation aigue et l'inflammation chronique :

2.1 L'inflammation aigue

Est une réponse immédiate de l'immunité inné *(Calder, 2013)*, qui permet la défense l'organisme et le maintien de l'homéostasie *(Fourrier, 2016)*, ses principales caractéristiques incluent l'exsudation de liquides et protéines plasmatiques (œdème) ainsi que la migration des leucocytes (principalement des neutrophiles) des vaisseaux sanguins vers le site inflammatoire (tissus blessé). *(Raghavendra et al., 2015)*

Les premiers symptômes perceptibles de l'inflammation aigue sont la rougeur, la chaleur, la douleur et œdème. *(Paul-Eduard Neagoe, 2021)*

2.1.1. Les différentes phases de l'inflammation aigue

L'inflammation aigue se compose de trois étapes distinctes, la première phase appelée :

➤ La phase vasculaire

La phase initiale de l'inflammation se caractérise par une brève vasoconstriction artériolaire de quelques secondes, ce qui entraîne l'activation des plaquettes et la synthèse de thromboxane A2. Cette substance joue un rôle dans l'agrégation plaquettaire et la vasoconstriction, limitant ainsi l'entrée de l'agent pathogène dans l'organisme. *(Harambat et al., 2012)*

Cette vasoconstriction est suivie d'une vasodilatation des vaisseaux sanguins au site de l'inflammation, accompagnée d'un œdème et de la migration des cellules inflammatoires vers les tissus. *(Paul-Eduard Neagoe, 2021)*

Cette étape est influencée par des médiateurs tels que l'histamine, la bradykinine, les prostaglandines et le PAF. *(Harambat et al., 2012)*

➤ La phase cellulaire

Environ 6 heures après le début de l'inflammation, les premières cellules à migrer vers la zone inflammatoire sont les polynucléaires. Ensuite, après environ 24 à 48 heures, les mastocytes et les lymphocytes sont également recrutés. Ces cellules se dirigent directement vers la cause de l'inflammation *(Aggarwal et al., 2014)*, guidées par des substances chimiques appelées facteurs chimiotactiques tels que le C3a, le C5a, les cytokines et le PAF. *(Rousselet et al., 2005)* Les polynucléaires phagocytent (ingèrent) et libèrent des enzymes pour détruire l'agent pathogène, tandis que les macrophages sont responsables du nettoyage de la zone inflammatoire et de l'élimination des débris cellulaires et tissulaires. *(Rousselet et al., 2005)*

➤ La phase résolution

Cette phase est caractérisée par la réparation des tissus et la régénération des cellules endothéliales, ainsi que par le remodelage tissulaire. On peut considérer cette étape comme l'intervalle entre l'infiltration maximale des neutrophiles dans les tissus et leur élimination. Les cellules endothéliales contribuent à la réparation de l'endothélium en utilisant diverses molécules telles que la collagénase 1 ou 2. Les macrophages et les fibroblastes jouent également un rôle en produisant de la fibronectine, des laminines et du collagène, qui sont des éléments essentiels pour la reconstruction des tissus. *(Aggarwal et al., 2014)*.

2.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est une forme d'inflammation qui persiste dans le temps, s'étalant sur plusieurs mois voire plusieurs années. *(Nikias Bertrand, 2023)*

Elle survient lorsque l'inflammation aiguë échoue, en raison d'une infiltration excessive de leucocytes sur le site inflammatoire et d'une élimination inefficace de l'agent causal de l'inflammation. *(Rousselet et al., 2005)*

Deux types de circonstance peuvent conduire à l'apparition de l'inflammation chronique *(Fay et al., 2016; Franceschi & Campisi, 2014)* :

Soit une inflammation aiguë évolue en inflammation prolongée subaiguë et chronique lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus.

Soit une inflammation apparemment chronique se manifeste d'emblée, comme c'est le cas pour les affections auto-immunes ou les mécanismes dysimmunitaires prédominants.

Bien que la plupart des caractéristiques de l'inflammation aiguë persistent dans l'inflammation chronique il existe des différences (*Pahwa et al., 2023*) :

La phase 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 tentative de réparation sont également présente. (*Habouche et MIMOUNE, 2019*)

Les macrophages sont au centre de la réaction inflammatoire chronique, tandis que les lymphocytes et les plasmocytes sont souvent présents, en particulier s'il existe une cause immunitaire à l'inflammation chronique. (*Hajjaj, 2017*)

3. Les cellules immunitaires et l'inflammation

Lors d'une réponse inflammatoire, les cellules inflammatoires sont recrutées vers le site de l'inflammation, où elles s'accumulent et produisent des médiateurs et des effecteurs de l'inflammation.

En plus de cette action, les cellules inflammatoires ont également la capacité d'ingérer les agents pathogènes et de les détruire par phagocytose.

Parmi les cellules inflammatoires impliquées dans cette réponse, on peut citer les neutrophiles, les monocytes, les macrophages, et les cellules dendritiques (*Jean-Marc CAVAILLON, 2023*)

2.1. Les mastocytes

Les mastocytes ont un rôle dans les réactions allergiques et anaphylactiques, et ils sont impliqués dans l'immunité acquise et innée (*Zhang et al., 2011*). Ils se trouvent principalement dans les tissus vascularisés tels que les muqueuses et les épithéliums, étant particulièrement abondants dans les sites exposés à l'environnement, y compris la peau les voies respiratoires et gastro-intestinales.

Les mastocytes s'activent par dégranulation, libérant ainsi des molécules telles que l'histamine, la sérotonine, les protéases, les médiateurs lipidiques, les cytokines et les chimiokines. Ces molécules jouent un rôle dans la réponse immunitaire en activant les cellules B et favorisant la réponse immunitaire humorale (*Piconese et al., 2009*)

2.2. Les monocytes

Les monocytes sont un type de leucocytes présents dans le sang et les tissus lymphatiques. Leur rôle fondamental dans l'immunité consiste à isoler et à engloutir les germes, bactéries, Virus ou autres micro-organismes nuisibles pour le corps. (*Doctissimo, 2022*)

Ils sont équipés de récepteurs de chimiokines et de récepteurs de reconnaissance des agents pathogènes, qui interviennent dans leur migration des vaisseaux sanguins vers les tissus infectés. *(Geissmann et al., 2010)*

2.3. Les macrophages

Les macrophages sont des cellules de l'immunité innée ayant pour propriété d'absorber et de détruire des particules volumineuses, telles que des cellules endommagées, des cellules âgées, mais également des éléments étrangers tels que des bactéries, des virus, des champignons etc., par le biais de la phagocytose. *(Vulgaris-medical 2000-2023, s. d.)*

Dotés de plusieurs récepteurs de surface cellulaire, de médiateurs intracellulaires et de molécules sécrétoires essentielles à la reconnaissance et à la destruction des agents pathogènes, ils jouent un rôle majeur dans la phagocytose des microbes nuisibles. *(Rousselet et al., 2005)*

2.4. Les polynucléaires

2.4.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Également appelées les granulocytes neutrophiles, jouent un rôle primordial lors de la première phase de la réaction inflammatoire. *(Descamps-Latscha & Witko-Sarsat, 1999)* Leur mission principale est de combattre les bactéries en les phagocytant et en les détruisant. Ils peuvent migrer dans les tissus pour atteindre les sites d'infections. *(Dr Claire Lewandowski, 2023)*

Toutefois, une activation prolongée des granulocytes neutrophiles peut entraîner des lésions tissulaires graves, pouvant mener à des maladies inflammatoires aiguës ou chroniques. *(Hurtado-Nedelec et al., 2014)*

2.4.2. Les polynucléaires basophiles (PNB)

Les basophiles sont une catégorie rare de globules blancs dans le sang, représentant environ 1% de leur population totale. Comme les autres types de globules blancs, leur rôle principal est de défendre l'organisme contre les agressions, y compris en participant à la réponse inflammatoire contre les bactéries, les virus, les parasites, etc.

Les basophiles possèdent des récepteurs de haute affinité pour le fragment FC des IgE, qui se trouvent sur leur membrane. Bien qu'ils soient capables de phagocytose, leur fonction essentielle est plutôt sécrétoire. En réponse à différents stimuli tels que des facteurs mécaniques, le froid ou des antigènes chez les sujets allergiques, ils subissent une dégranulation, libérant ainsi leurs granules dans le milieu environnant.

Outre leur dégranulation, les basophiles peuvent également libérer d'autres substances, telles que des amines vasoactives, au niveau du site inflammatoire ou lors d'une réaction d'hypersensibilité immédiate. *(Édit. 2018, s. d.)*

2.4.3. Les polynucléaires éosinophiles (PNE)

Les éosinophiles sont des cellules riches en récepteurs membranaires, ce qui leur permet de détecter et de réagir à une grande variété de signaux cellulaires tels que des cytokines, des chimiokines, des médiateurs lipidiques et des molécules d'adhésion. De plus, ils expriment des récepteurs pour différentes classes d'immunoglobulines, notamment IgE, IgA et IgG, ainsi que des récepteurs TOLL qui les activent et les guident vers les tissus où ils s'accumulent.

Ces cellules éosinophiles sont principalement considérées comme des effecteurs et se retrouvent dans le sang et les muqueuses. *(Denise-Anne Moneret-Vautrin, s. d.)*

2.5. Les lymphocytes

Sont des cellules impliquées dans la défense immunitaire, notamment dans le processus inflammatoire, ils se divisent en trois groupes :

- Les lymphocytes T qui ont un rôle dans l'immunité cellulaire en détruisant les cellules infectées.
- Les lymphocytes B qui produisent des anticorps et détruisent les molécules étrangères à l'organisme. *(Dr Anne-Christine Della Valle, 2022)*
- Les lymphocytes NK, qui sont capables de tuer les cellules tumorales et infectées.

La contribution des lymphocytes dans la défense contre les infections (processus inflammatoire) est prépondérante. *(Narni-Mancinelli et al., 2013)*

2.6. Les plaquettes

Sont des cellules sanguines de petites taille dépourvues de noyau qui circulent dans le sang.

Une fois qu'elles pénètrent dans les vaisseaux sanguins situés dans un foyer inflammatoire, elles s'activent et produisent des médiateurs ayant une activité pro inflammatoire tels que les eicosanoïdes, le thromboxane A-2, le 12-hete et le PAF. *(Futura, 2001)*

En outre, les plaquettes participent aux processus de réparation en produisant des facteurs de croissance comme la fibronectine, le TGFB (facteur de croissance transformant), L'EGF (facteur de croissance épidermique) et le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes).

2.7. Les cellules endothéliales

Sont des cellules qui recouvrent la paroi interne des vaisseaux sanguins, assurant ainsi une interface directe avec le sang et contribuant à l'intégrité des vaisseaux. *(CCM Benchmark, 2022)*

Elles jouent un rôle actif dans la défense de l'organisme contre les agents pathogènes, en recrutant les leucocytes vers les sites infectieux, en libérant des médiateurs inflammatoires, et en favorisant localement la coagulation, limitant ainsi la diffusion hémotogène de l'infection. *(Ait-Oufella et al., 2008)*

2.8. Les fibroblastes

Sont les cellules les plus importantes du tissu conjonctif, responsables de la synthèse des macromolécules protéiques et polysaccharidiques de la matrice extracellulaire (MEC). Ils produisent notamment le collagène et peuvent sécréter de nombreuses autres molécules telles que des cytokines, des facteurs de croissance et des enzymes.

Les fibroblastes sont essentiels dans les processus de réparation tissulaire et contribuent à l'entretien des réactions inflammatoires. *(Vignot et al., 2017)*

3. Les médiateurs d'inflammation

3.1. Les médiateurs cellulaires

3.1.1. Les médiateurs vasoactifs

Les médiateurs vasoactifs de l'inflammation comprennent notamment la sérotonine et l'histamine.

4.1.1.1. La sérotonine

Stockée dans les plaquettes sanguines et les cellules chromaffines de la muqueuse intestinale, stimule les fibres vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales. *(Bounihi, 2016)*

4.1.1.2. L'histamine

Quant à l'histamine, elle est naturellement présente dans l'organisme et joue un rôle physiologique important, mais elle est également largement impliquée dans les processus inflammatoires et allergiques. Elle est principalement stockée dans les mastocytes et les polynucléaires basophiles sous forme de complexes protéiques inactifs liés à l'héparine. *(Anne-Sophie Glover-Bondeau, 2020)* Est libérée lors de la dégranulation des cellules phagocytaires et a des propriétés chimiotactiques pour les phagocytes. *(Bounihi, 2016)*

4.1.2. Les cytokines

Les cytokines sont des petites protéines sécrétées par les cellules en réponse à différents stimuli. Dans le cadre de la réponse immunitaire, elles permettent la communication entre les cellules

immunitaires et l'orientation de la réponse en fonction de la nature du signal détecté. (Katia Mayol, 2021)

Ces cytokines peuvent être divisées en deux catégories : les médiateurs pro-inflammatoires responsables de l'amplification de la réaction (voir tableau 5), et les médiateurs anti-inflammatoires qui conjointement avec les protéines de la phase aiguë aident à la résolution de la réaction inflammatoire et à la restructuration de l'intégrité des tissus (tableau 6). (Revuz, 2009)

Tableau 5 : Médiateur pro-inflammatoire. (AL DeFranco, M Robertson, RM Locksley - 2009 2009)

Médiateur pro inflammatoire		
Cytokine	La source	Principales activités
IL-1	Macrophages, cellules endothéliales, mastocytes.	Augmentation l'adhérence des cellules endothéliales, production des chimiokines.
IL-6	Fibroblastes, macrophages, mastocytes,	Stimulation de recrutement des monocytes, effets systémique
IL-12	Macrophages	Production des IFN-gamma par NK, augmentation de la cytotoxicité des NK.
TNF-alpha	Macrophages, mastocytes.	L'augmentation de la perméabilité vasculaire, activation des phagocytes, cytotoxicité des NK.
IFN-gamma	NK	Phagocytose, et microbicide des phagocytes.

Tableau 6 : Médiateur anti-inflammatoire. (AL DeFranco, M Robertson, RM Locksley - 2009 2009)

Médiateur anti-inflammatoire		
Cytokine	La source	Principale activités
IL-10	Macrophages, cellules T	Diminution de la production des TNF, IL-12, diminution de l'expression de B7 sur les macrophages
TGF-BITA	Macrophages, cellules T	Effet anti-inflammatoire sur les cellules endothéliales, lymphocytes.

3.2. Les médiateurs plasmatiques

3.2.1. Les kinines plasmatiques

Les kinines sont des peptides présents dans le plasma sanguin qui ont des propriétés vasodilatatrices et augmentent la perméabilité des vaisseaux sanguins. Elles stimulent également la

libération de prostaglandines et de bradykinine, cette dernière étant la kinine la plus puissante et active.

La bradykinine peut provoquer une constriction des vaisseaux sanguins, ce qui entraîne une stagnation du flux sanguin au niveau des capillaires. *(Lecomte et al., 1973)*

3.2.2. Le système de complément

Le système de complément fait partie intégrante du système immunitaire inné et exerce plusieurs fonctions de défense d'inflammation et de régénération tissulaire.

Son activation entraîne l'opsonisation des agents pathogènes et leur élimination par phagocytose, ainsi qu'une attraction chimiotactique des phagocytes et des macrophages vers le site d'infection. *(Edimara S. Reis, Dimitrios C. Mastellos, George Hajishengallis & John D. Lambri, 2019)*

3.3. Les médiateurs lipidiques

3.3.1. Les Eicosanoïdes

Les leucotriènes, thromboxanes et prostaglandines sont des substances dérivées de l'acide arachidonique qui ont un rôle essentiel dans la réponse inflammatoire.

Les leucotriènes augmentent la perméabilité des capillaires et attirent les polynucléaires grâce à leur chimiottractivité.

Les prostaglandines, quant à elles entraînent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux de leucocytes, tandis que les thromboxanes stimulent l'agrégation plaquettaire. *(Sanchez-Muñoz et al., 2008)*

4. Les pathologies inflammatoires

Les pathologies inflammatoires sont le résultat d'une réponse anormale du système immunitaire qui peut affecter différents organes et tissus du corps, tels que le système nerveux, digestif, cutané et les articulations.

Ces pathologies inflammatoires sont regroupées en trois catégories distinctes :

- Les maladies auto-inflammatoires.
- Les maladies auto-immunes systématiques et localisées.
- Les affections inflammatoires d'origine indéterminée. *(Dr F. Reynaud, 2018)*

Les maladies auto-inflammatoires monogéniques sont liées à des anomalies génétiques qui affectent les protéines de l'immunité innée. Elles se caractérisent par des épisodes inflammatoires sans présence d'infection, accompagnés d'un syndrome inflammatoire biologique marqué, mais sans la présence d'anticorps circulants.

Parmi les maladies auto-inflammatoires les plus connues, on trouve celles médiées par IL-1, telles que la fièvre méditerranéenne familiale associée aux mutations de NLRP3 et les cryopyrinopathies. *(Georgin-Lavialle et al., 2018)*

Quant aux maladies auto-immunes, elles sont causées par un dysfonctionnement du système immunitaire qui attaque les composants normaux de l'organisme, telles que le diabète de type 1, la sclérose en plaques ou la polyarthrite rhumatoïde. *(Sadallah & Schifferli, 2018)*

5. Les anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires sont destinés à combattre l'inflammation, quelle que soit sa cause. Ces médicaments sont symptomatiques, c'est-à-dire qu'ils ne s'attaquent pas à la cause sous-jacente de l'inflammation mais seulement à ses manifestations.

Il existe deux catégories de médicaments anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

5.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Sont très puissants et inhibent toutes les étapes de la réaction inflammatoire, y compris la vasodilatation, l'œdème et la migration des leucocytes.

Ils agissent en se liant à des récepteurs spécifiques et en induisant la synthèse protéique, comme la licoportine qui inhibe la phospholipase A2. *(Dejean & Richard, 2013)*

Les anti-inflammatoires stéroïdiens inhibent également l'expression de nombreuses protéines pro-inflammatoires telles que les cytokines et les chimiokines, les molécules d'adhésion, le COX-2 et le NO-synthase. *(Devillier, 2005)*

Ils inhibent la maturation des monocytes en macrophages et la migration des polynucléaires éosinophiles *(Dussauze et al., 2007)*.

Cependant, l'administration prolongée de ces médicaments peut réduire la défense de l'organisme et provoquer des perturbations et endocriniennes. *(Henzen 2003 ; Strehl, Spies, et Buttgereit 2011)*

5.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont une classe de médicaments qui agissent en bloquant la production de prostaglandines, des substances impliquées dans les processus inflammatoires. Ces médicaments sont largement utilisés pour leur efficacité dans le soulagement de la douleur, la réduction de fièvre et l'atténuation de l'inflammation à des doses plus élevées. (**Bien utiliser les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), s. d.**) Cette triple action est due à leur capacité à inhiber les enzymes COX1 et COX2.

La COX1 est une enzyme constitutive qui joue un rôle régulateur dans plusieurs processus physiologiques tels que la protection gastrique, la coagulation sanguine, l'homéostasie vasculaire et la fonction rénale.

En revanche, la COX2 est une enzyme inductible dont la production est stimulée par des molécules inflammatoires telles que le TNF-alpha et l'IL-1, pour réduire les effets secondaires associés à la prise d'AINS, des médicaments plus sélectifs de la COX2 appelés coxibs, ont été développés.

Toutefois, il convient de noter que ces médicaments peuvent avoir des effets indésirables, notamment sur le système cardiovasculaire. (**Tréchet & Jouzeau, 2014**)

5.3. Les anti-inflammatoires végétales

Les plantes ont longtemps été utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies inflammatoires. Les composés actifs présents dans les plantes sont de nature chimique variée, et des recherches ont montré que les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Ces propriétés sont liées à leur capacité à influencer le fonctionnement du système immunitaire en agissant sur différents mécanismes cellulaires dans différents modèles d'inflammation. (**Benkhaled, 2019**)

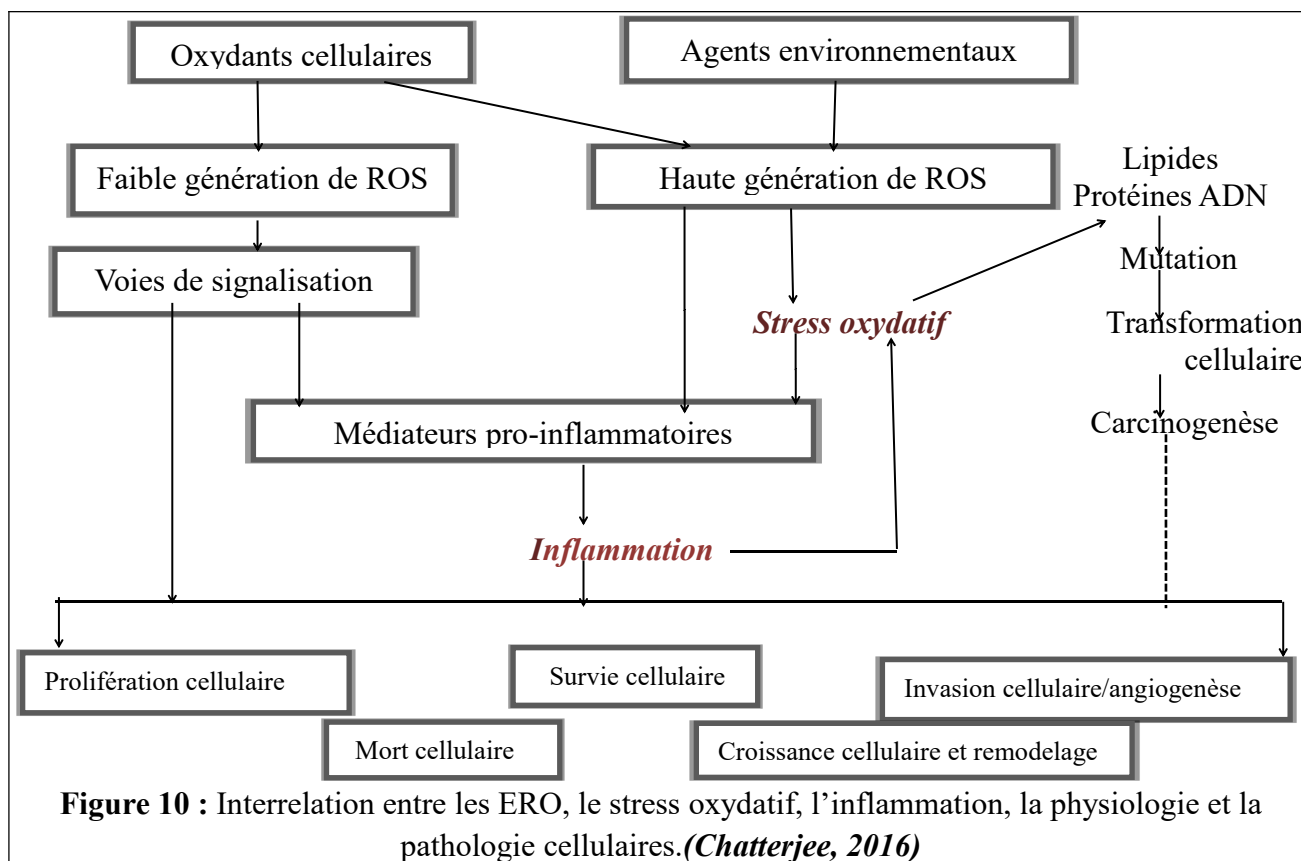
Section 03 :

*Relation entre inflammation et
stress oxydatif.*

1. Introduction

L'inflammation et le stress oxydatif sont étroitement liés et contribuent tous deux au développement de nombreuses maladies. **(Biswas, 2016)** Les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) jouent un rôle clé dans l'inflammation. Les ROS produits pendant la réponse inflammatoire aident à éliminer les agents pathogènes, mais s'ils persistent pendant de longues périodes, ils peuvent favoriser le stress oxydatif et les maladies chroniques liées à l'inflammation. À leur tour, les processus inflammatoires peuvent également causer des dommages oxydatifs. Certains de ces dommages sont irréversibles, tandis que d'autres sont réversibles et peuvent initier des cascades de signalisation appelées "signalisation redox". **(Chatterjee, 2016)**

Cependant, l'échec des essais cliniques sur les antioxydants peut être attribué à l'incapacité de cibler spécifiquement à la fois l'inflammation et le stress oxydatif, à l'utilisation simultanée d'agents antioxydants et anti-inflammatoires ou à l'utilisation d'agents non sélectifs qui peuvent bloquer certaines voies tout en exacerbant d'autres. Les chercheurs ont donc entrepris de réexaminer les bases du stress oxydatif et de l'inflammation, ainsi que leur relation et leur dépendance, afin de mieux comprendre ces processus et de développer de nouvelles approches thérapeutiques. **(Biswas, 2016)**



1. ROS et stress oxydatif : activateurs inflammatoires.

2.1. Facteurs de transcription pro-inflammatoires

Les facteurs de transcription redox-sensibles, tels que le facteur nucléaire kappa B (NF-KB), sont généralement inactifs et localisés dans le cytoplasme de la cellule, liée à une protéine inhibitrice appelée (IKB). Lorsque l'IKB est phosphorylée par une sérine kinase appelée inhibiteur de la NF-KB kinase (IKK), elle se dégrade, libérant ainsi le NF-KB qui peut alors se transloquer dans le noyau de la cellule. Là, soit seul, soit en combinaison avec d'autres facteurs de transcription, il peut induire l'expression de plusieurs gènes codant pour des protéines inflammatoires. Des études montrées que l'activation de NF-KB nécessite des espèces réactives de l'oxygène (ERO) provenant de sources endogènes ou exogènes. Le peroxyde d'hydrogène est la principale espèce réactive de l'oxygène qui active ce facteur de transcription. (*Chatterjee, 2016 ; Bonizzi et al., 1999 ; Li et al., 2006*) (*Biswas, 2016*)

Il a également été démontré que la modification des bases de l'ADN induite par les ROS peut induire une inflammation. La réparation par excision de la base d'une base d'ADN endommager/modifiée par oxydation (7,8 dihydro-8-oxoguanine) par la 8-oxoguanine-ADN glyoxalase-1 induit une cascade de signalisation qui aboutit à l'activation de la voie NF-KB, entraînant l'expression de gènes pro-inflammatoires et de facteurs inflammatoires et l'accumulation de cellules inflammatoires. (*Biswas, 2016*)

La famille de facteurs de transcription nucléaire appelée "facteur nucléaire des lymphocytes T activés" (NFAT) régule la croissance et la différenciation musculaires, la formation de cytokines, l'angiogenèse et d'autres processus. NFAT est activé par la phosphatase calcineurine, qui est à son tour activée par des niveaux élevés de calcium intracellulaire. Divers ROS/métaux sont connus pour augmenter le calcium intracellulaire et cela peut représenter un mécanisme probable par lequel les métaux activent NFAT. (*Valko et al., 2007*)

Outre le NF-KB, 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), la B-caténine/Wnt et facteur nucléaire comme 2 (Nrf-2), ont également été observés comme étant régulés par les ROS. L'activation se produit principalement via leur libération d'une translocation complexe et subséquente dans le noyau où il peut activer l'expression de gènes spécifiques qui ont des sites de liaison à l'ADN pour le facteur de transcription dans sa région promotrice. Ces facteurs de transcription peuvent modifier des certaines de gènes 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.

Les cytokines sont des médiateurs de l'inflammation. Elles se lient à leurs récepteurs respectifs et initient la production de ROS ou activent des kinases ou des facteurs des transcriptions qui conduisent à l'induction d'autres signaux inflammatoires. Les chimiokines d'un poids moléculaire faible (7-15 KDa), sont une sous-classe de cytokines qui se lient à leurs récepteurs respectifs. Certains d'entre eux sont libérés au site de l'infection et entraînent une réaction inflammatoire. Dans l'ensemble, les cytokines et les chimiokines induisent le recrutement de sous-ensembles bien définis de cellules immunitaires telles que les leucocytes, les neutrophiles, les polymorphonucléaires (PMN), les macrophages, les cellules dendritiques (*Chatterjee, 2016 ; Espinosa-Diez et al., 2015 ; Rahman et al., 2004 ; Teissier et al., 2004 ; Verstrepen & Beyaert, 2014*)

2.2. Récepteur et non-récepteur tyrosine kinase

Diverses cytokines et facteurs de croissance se lient à des récepteurs différents ont été rapportés pour induire la production de ROS dans les cellules non phagocytaires. Les récepteurs de Facteurs de croissance sont des tyrosines kinases (RTK) qui jouent un rôle clé dans la transduction du signal extracellulaire vers le cytoplasme et le noyau. Ces signaux sont transmis via l'activation des voies de signalisation des protéines kinases activées par des mitogènes (MAPK). La production de ROS suite à l'activation des récepteurs de facteurs de croissance inclut le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF), le récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), et le récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF). (*Valko et al., 2007 ; Mulder, 2000 ; Neufeld et al., 1999*)

En plus des récepteurs tyrosine kinase, plusieurs protéines kinase non-récepteurs (PTK) appartenant à la famille Src kinases et Janus kinase (JAK) sont également activées par ROS. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène et le radical superoxyde induisent la phosphorylation de la tyrosine de plusieurs PTK dans différents types de cellules, y compris les fibroblastes, les lymphocytes T et B, les macrophages et cellule myéloïdes. La Src activée se lie aux membranes cellulaires par myristylation et active les voies de signalisation MAPK, NF- κ B et PI3K (voir la figure 14). (*Valko et al., 2007 ; Abe & Berk, 1999*)

2.3. Inflammasome NLRP3

L'inflammasome NLRP3 est une structure multiprotéique impliquée dans le processus inflammatoire. Il s'agit d'un complexe formé par le récepteur NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain-containing 3) et d'autres protéines, telles que l'ASC (Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) et la caspase-1. L'inflammasome NLRP3 est activé en réponse à divers signaux de stress, tels que les dommages cellulaires, les infections ou les substances étrangères. Son

activation conduit à la maturation et à la libération de cytokines pro-inflammatoires, comme l'interleukine-1 β (IL-1 β), et contribue ainsi à la réponse inflammatoire. L'inflammasome NLRP3 est associé à plusieurs maladies inflammatoires et chroniques, et son dysfonctionnement peut avoir des conséquences néfastes sur la santé. (*Chatterjee, 2016 ; Zhou et al., 2010, 2011*)

2.4. Le 8-isoprostane

Le 8-isoprostane, produit final de l'acide arachidonique appartenant aux isoprostanes F2 et marqueur du stress oxydant, s'est avéré augmenter l'expression de la chimiokine inflammatoire IL-8 dans les macrophages humains par l'activation de protéines kinases activées par des mitogène (MAP kinase).(*Biswas, 2016*)

2.5. Les protéines tyrosine phosphatases PTP

Les protéines tyrosine phosphatases (PTP) sont probablement les cibles directes les mieux caractérisées des ROS. L'inactivation réversible des PTP par les ROS joue un rôle important dans le contrôle redox et la signalisation cellulaire. Il a été démontré que l'inhibition des PTP par les ROS peut déclencher directement les PTK. Les effets des ROS se produisent en ciblant les résidus de cystéine des sites actifs des phosphatases de tyrosine. Les résidus de cystéine sont les plus susceptibles d'être endommagés par l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène et d'autres oxydants, produisant des intermédiaires d'acide sulfénique qui peuvent réagir avec des thiols pour former des disulfures PTP inactifs sur le plan catalytique. Le radical superoxyde a également été démontré pour réguler l'activité des PTP très efficacement, en particulier PTP-1B via les résidus de cystéine. (*Valko et al., 2007a; Salmeen & Barford, 2005*)

Probablement, l'effet le plus significatif de la rencontre et ROS sur les voies de signalisation a été observé sur les voies de la protéine kinase activée par les mitogènes MAPK, la figure 11 résume l'activation de voies de signalisation MAPK. (*Valko et al., 2007 ; Sun & Oberley, 1996*)

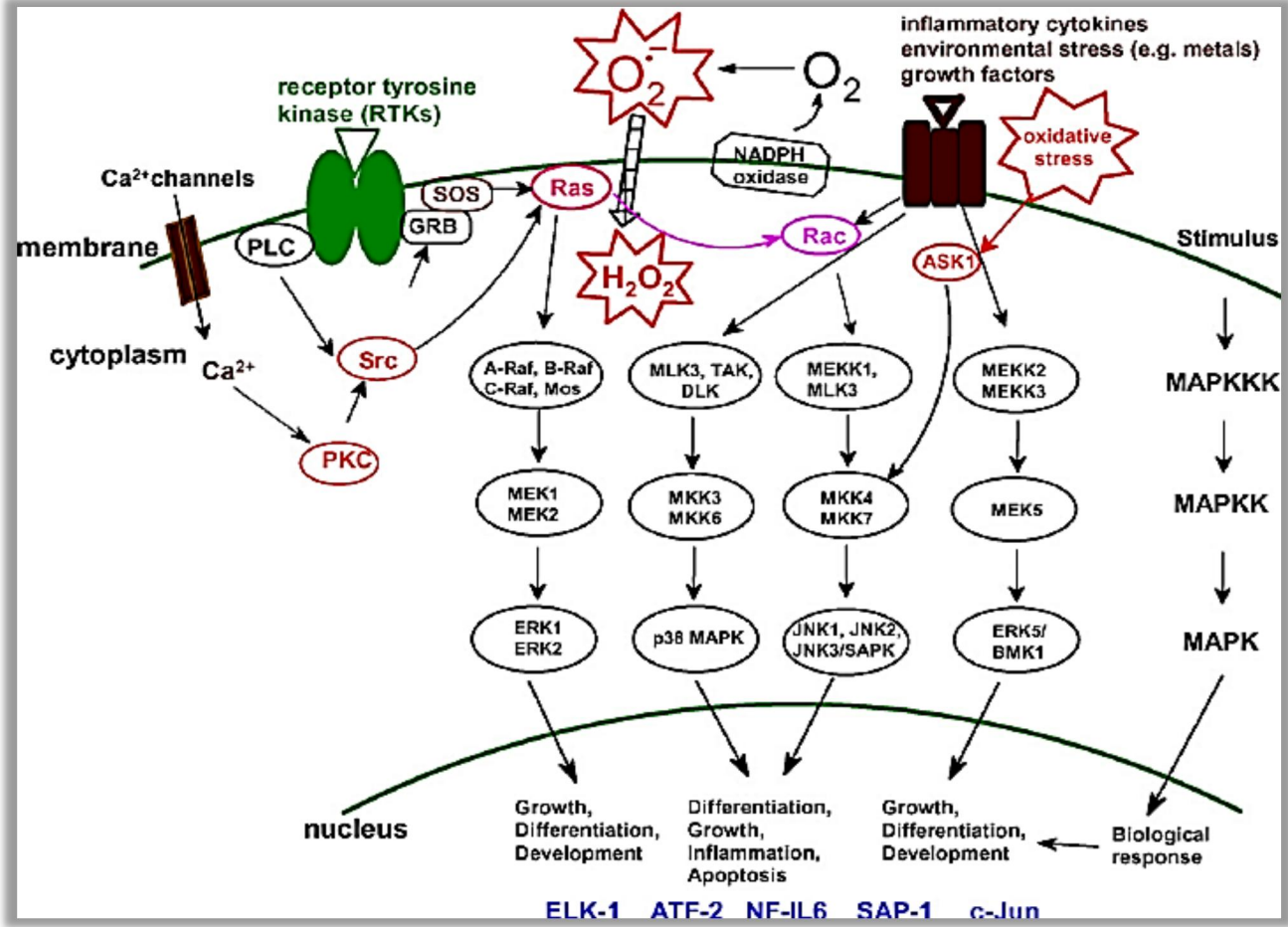


Figure 11 : Voies de signalisation MAPK induites par les ROS. (Valko et al., 2007)

2.6. Toll-like récepteurs

L'activation des TLR (récepteurs Toll-like) joue un rôle important dans l'inflammation déclenchée par le stress oxydatif. Les TLR sont des protéines transmembranaires qui régulent la production de médiateurs inflammatoires en réponse à des ligands microbiens (PAMPs) ou à des molécules endogènes (DAMPs) libérées lors de conditions de stress oxydatif. Les voies de signalisation TLR induisent des cascades de transduction de signal qui aboutissent à l'activation de facteurs de transcriptions, tels que NF-KB, qui déclenchent la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires. Les protéines de choc thermique (Hsp) sont identifiées comme l'un des premiers DAMPs potentiels à activer la signalisation TLR4-dépendante après un stress oxydatif, et leur mobilisation pourrait représenter un lien entre le stress oxydatif et l'inflammation. (Gill et al., 2010)

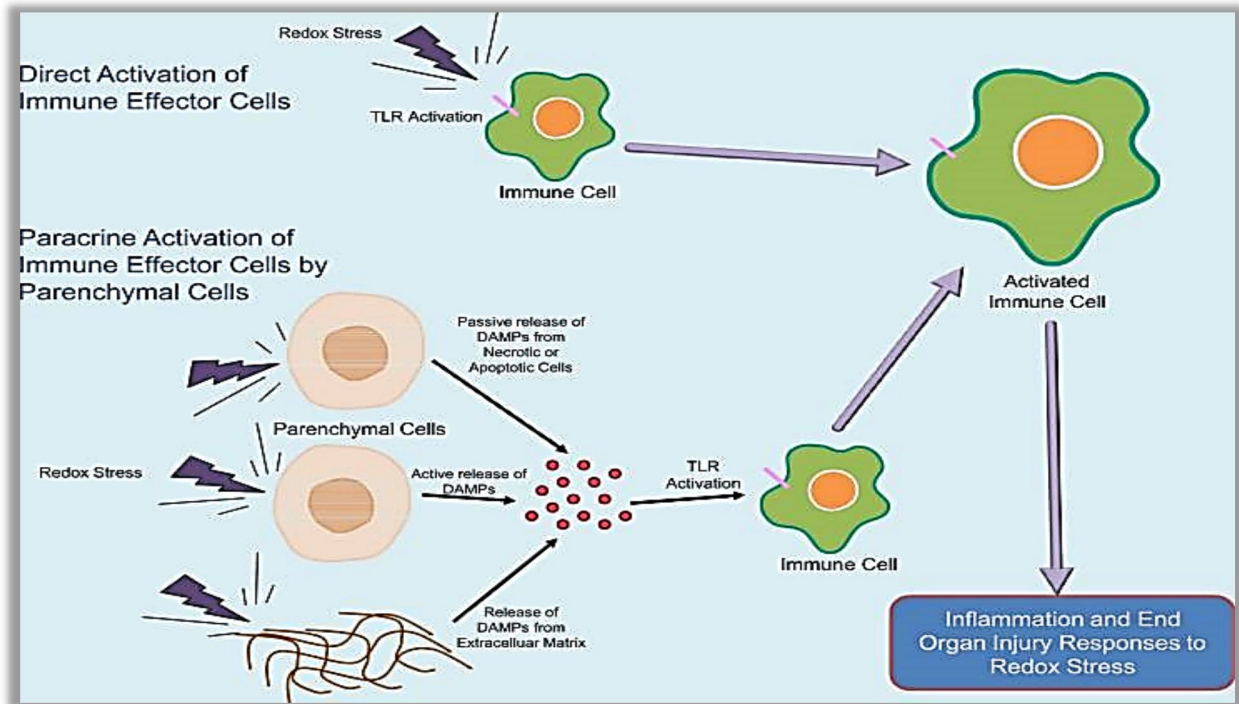


Figure 12 : Modèle proposé de l'activation des TLR par les DAMPs dans les lésions d'ischémie/reperfusion. (Gill et al., 2010)

3. Inflammation : une cause majeure de stress oxydatif

Comme le stress oxydatif peut induire une inflammation, le processus inflammatoire peut également induire un stress oxydatif.

Au cours du processus inflammatoire, les cellules phagocytaires activées, telles que les neutrophiles et les macrophages, produisent de grandes quantités d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) notamment le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, les radicaux libres hydroxyle, l'oxyde nitrique, le Peroxynitrite et l'acide hypochloreux pour tuer les agents envahisseurs.

Dans des conditions inflammatoires pathologiques, il peut y avoir une génération exagérée d'espèces réactives, et certaines de ces espèces réactives peuvent diffuser hors des cellules phagocytaires, induisant ainsi un stress oxydant localisé et des lésions tissulaires.

Cependant, outre la production directe d'espèces réactives par les cellules phagocytaires professionnelles, les cellules non phagocytaires peuvent également en produire en réponse aux cytokines pro-inflammatoires. (Biswas, 2016 ; Fialkow et al., 2007)

Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote générées par les macrophages et les neutrophiles (Figure 13) lorsqu'ils rencontrent un antigène ou un allergène ont montré leur implication dans les troubles du système immunitaire. Ce phénomène de génération de radicaux libres est connu sous le nom de bouffée oxydative, qui est accomplie par l'implication de la NADPH oxydase, présente à la

surface de la membrane des neutrophiles. La NADPH oxydase, qui est une enzyme produisant des oxydants réactifs, ou la synthase d'oxyde nitrique inducible (iNOS) exprimée dans les cellules phagocytaires activées, produisent à la fois des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène, qui sont discutées en détail dans le premier chapitre. (Soomro, 2019 ; Edwards, 2005 ; Heyneman & Vercauteren, 1984)

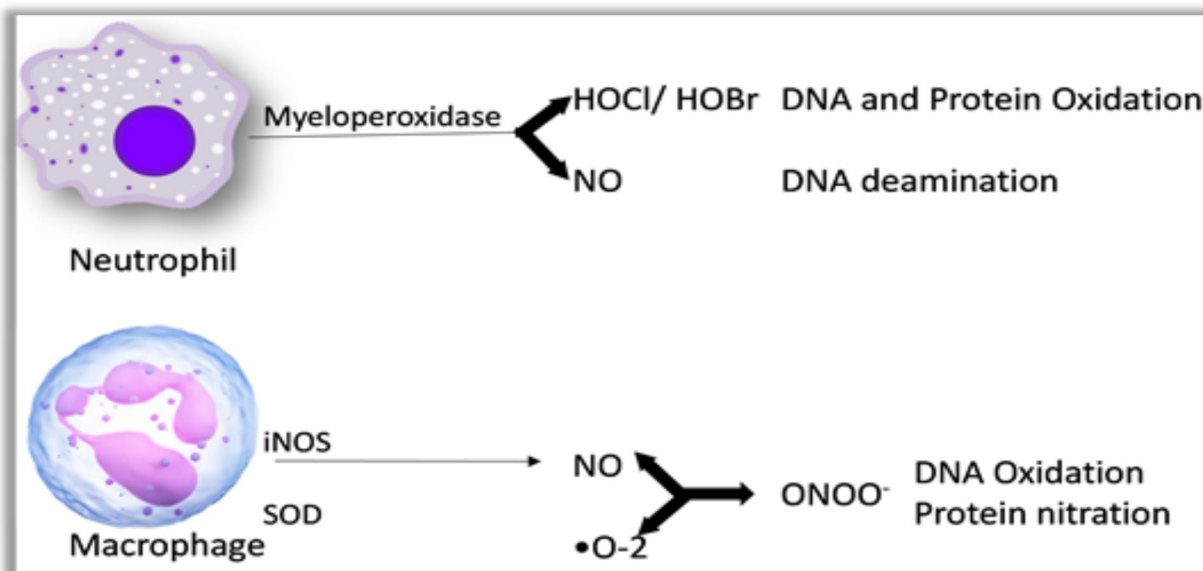


Figure 13 : Espèces radicalaires libres générées lors de l'inflammation. (Soomro, 2019)

La NADPH oxydase est un complexe de protéines qui produit du superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en donnant un électron de NADPH à l'oxygène moléculaire (O_2). Cela déclenche la bouffée respiratoire, une étape clé de la défense immunitaire contre les agents pathogènes bactériens et fongiques. Cependant, la NADPH oxydase peut être activée anormalement lors de l'inflammation, entraînant une production excessive de superoxyde et de H_2O_2 , qui peuvent devenir toxiques en présence de chlore et de la myéloperoxydase. (Soomro, 2019 ; Qin et al., 2004)

La costimulation du TLR produit un stress oxydatif avec un déséquilibre de la production de cytokines pro-inflammatoires. En outre, la cytokine inflammatoire IL-6 s'est avérée produire des ROS par une expression accrue de la NADPH oxydase 4 (NOX4). La surexpression de NOX4 s'est également avérée augmenter la production d'IL-6, et une boucle de rétroaction réciproque positive a été trouvée entre IL-6 et NOX-4, les deux médiateurs de l'inflammation et du stress oxydatif, respectivement. (Biswas, 2016; Lavieri et al., 2014)

Les ROS générés par les cellules inflammatoires stimulent également les voies qui conduisent à l'amplification de l'inflammation. L'activation induite par les ROS des kinases, telles que la protéine kinase C (PKC), la c-jun-N-terminal kinase (JNK) et la protéine kinase activée par le mitogène p38 (MAPK), conduit à l'activation des facteurs de transcription. Ces derniers déclenchent la génération de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines. Une fois déclenchés,

ces cytokines et chimiokines se lient à leurs récepteurs respectifs, tels que les récepteurs dérivés du facteur de croissance épidermique (EGFR), qui sont connus pour générer les ROS. Ainsi les ROS sont à la fois en amont et en aval du cycle inflammatoire.

En plus, de faciliter la production de cytokines telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), les interleukines (IL-1 et IL-6) et les chimiokines telles que les protéines chimiotactiques monocytes-1 et 2 (MCP-1/2), la protéine inflammatoire des macrophages (MIP-1/2) et RANTES (régulé par l'activation normale des cellules T exprimée et sécrétée), l'induction de ROS (via la transcription facteur (NF-KB) stimule également l'expression de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 (PAI-1), du facteur d'inhibition de la migration des macrophages (MIF), de la NOS inductible (iNOS) et des métalloprotéinases matricielles MMP-9 et MMP-2 qui sont tous importants dans le recrutement et l'adhésion de divers sous-ensembles de cellules. (Chapple, 1997 ; Chatterjee, 2016 ; Ferrara et al., 2003 ; Ye, 2009)

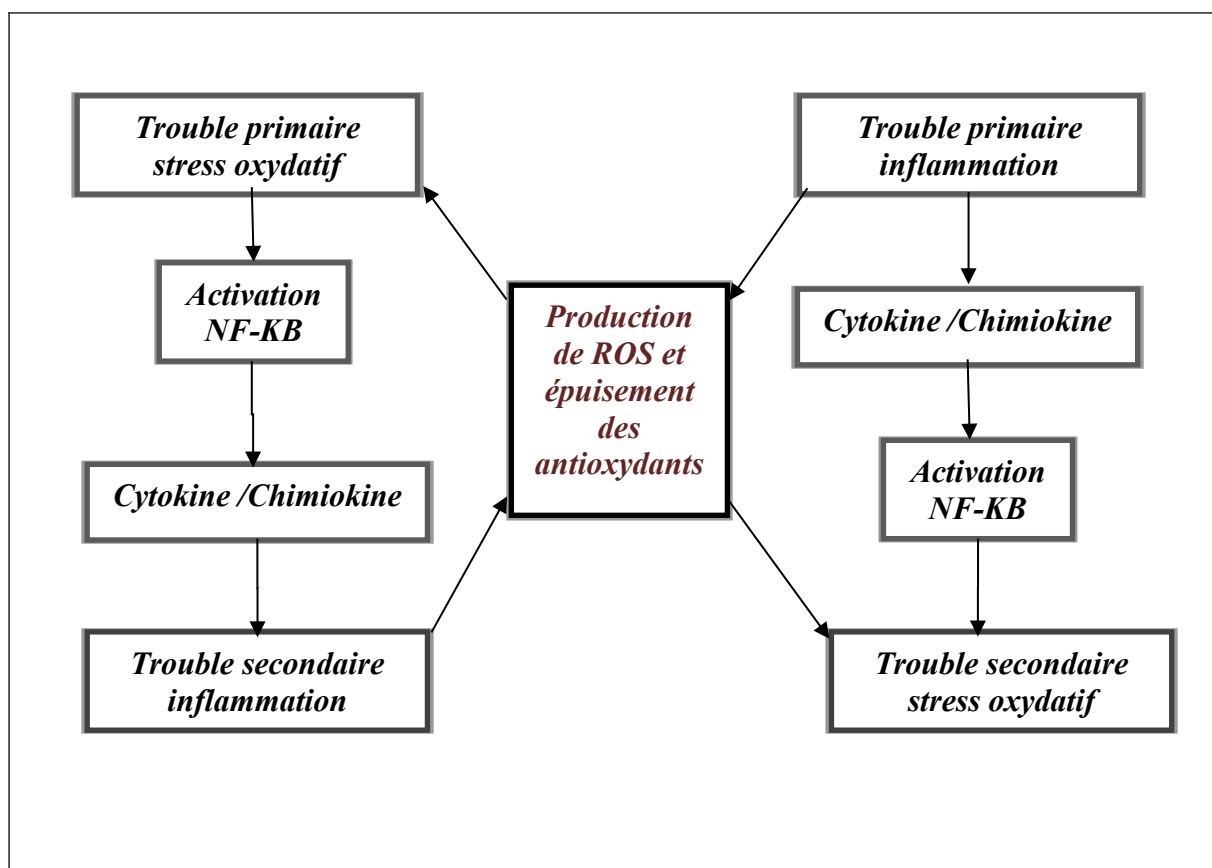


Figure 14 : Vue d'ensemble de l'interdépendance entre le stress oxydatif et l'inflammation. (Lorsque le stress oxydatif apparaît comme un trouble primaire, l'inflammation se développe comme un trouble secondaire et amplifie davantage le stress oxydatif. D'un autre côté, l'inflammation en tant que trouble primaire peut induire le stress oxydatif comme un trouble secondaire qui peut à son tour amplifier l'inflammation). (Biswas, 2016)

4. Stress oxydatif et syndromes inflammatoires chroniques

L'une des observations les plus remarquables concernant le rôle du stress oxydant dans les maladies humaines et son implication commune. Il été maintenant largement admis que le stress oxydant contribue de manière significative à toutes les maladies inflammatoires telles que l'arthrite, la vascularite, la glomérulonéphrite et le syndrome de détresse respiratoire de l'adulte, ainsi qu'aux maladies ischémiques telles que la cardiopathie, l'accident vasculaire, cérébral et l'ischémie intestinale. Le stress oxydant est également impliqué dans des maladies telles que l'hémochromatose, le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), l'emphysème, la transplantation d'organes, les ulcères gastriques, l'hypertension, et la prééclampsie, ainsi que dans des maladies neurologiques telles que la sclérose en plaques, la maladie d'Alzheimer, la maladie de parkinson, et bien d'autres. (McCord, 2000)

4.1. Maladies vasculaires

L'endothélium normal possède des propriétés anticoagulantes et anti-inflammatoires, et favorise la vasodilatation par la production d'oxyde nitrique (NO), de prostacycline et d'autre vasodilatateurs.

Dans diverses maladies, l'endothélium peut devenir dysfonctionnel, favorisant la thrombose et perdant son influence vasodilatatrice. Un mécanisme majeur responsable d'un dysfonctionnement endothélial est la production excessive de ROS (voir figure 15 et 16). Les ROS peuvent altérer la production de NO, stimuler l'expression des gènes pro-inflammatoire et augmenter les mécanismes procoagulants endothéliaux. Il a été démontré que la dysfonction précède les maladies vasculaires et la formation de lésions athérosclérotiques. (Guzik & Harrison, 2006)

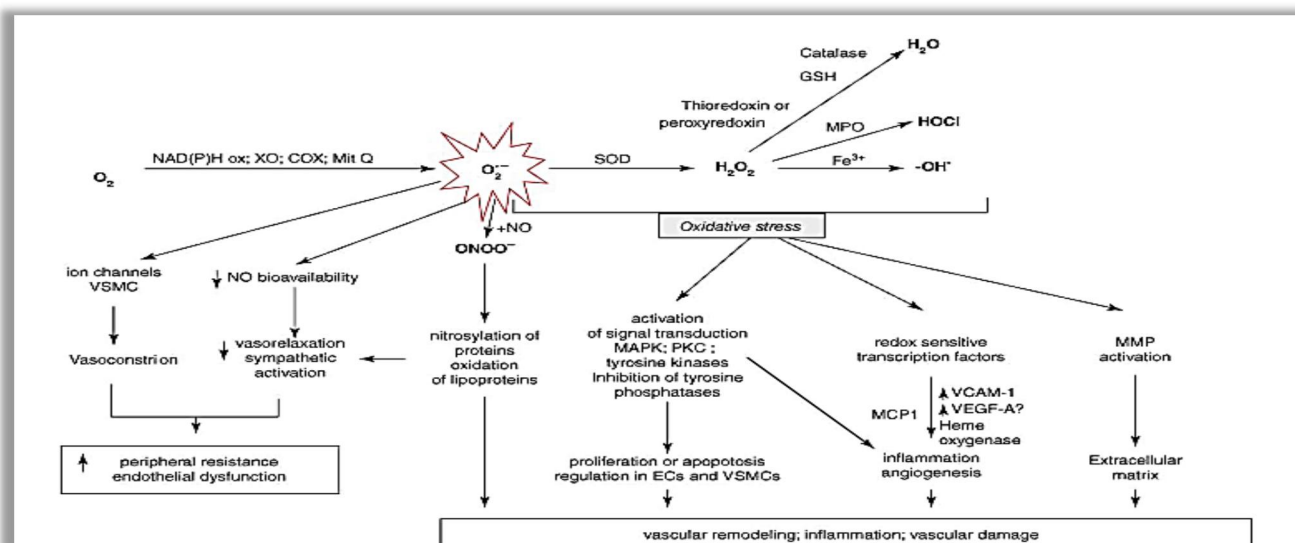


Figure 15 : Les principales espèces réactives de l'oxygène (ERO), leurs interaction et conséquences biologiques. *(Guzik & Harrison, 2006)*

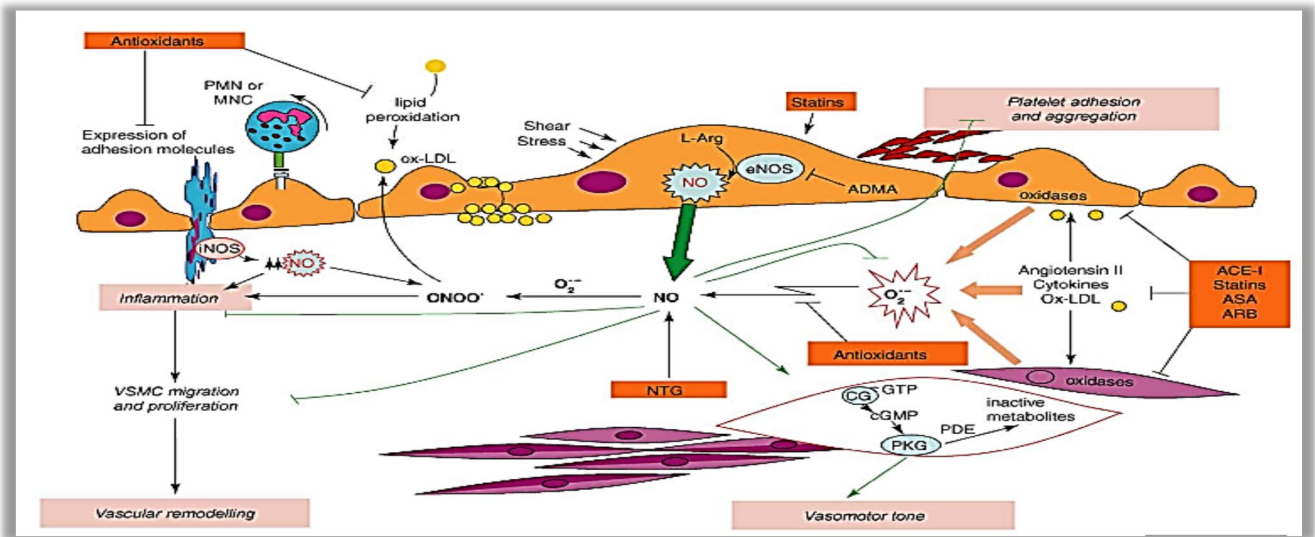


Figure 16 : Interaction oxyde nitrique-superoxyde dans la pathogenèse de l'athérosclérose. *(Guzik & Harrison, 2006)*

Le monoxyde d'azote (NO) joue un rôle crucial dans la régulation de la fonction vasculaire. Il est produit par l'enzyme synthase d'oxyde nitrique endothéliale (eNOS) en réponse à des stimuli physiologiques tels que le flux sanguin ou des substances comme la bradykinine. Le NO présente de nombreux effets bénéfiques, notamment en activant la guanylate cyclase soluble (sGC) et en induisant la relaxation des muscles lisses des vaisseaux sanguins, ce qui régule le flux sanguin et la pression artérielle. De plus, le NO modifie la fonction des canaux ioniques, la signalisation intracellulaire et l'expression des gènes, et inhibe le recrutement de leucocytes et l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. La dysfonction endothéliale, caractérisée par une diminution de la biodisponibilité du NO, peut être causée par divers mécanismes affectant sa production ou sa dégradation. La production excessive de radicaux libres d'oxygène (ROS) est le principal mécanisme conduisant à une diminution des niveaux de NO dans les vaisseaux sanguins. *(Guzik & Harrison, 2006; Fridovich, 1995)*

Plusieurs mécanismes peuvent altérer la biodisponibilité du NO par le biais des ROS. Tout d'abord, le superoxyde réagit rapidement avec le NO pour former le peroxyde de nitrite, un puissant oxydant, ce qui est particulièrement important dans les conditions conduisant à la dysfonction endothéliale. Deuxièmement, les ROS peuvent oxyder le cofacteur tétrahydrobioptérine (BH₄) nécessaire à la synthèse du NO par l'eNOS, conduisant à une production d'oxyde nitrique induisant la production de superoxyde plutôt que de NO. Troisièmement, les ROS peuvent altérer la production de NO en oxydant le centre zinc-thiolate de l'eNOS. Quatrièmement, l'interaction entre le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et la myéloperoxydase (MPO) peut également affecter la

disponibilité du NO. Enfin, les ROS peuvent perturber les actions du NO sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins en bloquant l'activation de SERCA et en augmentant les niveaux de calcium intracellulaire, ce qui altère la relaxation vasculaire et la fonction endothéliale. (*Guzik & Harrison, 2006 ; Laursen et al., 1997 ; Adachi et al., 2004 ; Mugge et al., 1991 ; Ohara et al., 1995 ; Zou et al., 2002*)

4.2. Néphropathie diabétique

Le stress oxydatif joue un rôle clé dans le développement de la néphropathie diabétique. Il est causé par des altérations de l'équilibre redox résultant de l'hyperglycémie persistante et de l'augmentation des produits finaux de glycation avancée (AGEs). Ces facteurs affectent le système rénine-angiotensine et le signal du facteur de croissance transformant bêta (TGF β), entraînant une inflammation chronique, une hypertrophie glomérulaire et tubulaire, ainsi qu'une fibrose rénale caractérisée par l'accumulation de cellules mésangiales, le dépôt de la matrice extracellulaire (MEC) et des altérations des membranes tubulaires et glomérulaires, des podocytes et de l'apoptose. Ces dysfonctionnements redox conduisent à des manifestations telles que l'albuminurie, la protéinurie, la glomérulosclérose et la fibrose tubulo-interstitielle. (*Miranda-Díaz et al., 2016; Manda et al., 2015*)

Le stress oxydatif agit comme un déclencheur, un modulateur et un lien dans les mécanismes pathologiques de la néphropathie diabétique. Les marqueurs classiques du stress oxydatif sont fréquemment présents dans le sérum, l'urine et divers organes de patients atteints de cette maladie, notamment les produits de peroxydation des lipides et les groupes carbonyles des protéines. (*Miranda-Díaz et al., 2016; Tucker et al., 2015*)

L'interaction entre les produits finaux de glycation avancée (AGEs) et leurs récepteurs (RAGEs) induit la production intracellulaire de radicaux libres d'oxygène, déclenchant des réponses inflammatoires et profibrotiques. Les AGEs et les RAGEs peuvent également s'auto-induire, contribuant ainsi à la détérioration rénale. Il est essentiel de tenir compte du facteur d'âge, car il active des cascades pathologiques, soulignant l'importance d'une approche préventive et thérapeutique précoce de la néphropathie diabétique, axée non seulement sur le contrôle glycémique, mais aussi sur la limitation du stress oxydatif et de la formation d'AGEs. (*Miranda-Díaz et al., 2016 ; Bohlander et al., 2005*)

4.3. Maladie d'Alzheimer

Comme dans d'autres systèmes organiques, les cellules du cerveau sont soumises à un stress oxydatif et métabolique cumulatif, qui peut être une caractéristique universelle du processus de vieillissement et un facteur causal majeur du vieillissement. En raison de sa composition riche en

acides gras insaturés facilement oxydables, de sa consommation élevée d'oxygène et de sa relative pauvreté en enzymes antioxydantes par rapport à d'autres organes, le cerveau est particulièrement vulnérable aux dommages causés par les radicaux libres..(Nunomura et al., 2006)

Les dommages oxydatifs jouent un rôle dans la maladie d'Alzheimer. Lorsque les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou les espèces réactives de l'azote (RNS) réagissent avec les biomolécules, des dommages oxydatifs ou nitrosatifs se produisent, qui peuvent être détectés en mesurant des produits spécifiques résultant de ces dommages. Dans les cerveaux des personnes atteintes de prédisposition à la maladie d'Alzheimer (PCAD) et d'Alzheimer, les niveaux de dommages oxydatifs à différentes molécules sont augmentés. Par exemple, les niveaux de carbonyles de protéines (PC) sont élevés dans les régions riches en plaques séniles contenant des peptides bêta-amyloïdes (A β), mais ils sont normaux dans les régions du cerveau sans plaques riches en A β . Même chez les patients atteints de déficit cognitif léger amnésique (MCI), les dommages oxydatifs sont significativement élevés, avec des niveaux élevés de PC dans le cerveau ou le liquide céphalorachidien (LCR).

L'augmentation de la peroxydation lipidique est également confirmée dans les cerveaux ou le LCR de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, du MCI et dans les hippocampes de personnes prédisposées à la maladie d'Alzheimer, avec des niveaux accrus d'hydroxy-2-nonenal conjugué à la protéine (HNE), de F2-isoprostanés et de F4-isoprostanés. Des niveaux élevés de 3-nitrotyrosine (3-NT) sont également observés, suggérant des processus de stress oxydatif et nitrosatif. (**Butterfield & Halliwell, 2019 ; Cecchi et al., 2002 ; Coyle & Puttfarcken, 1993 ; Halliwell & Gutteridge, 2015 ; Nunomura et al., 2004 ; Saunders et al., 1993**)

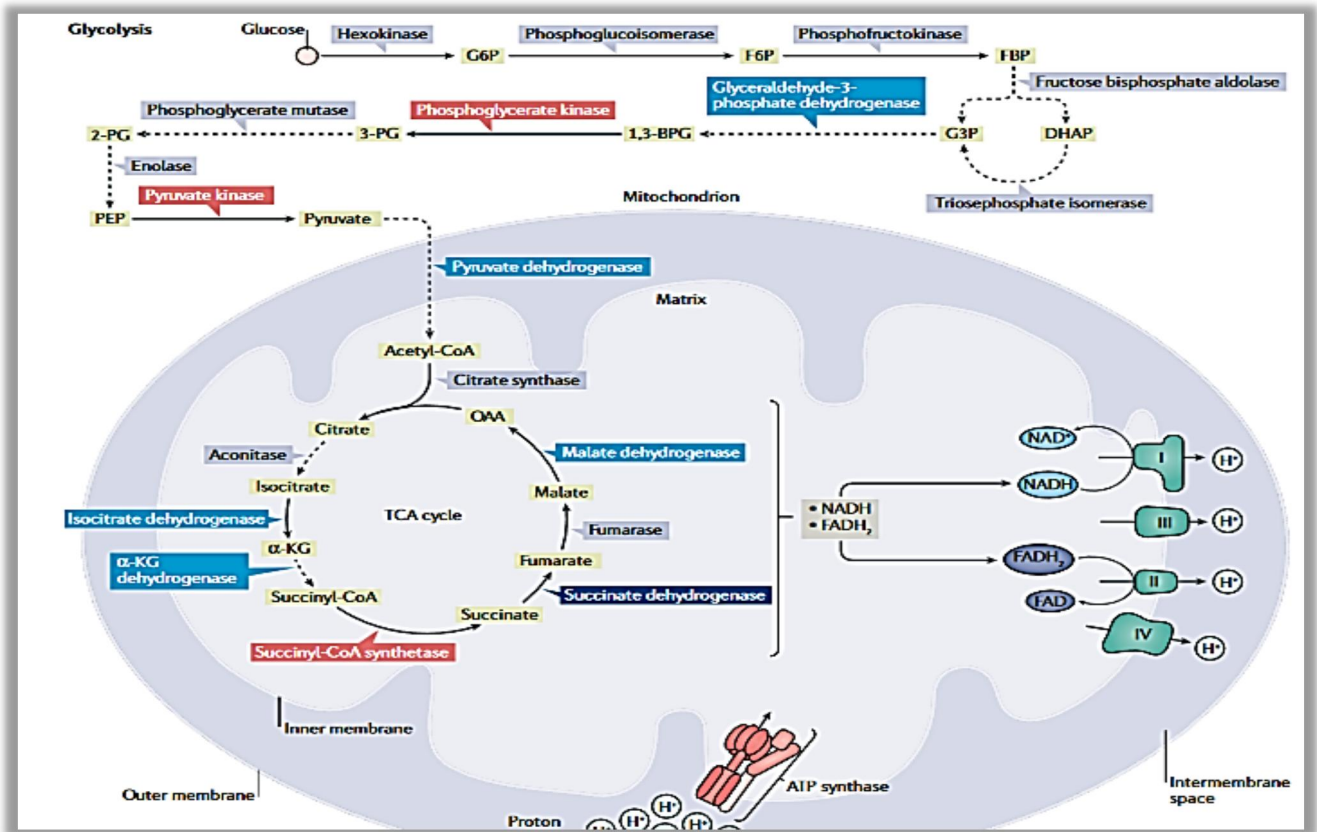


Figure 17 : Catabolisme du glucose et de la synthèse de l'ATP et de leur dysfonctionnement oxydatif dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer (AD) et du trouble cognitif léger amnésique. (*Butterfield & Halliwell, 2019*)

4.4 Les troubles cérébraux

Le stress oxydatif joue un rôle pathogène dans les maladies inflammatoires chroniques, et il est associé à des dommages tels que les protéines oxydées, les produits glyqués et la peroxydation lipidique. Ces altérations sont principalement observées dans les troubles cérébraux, entraînant des dégénérescences neuronales.

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées dans les tissus cérébraux peuvent affecter la communication synaptique et non synaptique entre les neurones, ce qui conduit à une neuroinflammation, la mort cellulaire, et ultimement à une neurodégénérescence et à une perte de mémoire. (*Hussain et al., 2016 ; Popa-Wagner et al., 2013*)

➤ **CHAPITRE 2**
PROCEDURE EXPERIMENTALE
(Matériel et méthode)

1. Matériels

1.1 Matériel végétal

Le choix d'une plante du genre *Linum* pour mener une étude phytochimique et évaluer son activité biologique est motivé par plusieurs raisons. Tout d'abord, les plantes de ce genre sont connues pour leur richesse en composés chimiques naturels, tels que les flavonoïdes (*Tutin et al., 1976*), les lignanes et les acides phénoliques (*Chabaud, 2015*). Ces composés ont démontré des propriétés pharmacologiques intéressantes, notamment des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, et anticancéreuses (*Bruneton J, 1999*).

De plus, le genre *Linum* comprend différentes espèces qui présentent une variabilité importante dans leur composition chimique. Cela offre une opportunité de sélectionner une espèce spécifique qui pourrait contenir des composés d'intérêt pour l'étude en question.

En outre, certaines plantes de ce genre, telles que le lin (*Linum usitatissimum*), sont largement utilisées dans l'alimentation humaine et possèdent des propriétés bénéfiques pour la santé, notamment en raison de leur teneur élevée en acides gras oméga-3 et en fibres alimentaires (*McDill, 2009*).

En résumé, le choix d'une plante du genre *Linum* pour une étude phytochimique et d'évaluation d'activité biologique repose sur sa richesse en composés bioactifs, sa diversité chimique et son potentiel pour fournir des produits naturels ayant des applications dans le domaine de la santé et de la médecine.

1.1.1. Présentation de linum (lin)

Tableau 7 : Présentation du linum. (Iris MAKOTO .2023)

<i>N. scientifique</i>	<i>Linum</i>
Famille	<i>Linacées</i>
Floraison	Jaune, bleu, rouge, blanc
Type	Fleur
Végétation	Vivace ou annuelle selon les espèces
Feuillage	Caduc
Hauteur	Jusqu'à 60 cm selon les espèces
Plantation	Printemps
Acidité	Neutre

1.1.2. Culture

La culture du lin de printemps est particulièrement vulnérable au stress hydrique dès le début de sa floraison, qui se produit généralement en juin. Par conséquent, il est recommandé d'éviter de planter cette culture sur des sols qui ont tendance à se dessécher rapidement et qui sont peu profonds. Il est préférable de choisir des parcelles qui se réchauffent rapidement au printemps, ce qui favorisera une germination rapide des graines.

En outre, le lin de printemps est une culture peu compétitive et sensible à la concurrence des mauvaises herbes. Les options chimiques pour le désherbage sont malheureusement limitées. Par conséquent, il est fortement conseillé de cultiver le lin de printemps dans des parcelles présentant une faible densité de mauvaises herbes. (*Zoé Le Bihan .2020*)

1.1.3. Description botanique

Le linum, est une plante herbacée annuelle, elle est largement cultivée dans le monde entier pour ses fibres textiles et ses graines oléagineuses. Voici une description botanique détaillée du linum :

- **Apparence générale** le linum présente une tige droite et dressée, atteignant une hauteur allant de 50 centimètres à un mètre. La tige est mince et peu ramifiée, ce qui confère à la plante une apparence élancée.
- **Feuilles** : les feuilles du linum sont nombreuses et disposées de manière alternée le long de la tige. Elles sont sessiles, ce qui signifie qu'elles sont directement attachées à la tige sans pédoncule. Les feuilles sont lancéolées, c'est-à-dire qu'elles ont une forme allongée et étroite, ressemblant à une lance. Elles sont entières, c'est-à-dire qu'elles n'ont pas de dents ou de lobes le long de leurs bords. Les feuilles ont une couleur vert glauque distincte et sont caractérisées par trois nervures longitudinales parallèles.
- **Fleurs** : les fleurs du linum sont de couleur bleu pâle et sont portées par de longs pédoncules. Elles sont arrangées en inflorescences en forme de corymbe, ce qui signifie qu'elles sont regroupées en grappes aplaties à sommet plat ou légèrement convexe. Les fleurs sont légèrement pédicellées, ce qui signifie qu'elles ont de courts pédoncules qui les attachent à l'inflorescence.
- **Graines** : les graines du linum sont de petite taille, brunes et luisantes. Elles sont oblongues, ce qui signifie qu'elles ont une forme allongée avec des extrémités arrondies. Les graines sont aplaties sur les deux faces, ce qui leur confère une apparence légèrement ovale. Elles sont enveloppées d'un épisperme contenant du mucilage, une substance gélatineuse. À l'intérieur de la graine, il y a un embryon contenant de l'huile siccative, qui a la capacité de sécher en formant un film dur et résistant. Les graines de *linum* contiennent également de

l'amidon et d'autres composés qui contribuent à leur composition nutritionnelle. (*Tutin et al.*



1976).

Figure 18 : Fleurs et graines de Lin.

1.1.4. Classification

Le genre *Linum* appartient à la famille des *Linaceae*, qui comprend environ 260 espèces réparties dans deux sous-familles : les *Hugonioideae* et les *Linoideae*. La sous-famille *Linoideae* est la plus étendue, comprenant environ 210 espèces réparties dans huit genres différents, dont le genre *Linum*. Ce dernier est le genre-type de la famille *Linaceae* et compte le plus grand nombre d'espèces (*McDill et Simpson, 2011*).

Les grands clades du genre *Linum* sont généralement identifiés en fonction des études phylogénétiques et de la classification du genre. Deux grands clades sont couramment reconnus dans le genre *Linum* (*McDill et Simpson, 2011*) :





Clade des fleurs bleues : Ce clade regroupe les espèces de *Linum* qui ont principalement des fleurs bleues. Il est généralement subdivisé en sections *Linum* et *Dasylinum*. Les espèces de ce clade partagent des caractéristiques communes telles que des fleurs bleues, des feuilles lancéolées et des tiges droites.

Clade des fleurs jaunes : Ce clade regroupe les espèces de *Linum* qui ont principalement des fleurs jaunes. Il comprend généralement les sections *Cathartolinum*, *Linopsis* et *Syllinum*. Les espèces de ce clade se distinguent par leurs fleurs jaunes et d'autres caractéristiques morphologiques spécifiques.

1.1.5. Quelques espèces de genre linum

Le genre linum compte plusieurs espèces, dont voici quelques exemples :

Tableau 8 : Présentation de quelques espèces de genre linum (*Olivier Filippi 2007 ; Judy Hubert 2022 ; Jean-Paul Peltie s. d. ; Conall 2011 ; Franck Le Driant 2020*)

Les espèces	Type biologique (plante)	Description	Figure
Linum usitatissimum	Annuelle bisannuelle	10 à 60cm, fleur bleu clair. Port dressé.	
Linum strictum	Annuelle	10 à 40 cm, fleur jaune d'or à jaune paille. Port dressé raide en piquet de tente.	
Linum catharticum	Annuelle parfois vivace en climat plus frais	2 à 30 cm ; fleur blanche. Porte lâche plus ou moins mêlé à la végétation.	
Linum narbonense	Vivace	20 à 60cm, fleur bleue. Port dressé raide balancé par le vent.	

1.2. Matériel animale

- Afin d'évaluer l'effet de toxicité par le biais d'un test larvicide, des larves vivantes du ver de farine *Tenebrio molitor* ont été acquises auprès d'un fournisseur d'insectes.
- Cette étude a utilisé des rats mâles de souche *Wister albinos* pour prélever leur sang en vue d'étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro*. Les rats ont été élevés dans l'animalerie du département de biologie animale de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, qui est affiliée à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

1.3. Les réactifs

- Les composés suivants ont été utilisés pour l'extraction : eau distillée, méthanol, acétate d'éthyle, *n*-butanol et chloroforme.
- Les substances suivantes ont été utilisées dans les activités antioxydantes : DPPH, méthanol, ABTS, persulfate de potassium, tampon phosphate, ferricyanure de potassium, TCA, chlorure ferrique (FeCl_3), phénanthroline, nitrate d'argent, citrate trisodique et acide chlorogénique.
- Les composés suivants ont été utilisés lors de l'étude des activités anti-inflammatoires : acide gallique, eau distillée, eau physiologique, tris base ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$), chlorure de sodium (NaCl), tampon phosphate salin (0,9% et 0,36%).
- Les éléments suivants ont été utilisés pour les activités enzymatiques : enzyme alpha-amylase, amidon (0,1%), HCl, solution IKI, tampon phosphate, NaCl.
- Le méthanol a été utilisé pour l'effet de toxicité.
- Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante, les standards suivants ont été utilisés : alpha-tocophérol, BHA, BHT, Trolox et acide ascorbique. Pour les tests de l'activité anti-inflammatoire, les standards utilisés étaient l'acide gallique et le diclofénac.

1.4. Les appareils

- Evaporateur rotatif
- Balance de précision
- Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- Ampoule à décanté

- Tubes à essais, Eppendorfs et héparinés
- Entonnoir
- Eprouvette
- Bécher
- Spatule
- Pince
- Papiers filtres
- Etiquettes
- Contenants de culture (boîtes en plastiques)
- Milieu de culture (farine d'avions)
- Microplaques
- Spectrophotomètre UV visible
- Spectrophotomètres de microplaques
- Micropipettes
- Ph mètre
- Centrifugeuse avec réfrigérateur
- Bain marie
- Etuve
- Vortex
- Barreau magnétique

2. Méthode

2.1. Préparation des extraits

Ce travail a été réalisé dans deux laboratoires distincts. Le premier est le Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST) et le deuxième est le laboratoire de biochimie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.

2.1.1. Préparation de la plante

Les parties aériennes de la plante du genre *Linum*, telles que les tiges, les feuilles et les fleurs, ont été utilisées pour mener diverses analyses. Ces parties ont été séchées à température ambiante dans un endroit sec, bien ventilé et à l'abri de la lumière directe du soleil. Une fois parfaitement sèches, la plante a été mécaniquement broyée jusqu'à obtenir la quantité nécessaire de matériel végétal requis pour les expériences.

2.1.2. Extraction

2.1.2.1. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une méthode couramment utilisée pour extraire des composés d'une substance solide en les dissolvant dans un solvant liquide. Cette technique implique la mise en contact de la substance solide avec le solvant, ce qui permet la dissolution des composés souhaités dans le solvant.

Le matériel végétal séché a été soumis à une technique de macération. Il a été placé dans un mélange de solvants composé de 70% de méthanol et de 30% d'eau. Cette macération a été réalisée à température ambiante pendant une durée de trois jours afin d'extraire les principes actifs de la plante. Après la période de macération, le mélange a été filtré pour obtenir un macérât homogène, qui a ensuite été laissé à reposer pendant une nuit.

Le filtrat obtenu après le repos a été recueilli dans un ballon à fond rond. Ce ballon a ensuite été placé dans un évaporateur rotatif réglé à 45°C sous pression. Cette étape a permis d'éliminer le système solvant (eau/méthanol) et de concentrer la solution jusqu'à obtenir un extrait brut concentré. Cette étape a été répétée trois fois en ajoutant à chaque fois une nouvelle quantité de solvant (pendant 3 jours pour chaque répétition). La quantité d'extrait brut hydrométhanolique a été mesurée à l'aide d'une méthode de pesée précise. Après avoir été laissé à reposer pendant 24 heures, l'extrait brut hydrométhanolique a été utilisé pour préparer différents extraits organiques en utilisant différentes méthodes d'extraction.

Tableau 9 : Les solvants utilisés dans la macération et leurs propriétés physiques.

<i>-Solvant polaire</i>	<i>-Formule chimique</i>	<i>-Température d'ébullition</i>	<i>-Masse volumique</i>
Méthanol	CH ₃ -OH	65°C	0.791 g.mL ⁻¹
Eau	H-O-H	100°C	1.000 g.mL ⁻¹

2.1.2.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est une technique de séparation des composés chimiques qui sont dissous ou mélangés dans une solution liquide. Elle permet de transférer les composés d'une phase liquide à une autre phase liquide non miscible, en utilisant généralement des solvants appropriés. Cette méthode exploite les différences de solubilité des composés dans les solvants choisis, ce qui permet l'isolement et la purification des composés d'intérêt à partir d'un mélange complexe.

Pour cette extraction, nous avons minutieusement sélectionné quatre solvants présentant des polarités différentes, afin de couvrir une large gamme de composés actifs en fonction de leurs degrés de polarité. Les solvants choisis sont les suivants : l'éther de pétrole, le chloroforme (CHCl_3), l'acétate d'éthyle (EtOAc) et le n-butanol (n-BuOH). Chaque solvant possède des propriétés spécifiques qui peuvent influencer le rendement de l'extraction, comme illustré dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Les solvants des différentes polarités utilisés dans l'extraction liquide-liquide et leurs propriétés physiques.

<i>-Solvant</i>	<i>-Formule chimique</i>	<i>-Température d'ébullition</i>	<i>-Masse volumique</i>
<i>-Solvants apolaires</i>			
Ether d'éthylque	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$	35°C	0.713 g.mL ⁻¹
Chloroforme	CHCl_3	61°C	1.48 g.mL ⁻¹
<i>-Solvants polaires</i>			
Acétate d'éthyle	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-CH}_2\text{-CH}_3$	77°C	0.894 g.mL ⁻¹
N-butanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	118°C	0.810 g.mL ⁻¹

➤ **Phase aqueuse**

Pour obtenir la phase aqueuse, le mélange d'extrait brut a été mélangé avec 100 mL d'eau distillée. Ce processus permet de solubiliser les composés présents dans l'extrait brut et de former la phase aqueuse. Une agitation vigoureuse a été réalisée afin de garantir une homogénéisation adéquate et de favoriser la dissolution complète des composés dans l'eau.

➤ **Extrait d'Ether de pétrole**

Pour extraire les composés solubles dans le solvant éther, 200 mL de ce solvant ont été ajoutés à la phase aqueuse contenue dans une ampoule fermée. Le mélange a été vigoureusement agité, puis régulièrement dégazé pour éliminer l'excès de pression. Ensuite, le mélange a été laissé au repos afin de permettre la séparation et la décantation des deux phases. Cette procédure d'extraction a été répétée trois fois en ajoutant à chaque fois 200

mL d'éther, garantissant ainsi une extraction plus complète des composés solubles dans ce solvant. La phase d'éther obtenue a été récupérée et concentrée à l'aide d'un rotavapeur réglé à 45°C. Parallèlement, la phase aqueuse restante a été soumise à une nouvelle extraction avec un solvant plus polaire.

➤ **Extrait chloroformique**

Pour extraire les composés solubles dans le chloroforme, 200 mL de ce solvant sont ajoutés à la phase aqueuse obtenue précédemment lors de l'extraction avec l'éther. Le mélange est agité puis laissé à décanter, permettant aux deux phases de se séparer distinctement. Une fois la séparation clairement établie, nous récupérons les deux phases séparément. Cette procédure est répétée trois fois en ajoutant à chaque fois 200 mL de chloroforme. Ensuite, la phase organique, qui contient les composés d'intérêt, est concentrée en utilisant un rotavapeur réglé à 45°C, tandis que la phase aqueuse restante subit une extraction supplémentaire en utilisant un solvant encore plus polaire.

➤ **Extrait acétate d'éthyle**

Pour extraire les composés solubles dans l'acétate d'éthyle, 200 mL de ce solvant sont ajoutés à la phase aqueuse résultante de l'extraction précédente. Le mélange est ensuite agité et laissé à décanter, permettant aux deux phases de se séparer. Nous récupérons les deux phases distinctes une fois que leur séparation est nette. Cette procédure est également répétée trois fois en ajoutant à chaque fois 200 mL de l'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue est concentrée par le rota vape à 45°C, tandis que la phase aqueuse restante subit une extraction supplémentaire en utilisant un solvant encore plus polaire.

➤ **Extrait *n*-butanolique**

Pour extraire les composés solubles dans le *n*-butanol, un volume de 200mL de ce solvant est ajouté à la phase aqueuse résultante de l'extraction précédente. Le mélange est agité et laissé à décanter, permettant aux deux phases de se séparer. Nous récupérons les deux phases distinctes une fois la séparation est nette. Cette procédure est répétée trois fois en ajoutant à chaque fois 200 mL de *n*-butanol. La phase *n*-butanolique est ensuite récupérée et concentrée par le rota vape à une température de 63°C.

Après avoir terminé toutes les extractions, les extraits obtenus ont été Regroupés en ajoutant quelques gouttes de méthanol, puis transférés dans des boites de Petri. Les boites ont été laissées à sécher dans un endroit bien ventilé afin de permettre l'évaporation du solvant. Par la suite, les boîtes ont été stockées dans une étuve pour préserver la qualité et la stabilité des extraits en vue de leur utilisation ultérieure. Les extraits sont maintenant prêts pour être à être utilisés dans différentes applications et activités ultérieures.

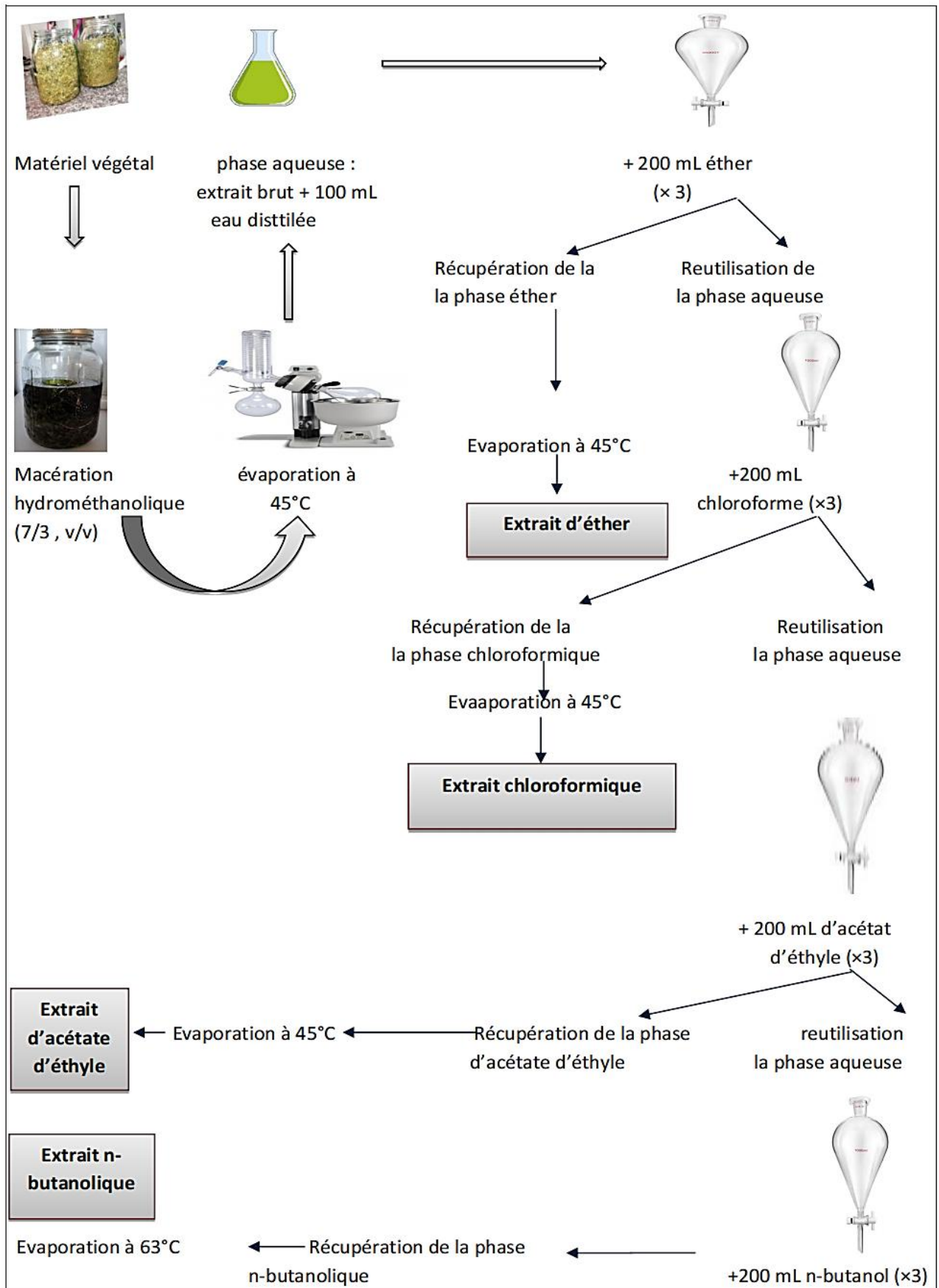


Figure 19 : Récapitulatif d'extraction solide-liquide, liquide-liquide de la plante étudiée.

• Rendement

Le rendement est une mesure du pourcentage de l'extrait sec obtenu après le séchage, par rapport à la masse initiale de la poudre végétale soumise à l'extraction. Pour le calculer, on utilise la formule suivante :

$$R\% = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Où R est le rendement exprimé en pourcentage (%), M est la masse en gramme de l'extrait sec obtenu et M₀ est la masse en gramme de la poudre végétale utilisée.

2.2. Les activités biologiques

2.2.1. Les activités anti-oxydants

(Le présent travail a été effectué dans le laboratoire 05 de biochimie, situé au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT)).

L'étude de l'activité antioxydante est importante en biochimie car elle permet de mesurer la capacité d'une substance à prévenir ou réduire les dommages causés par les radicaux libres sur les cellules et les tissus.

Au cours de cette étude, nous avons réalisé une étude *in vitro* de l'activité antioxydante de la plante étudiée, en utilisant cinq méthodes différentes : la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH, La méthode de piégeage des radicaux libres ABTS, la méthode de mesure du pouvoir réducteur (FRAP), la méthode de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline, et la formation de nanoparticules d'argent (SNP).

2.2.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH

L'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres par la méthode des DPPH est une technique couramment utilisée en biochimie pour évaluer le potentiel antioxydant d'une molécule. Cette méthode est considérée comme l'une des méthodes colorimétriques les plus standardisées et les plus faciles pour évaluer les propriétés antioxydantes des composés purs. (Mishra *et al.*, 2012)

2.2.1.1.1. Principe

Le principe de cette méthode a été conceptualisée par Blois en 1958, qui a montré pour la première fois que les radicaux libres peuvent être piégés par des molécules antioxydantes. Le DPPH est un radical stable en solution qui apparaît de couleur violette et absorbe à 515 nm dans le méthanol. Ce test repose sur le principe que le radical DPPH, lorsqu'il accepte un atome d'hydrogène (H) de la molécule antioxydante piègeuse, est réduit en DPPH₂, entraînant une

réduction de la couleur violette en jaune avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515 nm. (Mishra *et al.*, 2012) (Blois, 1958)

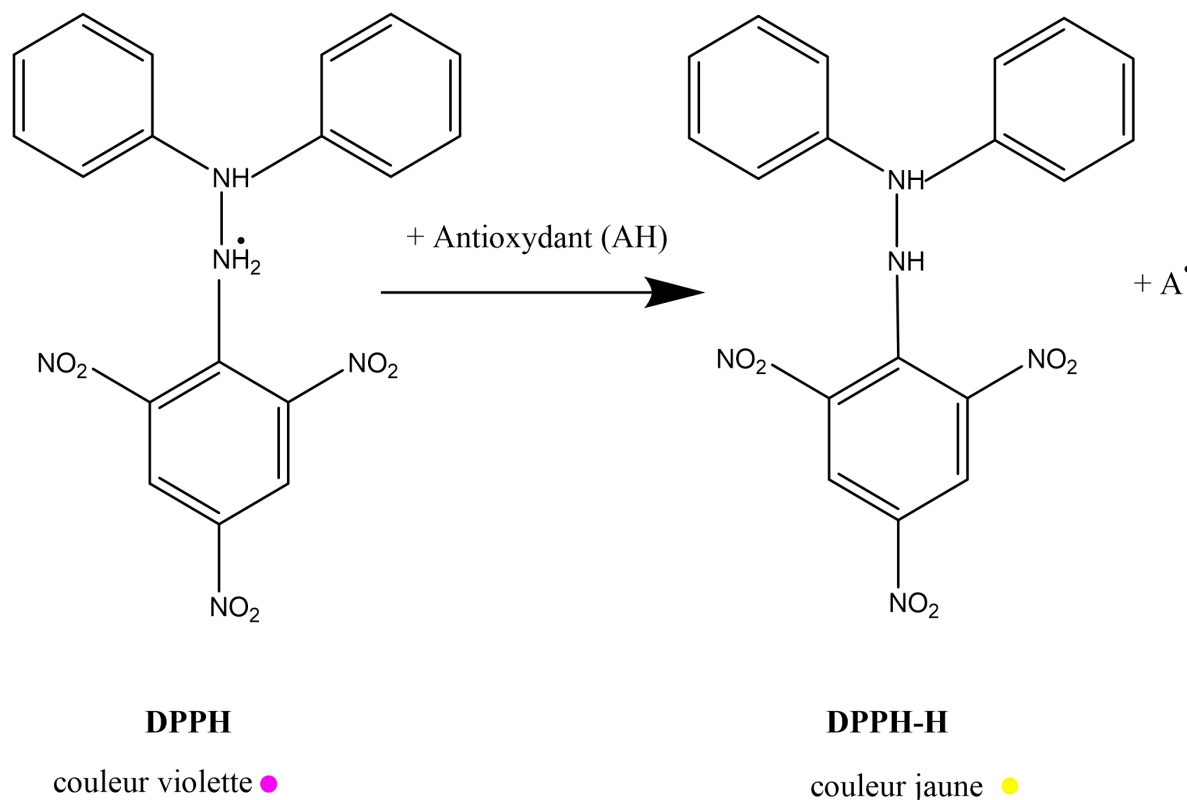


Figure 20 : Réduction de DPPH par un antioxydant (Hatano *et al.*, 1988)

2.2.1.1.2. Protocole

Pour préparer une solution de DPPH (0,1mM) : il faut dissoudre 6 mg de DPPH dans un solvant approprié tel que le méthanol, dans un volume final de 100 mL. Agiter la solution pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète de la DPPH. La solution de DPPH peut être conservée dans un flacon hermétique et stocké à une température appropriée, généralement à l'abri de la lumière et à température ambiante, pendant quelques mois au maximale.

En se basant sur le protocole de Blois de 1958, le test a été effectué sur une microplaque de 96 puits, chacun ayant un volume de 200 μ L. 40 μ L d'extraits de plante (éther, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol), dilués à diverses concentrations (de 0 à 4 mg/mL), ont été combinés avec 160 μ L d'une solution de DPPH préparée dans le méthanol. Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante, à l'abri de la lumière, avant que l'absorbance ne soit mesurée à 517 nm par rapport à un blanc composé de 160 μ L de la solution de DPPH et de 40 μ L du solvant utilisé.

Les normes de comparaison utilisées dans des conditions réactionnelles identiques comprennent le BHA, BHT et l' α -tocophérol.

Après avoir utilisé une lecture de microplaques pour mesurer l'absorbance, le pourcentage d'inhibition (%PI) est calculé à l'aide de la formule suivante :

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

En mesurant la cinétique de cette activité, on peut déterminer les concentrations qui entraînent une inhibition de 50% (IC₅₀).

L'IC₅₀ est un indicateur de l'efficacité antioxydante de l'extrait, exprimé en termes de concentration. Cette valeur correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour éliminer 50% des radicaux DPPH dans la solution réactionnelle. Plus l'IC₅₀ est bas, plus l'efficacité antioxydante de l'extrait est élevée.

2.2.1.2. L'activité de piégeage du radical ABTS●+

2.2.1.2.1. Principe

Le test ABTS est une technique spectrophotométrique qui se base sur la formation d'un radical cationique stable et coloré bleu-vert (ABTS●⁺) à partir de l'ABTS, également connu sous le nom d'acide 2,2'-azino-bis-(3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), agissant comme donneur de H●, permet la réduction de ce radical, entraînant sa décoloration suite à un transfert d'électron. Cette méthode a été développée en 1999 par Re et ses collaborateurs.

L'évaluation de l'activité antioxydante totale des extraits de plante est réalisée en mesurant leur capacité à inhiber le radical ABTS●⁺ obtenu à partir de l'ABTS. La décoloration du radical est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm, et les résultats sont comparés à des antioxydants de référence tels que le BHT et le BHA. (Marc et al., 2004 ; Re et al., 1999)

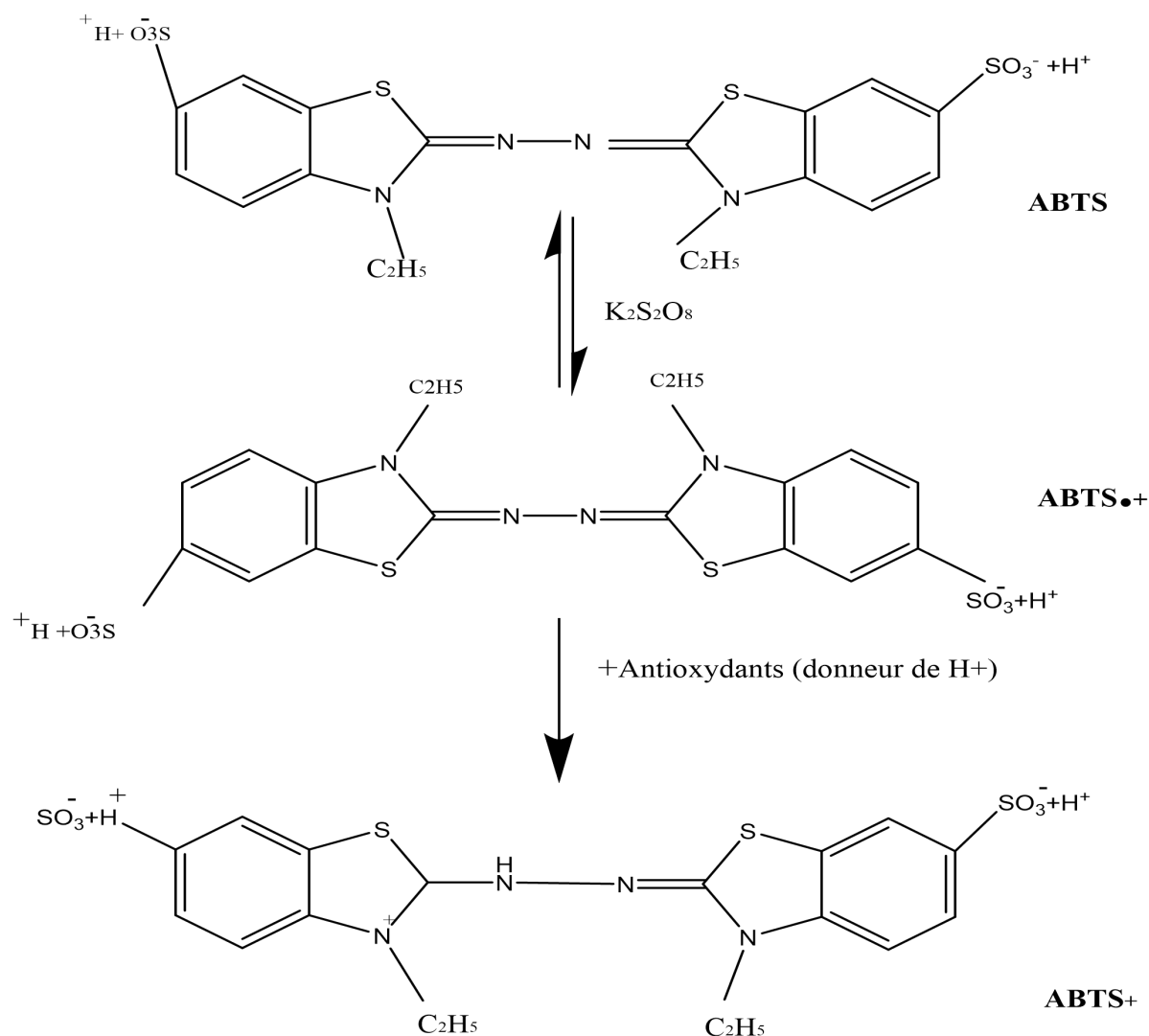


Figure 21 : Formation et réduction du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Miller *et al.*, 1996)

2.2.1.2.2. Protocole

Pour préparer une solution du ABTS^{•+} : nous combinons l'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (2,45 mM) afin de favoriser la formation de l'ABTS^{•+}. Le mélange est laissé à réagir pendant 12 à 16 heures, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Par la suite, nous diluons le mélange avec de l'eau distillée jusqu'à obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm.

Le protocole utilisé dans cette étude est une adaptation du protocole décrit par Re et ses collaborateurs en 1999. Pour cela, 40 µL d'extraits de plante (éther, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) à différentes concentrations (0.4 mg/mL) ont été déposés en triplicata dans une microplaque, puis 160 µL d'ABTS^{•+} ont été ajoutés. La microplaque a ensuite été maintenue à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes avant de mesurer l'absorbance à 734 nm par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions en utilisant le solvant (MeOH) à la place de l'extrait de plante. Cette méthode permet d'obtenir une mesure en point final,

directement proportionnelle à la concentration en antioxydants. L'activité ABTS⁺ a été exprimée en pourcentage et calculée en utilisant l'équation suivante :

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

Les normes de comparaison utilisées dans des conditions réactionnelles identiques comprennent le BHA, BHT et l' α -tocophérol.

En mesurant la cinétique de cette activité, on peut déterminer les concentrations qui entraînent une inhibition de 50% (IC50).

L'IC50 est un indicateur de l'efficacité antioxydante de l'extrait, exprimé en termes de concentrations. Cette valeur correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour éliminer 50% des radicaux ABTS dans la solution réactionnelle. Plus l'IC50 est bas, plus l'efficacité antioxydante de l'extrait est élevée.

2.2.1.3. L'activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

2.2.1.3.1. Principe

Le test FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) est une méthode permettant d'évaluer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). Ce test est considéré comme direct et rapide, et il est couramment utilisé pour déterminer l'activité antioxydante d'un extrait à l'étude. Lorsque le Fe²⁺ est révélé, il se produit un changement de couleur du jaune vers le bleu-vert, et l'intensité de cette coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de microplaques à une longueur d'onde de 700 nm. (*Li et al., 2008 ; Chung et al., 2002*)

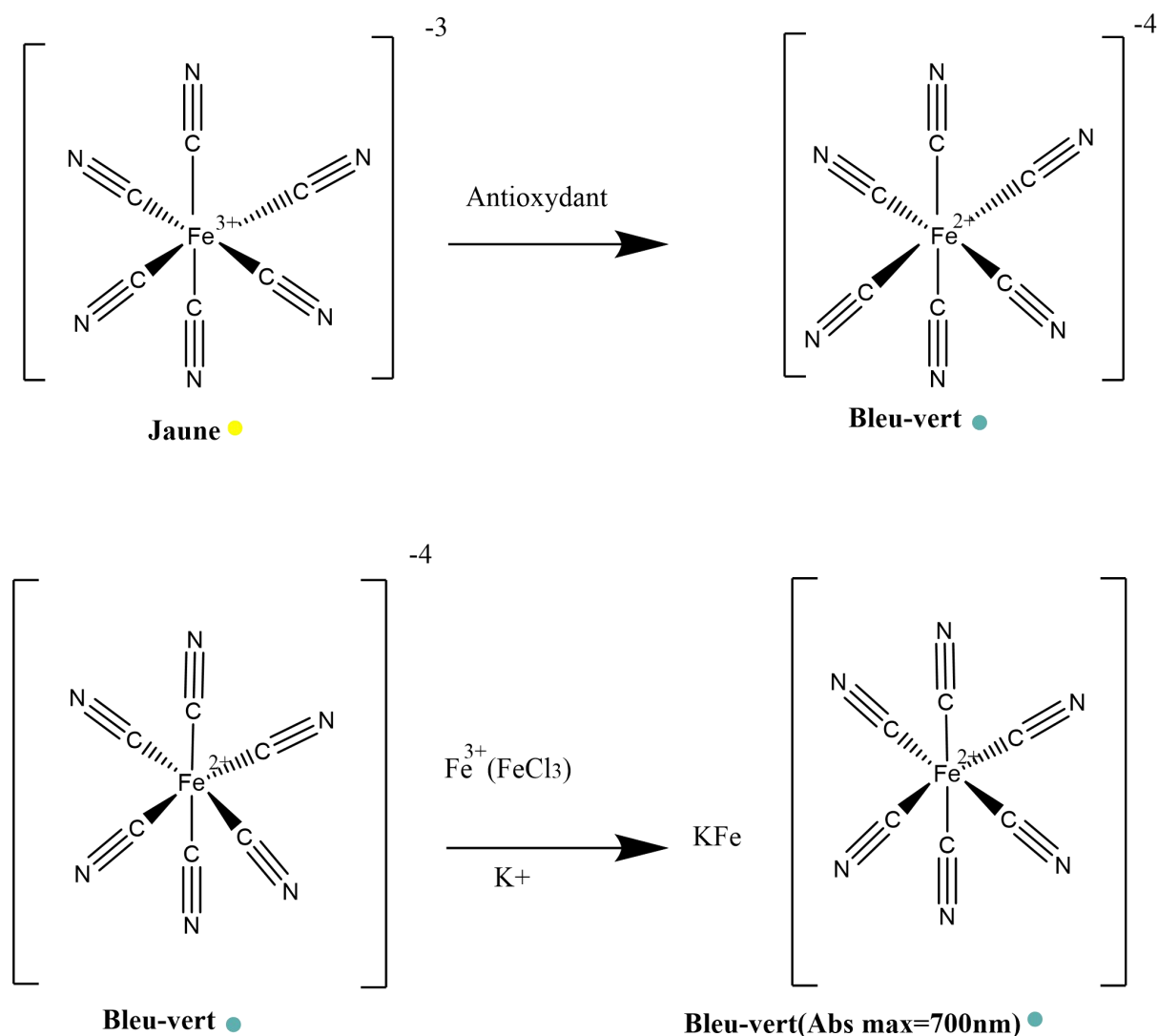


Figure 22 : Mécanisme réactionnel du test FRAP. (Miller et al., 1996)

2.2.1.3.2. Protocole

Pour évaluer le pouvoir réducteur des extraits, nous avons utilisé une méthode basée sur le protocole décrit par (Oyaizu, 1986), avec des modifications mineures.

Pour préparer le tampon phosphate buffer à PH=6,6 : nous commençons par préparer deux solutions de travail : une solution de dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) à 0,2 M et une solution d'hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4). Ensuite nous ajoutons la solution de travail de NaH_2PO_4 dans un bécher propre tout en mesurant le PH à l'aide d'un pH-mètre. Lorsque le pH atteint environ 6,6, nous ajoutons lentement de petites quantités de la solution de travail de Na_2HPO_4 tout en continuant à mesurer le PH.

Pour préparer la solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% : dissolvons 1g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 mL d'eau.

Pour préparer la solution de tris-cloro-acide acétique (TCA) à 10% : dissolvons 1g de TCA dans 10 mL d'eau. Cette solution est utilisée pour arrêter la réaction d'oxydation, précipiter les protéines, et former un complexe avec le Fer réduit.

Pour préparer la solution de ferrique chloride FeCl_3 (0,1%) : dissolvons 0,1 g de FeCl_3 dans 100 mL d'eau. Cela permet de former un complexe coloré.

Dans chaque puits de la microplaque à 96 puits, nous versons 10 μL de l'extrait (éther, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) dilués à différentes concentrations (0 à 4 mg/mL). Ensuite, nous ajoutons 40 μL de tampon phosphate (pH=6,6) tout en mélangeant, suivi de l'ajout de 50 μL de solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1% que nous mélangeons soigneusement.

Nous plaçons la microplaque dans une étuve à 50 °C pendant 20 minutes pour l'incubation. Après l'incubation, nous ajoutons les solutions qui nous avons préparons précédemment à chaque puits par la manière suivante : 50 μL d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, 10 μL de solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1%, 40 μL d'eau distillée.

N'oublions pas de préparer un puits de contrôle blanc où nous remplaçons l'extrait par du méthanol (MeOH) pour vérifier la Baseline de l'absorbance.

Après l'ajout des solutions, nous mesurons l'absorbance de chaque puits à une longueur d'onde de 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

Calculons la capacité antioxydante relative des échantillons en utilisant une échelle de référence, exprimée en $A_{0,5}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$), correspondant à la concentration présentant une absorbance de 0,50.

Utilisons des standards tels que l'acide ascorbique et l' α -tocophérol dans les mêmes conditions réactionnelles pour obtenir des valeurs de référence.

2.2.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} .phenanthroline

2.2.1.4.1. Principe

Il s'agit d'une méthode simple basée sur la formation d'un complexe Fe^{2+} .phenanthroline à partir du fer aqueux dans sa forme réduite (Fe^{2+}), qui peut être quantifié par spectrophotométrie. Ce complexe est formé en présence de 1-10-phenanthroline (également connue sous le nom d'orthophénanthroline) dans une solution acide (PH3.4).

Ce complexe, également appelé ferroïne, présente une couleur rouge-orangée foncée. Il s'agit de l'indicateur d'oxydoréduction le plus largement utilisé en chimie. Ce complexe octaédrique soluble et stable en solution aqueuse peut être mesuré en termes d'absorbance à une longueur d'onde de 510

nm à l'aide d'un spectrophotomètre de microplaque. (*R. K. Adhikamsetty, N. R. Gollapalli, S. B. Jonnalagadda s. d.; Belcher 1973*)

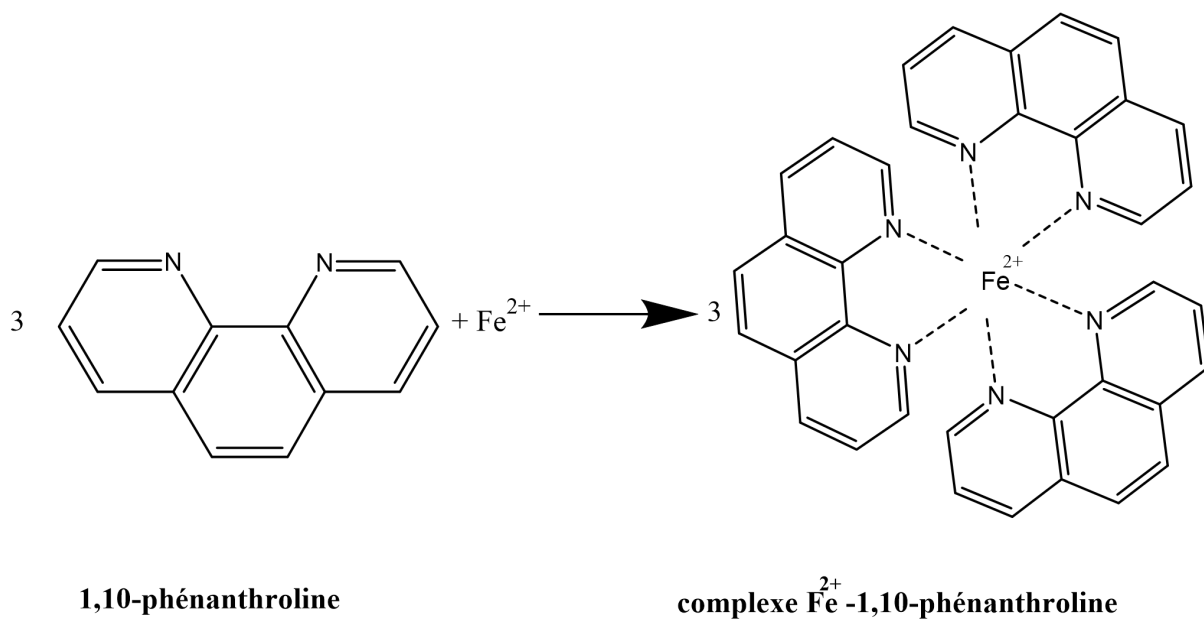


Figure 23 : Formation du complexe Fe²⁺ phénanthroline (*Apak et al. 2007*)

2.2.1.4.2. Protocole

La méthode utilisée pour évaluer l'activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺.phénanthroline des extraits est basée sur la procédure décrite par « SZYDŁOWSKA.CZERNIAKA » (*Szydłowska.Czerniak et al. 2008*).

Les solutions réactionnelles sont préparées en commençant par la solution de phénanthroline (0,5%) (0,05 g de 1,10. phénanthroline dans 10mL de méthanol), suivie par solution de chlorure ferrique FeCl₃(0,2%) (0,02 g de FeCl₃ dans 10 mL d'eau).

Dans les puits, 10 µL des extraits à différentes concentrations sont ajoutés, suivis de l'ajout de 50 µL de FeCl₃(0,2%), puis 30 µL de phénanthroline (0,5%) sont ajoutés à la solution. Enfin, 110 µL de méthanol sont ajoutés, sans oublier le blanc (suivant la même méthode, mais en remplaçant l'extrait par du méthanol). Le mélange est agité vigoureusement et incubé pendant 20 minutes à 30°C dans une étuve, puis l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 50 nm.

Les résultats sont calculés en termes de A_{0,5}(µg/mL), correspondant à une concentration présentant une absorbance de 0,50.

Les composés BHT et BHA sont utilisés comme standards dans les mêmes conditions réactionnelles.

2.2.1.5. Activité de SNP (silver nanoparticles assay)

2.2.1.5.1. Principe

Les techniques nanotechnologiques sont couramment basées sur la détermination colorimétrique de la capacité antioxydante totale.

La méthode des nanoparticules d'argent (SNP) repose sur la formation de nanoparticules à partir du sel d'argent (Ag(I)) avec du citrate, qui agit en tant qu'agent réducteur (il est converti en dicarboxylate d'acétone) (*Belcher 1973*), et en tant que stabilisant des SNP. Cette méthode permet de mesurer les propriétés antioxydantes des échantillons étudiés (*Luqmon Azeez, Agbaje Lateef & Segun A. Adebisi s. d.*).

L'absorption caractéristique par résonance plasmonique de surface « SPR » des SNP(Ag.NP_s) est utilisée pour la mesure colorimétrique, car l'ajout d'antioxydants provoque une augmentation de la taille du noyau et de la coquille des Ag.NP_s initialement formées (*Belcher 1973b*).

En raison de la faible polarité et du faible pouvoir dissolvant des solvants organiques, les transferts d'électrons se produisent rarement dans ces milieux. Par conséquent, la réaction a lieu dans un milieu aqueux, où la plupart des composés antioxydants importants en science alimentaire et en biochimie peuvent être oxydés par l'agent (Ag(I)), grâce à son potentiel inférieur à 0,8V, qui est proche de celui des réactifs colorimétriques TAC largement utilisés tels que l'ABTS, le FRAP et le DPPH.

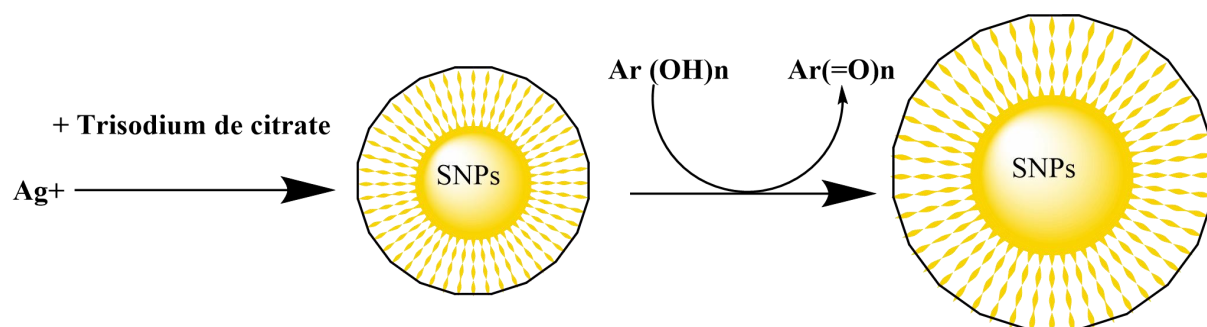


Figure 24 : Réaction de SNP avec Trisodium de citrate.

2.2.1.5.1. Protocole

L'activité du SNP (nitroprussiate de sodium) dans les extraits est déterminée selon la méthode décrite par Mustafa Özyürek. (*Özyürek et al. 2012*).

La première étape consiste à préparer les solutions réactionnelles en commençant par la préparation d'une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à une concentration de 1Mm. Cela est réalisé en mélangeant 0,170g de nitrate d'argent avec 100 mL d'eau. Ensuite, on prépare une

solution de Trisodium citrate à une concentration de 1% en mélangeant 1g de Trisodium citrate avec 100 mL d'eau.

Ensuite, sur une plaque chauffante munie d'un agitateur magnétique, on place un bécher contenant un volume de 50 mL de la solution d'AgNO₃(1,0mM) et on le chauffe pendant 10 minutes. Après cela, on ajoute lentement 5mL de la solution de Trisodium citrate (1%) au bécher avec agitation contenue jusqu'à ce que la couleur de la solution vire au jaune pâle.

Ensuite, on laisse la solution refroidir à température ambiante dans le laboratoire.

Une fois que la solution de SNP est prête, on verse dans les puits d'une microplaque 20 µL de l'extrait à différentes concentrations. Ensuite, on ajoute 130 µl de la solution de SNP et on termine par l'ajout de 50 µl d'eau. Il est important de réaliser un blanc en remplaçant l'extrait par du méthanol (MeOH). Le mélange est incubé à 25°C pendant 30 minutes, puis la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 423nm.

Les résultats obtenus sont calculés en A_{0,5}(µg/mL), ce qui correspond à la concentration qui présente une absorbance de 0,50. Des standards tels que l'acide ascorbique et le Trolox sont utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles pour permettre une comparaison des résultats obtenus.

2.2.2. Les activités anti-inflammatoires

(Le présent travail a été effectué dans le laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST)).

2.2.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines

2.2.2.1.1. Principe

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait, nous avons employé le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, tel que décrit par Kandikattu en 2013. Ce test repose sur le principe de l'empêchement de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) causée par la chaleur à 72°C, grâce aux extraits de plantes (Karthik et al., 2013).

2.2.2.1.2. Protocole

Afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, nous avons réalisé une gamme de concentrations pour l'extrait végétal n-butanol, allant de 0 à 2 mg/mL. Pour cela, nous avons ajouté 1 mL de chaque dilution à 1mL d'une solution de BSA à 0,2% préparée dans du tris-HCl (0,05M, pH=6,6).

Le mélange obtenu a été incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis à 72°C pendant 5 minutes. Après l'incubation, le mélange a été rapidement refroidi et vortexé, puis la turbidité a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un blanc a été préparé pour chaque concentration d'extrait, composé de 1mL d'extrait et de 1mL de Tris.HCL (0,05M, PH=6,6). Ce blanc a été utilisé pour soustraire l'absorbance de l'extrait et de 1 mL de Tris.HCL des résultats obtenus, afin d'obtenir des mesures plus précises.

Dans ce test, le diclofénac a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence. Son activité anti-inflammatoire a été évaluée dans les mêmes conditions expérimentales que celles appliquées aux échantillons.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection}\% = \frac{(\text{Do controle. Do blanc}) - (\text{Do échantillon. Do blanc})}{(\text{Do controle. Do blanc})} \times 100$$

- Do blanc : Absorbance de l'extrait sans BSA.
- Do échantillon : absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- Do contrôle : absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA.

2.2.2.2. Evaluation in vitro de l'effet anti-inflammatoire par la méthode de stabilisation membranaire : étude de l'activité anti-hémolytique

Nous utilisons la méthode de stabilisation membranaire anti-hémolytique pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait *n*-butanolique. Cette méthode se concentre spécifiquement sur la capacité de l'extrait à protéger les membranes des globules rouges (érythrocytes) contre la lyse provoquée par un stress osmotique et thermique. La quantité de lyse érythrocytaire est mesurée en évaluant la libération d'hémoglobine, qui constitue un indicateur de la rupture des membranes. Le choix des globules rouges comme modèle cellulaire est justifié par leur acceptation courante dans la recherche scientifique et leur similitude avec d'autres membranes cellulaires, telles que celles du lysosome.

2.2.2.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes

Cette méthode a été réalisée par Abe et ses collaborations avec de légères modifications. (H. Abe et al., 1991)

Préparation du tampon phosphate salin (PBS)

On prépare deux solutions mères de phosphate en dissolvant 21,3 g de phosphate disodique (Na_2HPO_4 , PM = 141,96 g/mol) et 17,98 g de phosphate monosodique (NaH_2PO_4 , PM = 112,89 g/mol) chacun dans environ 800 mL d'eau distillée. Remuons jusqu'à ce que les poudres soient complètement dissoutes.

Dans un autre récipient, nous préparons une solution saline en dissolvant 5,61 g de chlorure de sodium (NaCl , PM = 58,44 g/mol) et 0,746 g de chlorure de potassium (KCl , PM = 74,55 g/mol) dans environ 900 mL d'eau distillée.

Nous mélangeons les deux solutions mères de phosphate dans un grand flacon en verre, puis ajoutons la solution saline. Mélangeons bien pour obtenir une solution homogène. À l'aide d'un pH-mètre, nous ajustons le pH de la solution en ajoutant quelques gouttes d' HCl jusqu'à obtenir un pH de 7,4.

Une fois que le pH est réglé, nous ajoutons de l'eau distillée pour ajuster le volume final à 1 litre.

Le tampon est prêt, nous préparons directement la suspension d'érythrocytes :

Le sang a été prélevé à partir d'un rat *Wistar albinos* à l'aide d'une seringue graduée et placé dans des tubes héparinés pour prévenir la coagulation. Le sang collecté a été centrifugé à basse vitesse (13 000g) à 4°C pendant 10 min afin de séparer les érythrocytes du plasma et des autres composants sanguins. La couche de globules rouges a ensuite été prélevée délicatement et transférée dans un tube propre.

Les érythrocytes ont été lavés trois fois à température ambiante pour éliminer le plasma résiduel et d'autres substances indésirables. Chaque lavage a été effectué en centrifugeant les érythrocytes à 1 300 g pendant 5 min, en éliminant le surnageant et en les resuspendant dans une solution d'eau physiologique (0,9%). Ce processus permet d'éliminer les résidus de plasma, les enzymes et les métabolites pouvant influencer les résultats de l'expérience.

Les érythrocytes ont ensuite été dilués dans un tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,5. Pour cela, un volume du culot d'érythrocytes a été mélangé avec 9 volumes de PBS, ce qui permet d'obtenir un hématocrite de 10% (v/v).

2.2.2.2.2. Test d'innocuité d'extrait vis-à-vis des globules rouges

2.2.2.2.2.1. Principe

Nous utilisons un test d'innocuité d'extrait avant de procéder au test de stabilisation membranaire anti-hémolytique dans le but d'évaluer la sécurité et la tolérance de l'extrait sur les érythrocytes.

2.2.2.2.2.2. Protocole

Nous préparons une gamme de concentrations d'extrait *n*-butanolique allant de 0 à 14,4 mg/mL en les diluant dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). Ensuite, nous mélangeons 1,6 mL des différentes concentrations d'extrait à tester avec 0,4 mL de la suspension de globules rouges à 10%. Le mélange est incubé à 37°C pendant 30 minutes, puis centrifugé à 1 300 g pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant est mesurée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

N'oublions pas de préparer un contrôle positif en utilisant 0,4 mL de la suspension de globules rouges et 1,6 mL d'eau physiologique pour vérifier l'état des globules rouges ou obtenir une hémolyse complète (100%).

Nous utilisons le diclofénac et m'acide gallique comme molécules de référence, préparé dans les mêmes conditions expérimentales.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, nous préparons un blanc en mélangeant 1,6 mL d'extrait avec 0,4 mL de tampon phosphate salin (PBS, pH 7,4 ; 0,9% NaCl). Ce blanc permettra de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus.

Le pourcentage d'hémolyse pour chaque concentration est calculé en utilisant la formule :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse \%} = \frac{Do \text{ échantillon} - Do \text{ blanc}}{Do \text{ controle} \cdot Do \text{ blanc}} \times 100$$

Tendu que :

- DO échantillon : Absorbance de la molécule tester ou standard.
- DO blanc : Absorbance de l'extrait.
- DO contrôle : Absorbance du contrôle à 100% hémolyse.

2.2.2.2.3. La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges

2.2.2.2.3.1. Principe

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité de l'extrait *n*-butanolique de plante à prévenir l'hémolyse des globules rouges chez les rats suite à une induction d'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, en suivant le protocole établi par Gadamsetty et ses collaborateurs (*Gadamsetty et al., 2013*). L'intensité de l'hémolyse sera quantifiée en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée à une longueur d'onde de 560 nm.

2.2.2.2.3.2. Protocole

Des tubes à essais ont été utilisés pour préparer les échantillons. Dans chaque tube, 0,5 mL d'extrait *n*-butanolique à différentes concentrations (de 0 à 14,4 mg/mL), préparé dans une solution de NaCl à 0,9%, ont été ajoutés à 1,5 mL de tampon phosphate non salin (PNS, 0,15 M, pH 7,4). Ensuite, 2 mL de solution hypotonique (NaCl à 0,36%) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 20 minutes.

Après l'incubation, 0,5 mL de suspension d'érythrocytes à 10% ont été ajoutés à chaque tube, suivi d'une nouvelle incubation à une légère augmentation de température de 56°C pendant 30 minutes. Les tubes ont ensuite été refroidis en les plaçant dans de l'eau du robinet pendant 20 minutes.

Une fois la réaction arrêtée, les tubes ont été centrifugés à 1300 g pendant 5 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée.

Le contrôle consiste en un mélange des mêmes solutions, à l'exception de l'eau physiologique qui remplace l'extrait.

L'acide gallique a été utilisé comme molécule standard, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Un blanc a été préparé dans le but de soustraire l'absorbance de l'extrait, du PNS et de chaque concentration d'extrait ou de standard.

La lecture de l'absorbance du surnageant a été effectuée à une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats ont été exprimés sous forme d'un pourcentage d'hémolyse, calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse} = \frac{Do \text{ échantillon} - Do \text{ blanc}}{Do \text{ cotrole} - Do \text{ blanc}} \times 100$$

2.2.3. L'activité enzymatique inhibitrice d'alpha-amylase

2.2.3.1. Protocole

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase a été évaluée en utilisant la méthode iodure d'iode/potassium iodide (IKI) décrite par G. Zengin et al, avec quelques modifications apportées (*Gokhan Zengin et al., 2014*).

Un échantillon de 25 µL d'extrait a été mélangé avec 50 µL de solution d'alpha-amylase et incubé pendant 10 minutes à 37°C. Ensuite, 50 µL d'amidon à 0,1% ont été ajoutés au mélange et incubés pendant 10 minutes à 37°C. Après cela, 25 µL d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1M ont été ajoutés, suivis de l'ajout de 100 µL d'une solution d'iodure de potassium et d'iode (IKI).

La lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 630 nm.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%INH = 1 - ((Ac - Ae) - (As - Ab)) / (As - Ae)$$

- Ac=Absorbance (amidon + IKI + HCL + VOL de solvant d'extrait vol tampon enzyme)
- Ae= Absorbance (enzyme+ Amidon +IKI+HCL+VOL de solvant d'extrait)
- As= Absorbance (enzyme + extrait+ Amidon +IKI+HCL)
- Ab=Absorbance (extrait+IKI+125 µL de tampon)

2.2.4. Évaluation de la toxicité sur *Tenebrio molitor*, un modèle d'organisme vivant

2.2.4.1. Principe

Le *Tenebrio molitor* est fréquemment choisi en laboratoire en raison de sa facilité d'élevage exceptionnelle. En effet, son élevage requiert un espace minimal. De plus, cette espèce se distingue par sa croissance et sa reproduction efficaces (OPIE, 2013).

Les vers de farine sont omnivores et peuvent se nourrir de diverses matières végétales ainsi que de produits animaux. Une alimentation équilibrée pour ces insectes doit contenir environ 20 % de protéines (base de matière sèche) (Ramos Elorduy et al., 2002). Ils sont généralement nourris avec du son ou de la farine de céréales telles que le blé, l'avoine ou le maïs (Aguilar Miranda et al., 2002).

Les insectes possèdent un ensemble d'enzymes antioxydantes et d'antioxydants de faible poids moléculaire qui peuvent former une réponse en cascade face à l'attaque d'oxydants provenant de l'alimentation ou produits endogènes. Parmi ces enzymes, on retrouve la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion transférase et la glutathion réductase (Felton & Summers, 1995).

Le *Tenebrio molitor* passe par quatre stades distincts lors de son cycle de vie : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte coléoptère. Voir la figure :

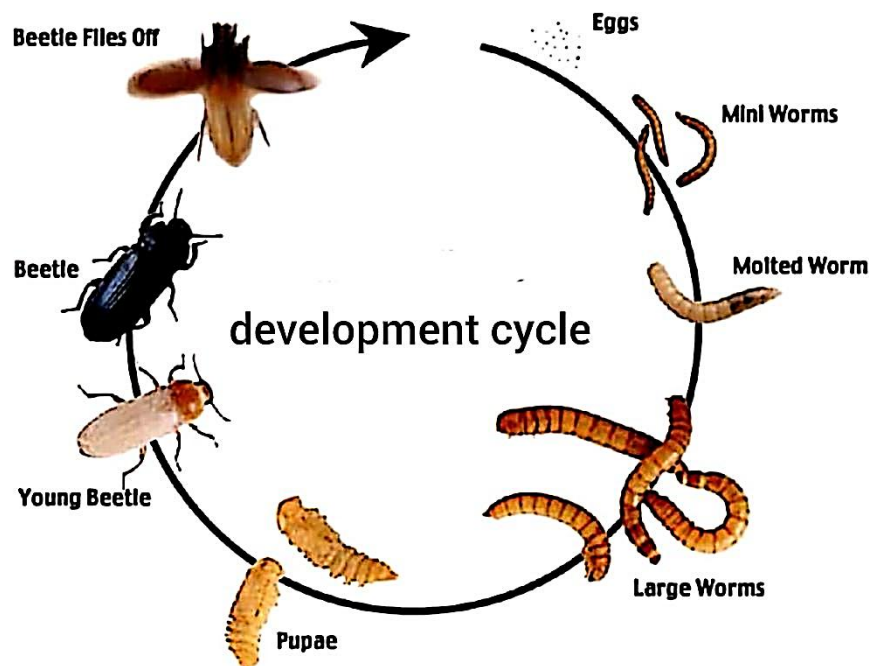


Figure 25 : Les stades de développement du *Tenebrio molitor*.

L'objectif global de cette étude est de mieux comprendre la toxicité potentielle des extraits de plantes sur ces organismes vivants et de fournir des informations utiles pour évaluer la sécurité de

leur utilisation dans différents contextes. Cela pourrait inclure l'identification des composés présents dans les extraits de plantes, la détermination de leurs concentrations et l'administration des extraits aux larves de vers de farine afin d'évaluer les effets toxiques.

2.2.4.2. Protocole :

La méthodologie utilisée dans cette étude est basée sur une version légèrement modifiée de celle présentée par *van der Valk et van der Meijden (2014)*.

Le milieu de culture pour les vers de farine, composé de farine d'avoine, est placé dans des contenants appropriés (boîtes en plastique). Les vers de farine sont pesés afin d'obtenir une taille et un poids similaires pour chaque groupe expérimental. Pour chaque concentration testée, six larves sont utilisées. Les vers de farine sont ensuite placés dans les contenants contenant le milieu de culture durci, en veillant à éviter tout stress ou dommage physique.

Des solutions des extraits de plante, notamment éther, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol, préparées à différentes concentrations allant de 80 $\mu\text{g/mL}$ à 8000 $\mu\text{g/mL}$, sont dissoutes dans un solvant approprié, le méthanol. Le volume des solutions peut atteindre 3 μL et elles sont injectées à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 μL . Les injections sont réalisées de manière caudale sur le côté ventral des larves, en évitant la région médiane pour ne pas perturber les systèmes d'organes essentiels.

Les larves sont ensuite incubées à température ambiante pendant 15 jours. La mortalité est évaluée en observant la décoloration des larves, ont évalué ainsi leur pourcentage de développement et de survie.

Les larves témoins standard sont soumises à une injection d'une solution contenant à la fois du méthanol et de l'acide ascorbique.

Analyse statistique

- Les courbes et les histogrammes sont tracés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2021.
- Les données statistiques des tests effectués sont exprimées en moyenne \pm écart.type.
- Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées en utilisant la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].
- Les valeurs d'A_{0,5} (la concentration indiquant 0,5 d'absorbance) sont calculées en utilisant la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [Absorbance= f(concentrations)].

➤ **CHAPITRE 3**

*Analyse les résultats et interprétation
des données obtenues.*

1. Rendement d'extraction

Rappelons que nous avons réalisé une extraction solide-liquide sur le matériau végétal, pesant approximativement 477,77 g. Cette extraction avait pour but d'obtenir un extrait brut sec ayant une consistance gluante, ce qui suggère la présence de polysaccharides, de lipides et de protéines, ainsi qu'une couleur verte très foncée, témoignant de la présence de la chlorophylle. Par la suite, nous avons effectué une extraction liquide-liquide afin de séparer les composés de l'extrait en fonction de leur degré de polarité. Cette étape nous a permis d'obtenir quatre extraits distincts : éther, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol. Chacun de ces extraits a été pesé individuellement afin d'évaluer le rendement de l'extraction, comme le montre le tableau suivant :

Tableau 11 : Rendement et caractéristiques des extraits de la plante. (Sachant que E : éther, C : chloroforme, A : acétate d'éthyle, B : *n*-butanol).

Le poids du matériel végétal en (g)	Les extraits	Aspect	Couleur	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
477,77 g	Extrait E	Poudre	Vert marine	1,21 g	0,25 %
	Extrait C	Poudre	Vert foncé	0,5 g	0,11 %
	Extrait A	Poudre	Vert marine	0,78 g	0,16 %
	Extrait B	Gluant	Maron foncé	5,47 g	1,14 %

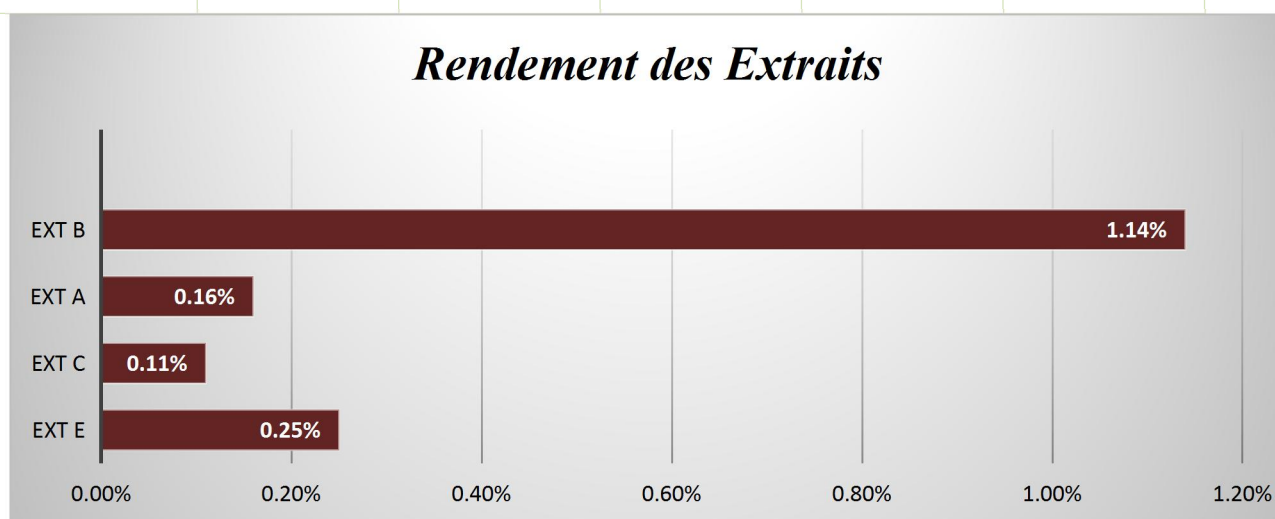


Figure 26 : Résultats de rendements des extraits. E : éther, C : chloroforme, A : acétate d'éthyle, B : *n*-butanol.

L'extrait *n*-butanolique représente le rendement le plus élevé, suivi de l'éther, alors que les deux extraits chloroformique et acétate d'éthyle, ont les rendements les plus faibles.

2. Les activités biologiques

2.1. Les activités anti-oxydants

Les extraits éther E, chloroforme C, acétate d'éthyle A et *n*-butanol B contiennent une diversité de molécules qui pourraient potentiellement avoir des propriétés antioxydantes.

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant de ces extraits végétaux, nous les avons comparés à des molécules de référence. Pour ce faire, nous avons réalisé cinq tests différents visant à évaluer leur capacité antioxydante.

2.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH

Nous avons procédé à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes appartenant au genre *Linum* en utilisant le radical DPPH. Cette évaluation a été réalisée en utilisant un lecteur de microplaque pour suivre la réduction de ce radical induite par des substances anti-radicalaires présentes dans les extraits de plantes.

Le radical DPPH présente une couleur violette, mais lorsque des substances anti-radicalaires présentes dans les extraits de plantes le réduisent, il change de couleur pour devenir jaune (DPPH-H). Cette réduction a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm, en utilisant le protocole développé en 1958 par Blois.

Nous avons mesuré les pourcentages d'inhibition pour chaque extrait testé à différentes concentrations. À partir de ces données expérimentales, nous avons effectué une régression linéaire afin d'obtenir une courbe dose-réponse. En utilisant cette courbe, nous avons calculé les valeurs de IC₅₀ en µg/mL.

Dans notre étude, nous avons comparé les résultats obtenus avec ceux de standards de référence largement acceptés : BHA, BHT et α -tocophérol.

Les données ont été présentées dans le tableau 12, et les résultats ont été illustrés graphiquement à l'aide de trois figures. (Figure 27, Figure 28 et Figure 29).

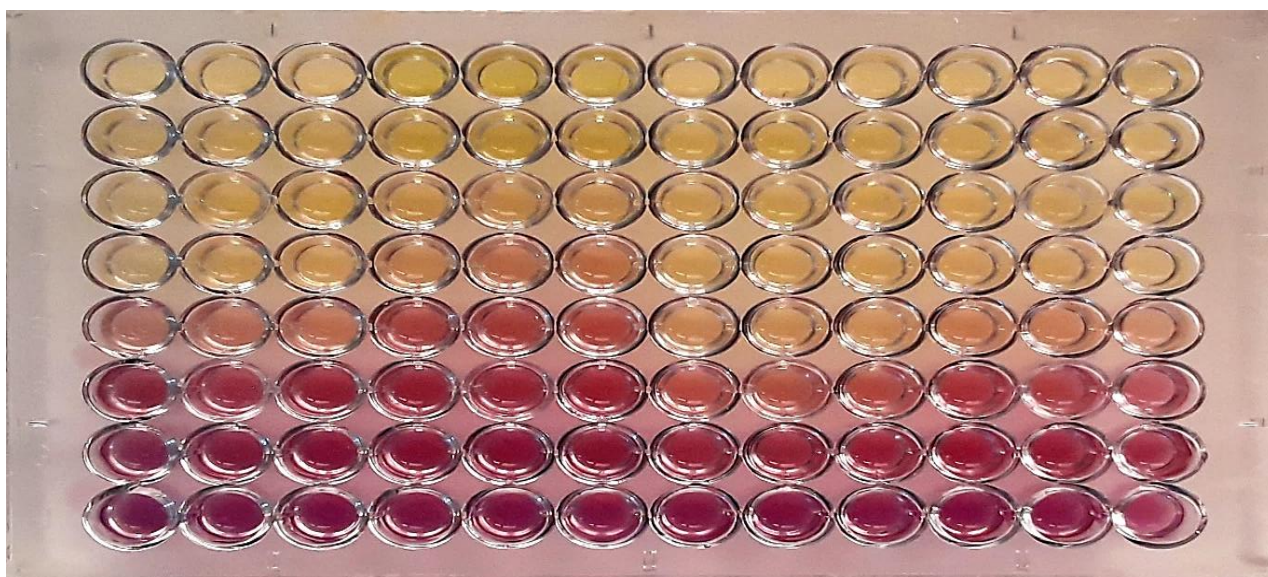


Figure 27 : Résultats du test DPPH sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).

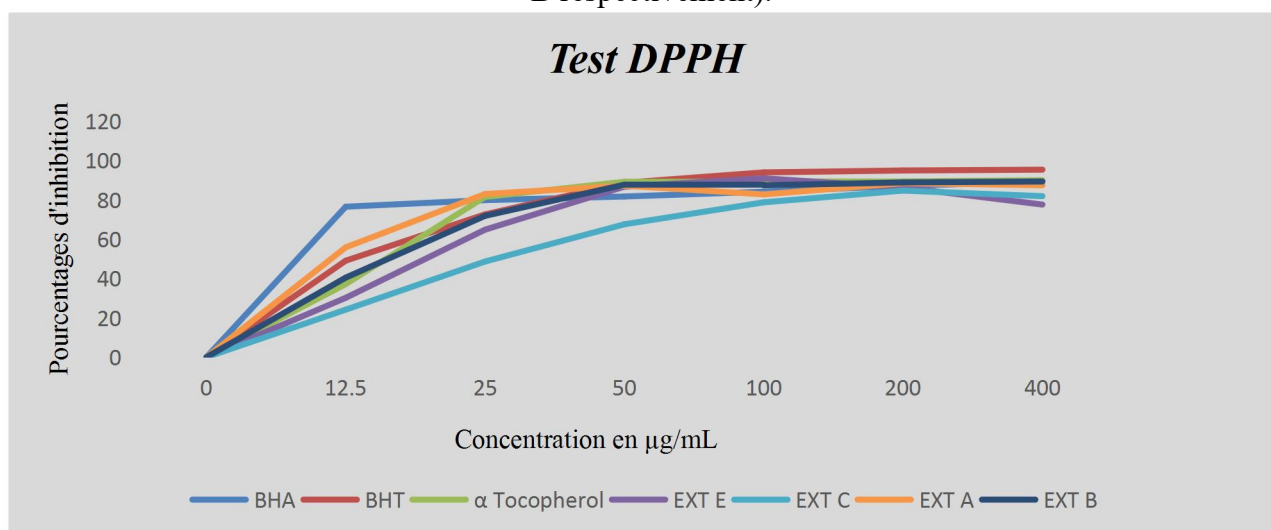


Figure 28 : Analyse comparative des pourcentages d'inhibition entre les antioxydants de référence et les extraits testés vis-à-vis du radical DPPH (moyenne écart.type de trois essais).

Tableau 12 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC₅₀ des extraits testés et des standards utilisés du test DPPH.

Concentration/ Extraits	Pourcentages d'inhibition %							
	Ext E	Ext C	Ext A	Ext B	Concentration en µg/MI	BHA	BHT	α- Tocophérol
6,25µg/mL	23,53±5,14	18,76±3,19	31,05±2,55	22,91±2,54	12,50µg/MI	76,55±0,48	49,09±0,76	37,21±1,32
12,5µg/mL	30,2±4,96	24,18±10,25	55,88±1,4	40,48±3,78	25,00µg/MI	79,89±0,26	72,63±2,06	81,53±1,51
25µg/mL	64,87±2,96	48,67±3,35	83±0,41	71,9±1,73	50µg/mL	81,73±0,10	88,73±0,89	89,23±0,12
50µg/mL	86,75±1,12	67,61±0,95	87,26±0,62	87,75±0,22	100µg/mL	84,18±0,10	94,00±0,31	89,38±0,19
100µg/mL	90,98±6,36	78,77±0,17	82,82±8,50	87,44±0,28	200µg/mL	87,13±0,17	94,97±0,08	89,45±0,22
200µg/mL	86,36±0,33	84,74±0,73	88,54±0,5	88,89±0,62	400µg/mL	89,36±0,19	95,38±0,41	89,99±0,23
400µg/mL	77,63±7,53	81,91±1,19	87,46±1,41	89,37±0,84	800µg/mL	90,14±0,00	95,02±0,23	89,52±0,33
IC ₅₀ µg/mL	20,42±1,60	23,90±4,53	12,08±0,76	13,69±2,21	IC ₅₀ µg/ mL	6,140±0,41	12,299±0,41	13,02±5,17

Les résultats de notre étude (figure 28) ont mis en évidence une augmentation du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction de la concentration, tant pour les standards BHA, BHT et α Tocophérol, que pour les différents extraits de la plante étudiés.

Nous avons observé que le BHT présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé parmi tous les standards et les quatre extraits testés, avec un pourcentage de 95.02 ± 0.23 % à une concentration de $400 \mu\text{g/ml}$ (tableau 12). De même, à cette même concentration, l'extrait B affiche un pourcentage d'inhibition de $89,37 \pm 0,84$ %, presque similaire à celui de l' α -tocophérol de référence avec un pourcentage de $89,99 \pm 0.23$ %. Il est également supérieur aux autres extraits, à savoir l'extrait A, l'extrait C et l'extrait E, avec des pourcentages d'inhibition de ($87,46 \pm 1,41$ %, $81,91 \pm 1,19$ %, $77,63 \pm 7,53$ %) respectivement.

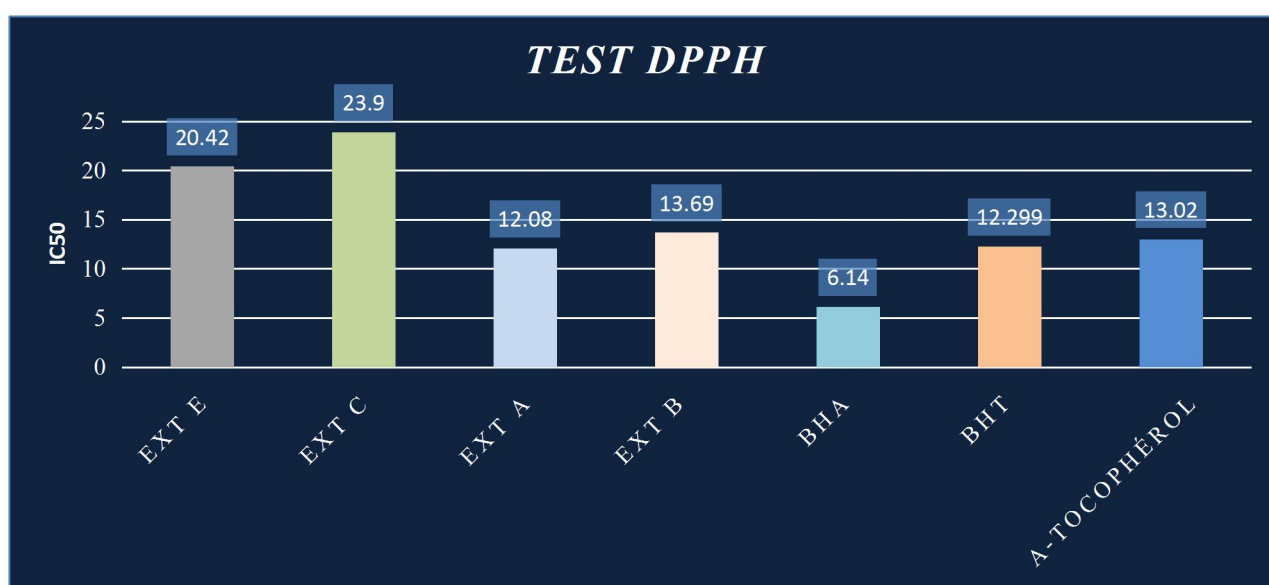


Figure 29 : Histogramme montre les valeurs d'IC₅₀ des extraits et des standards du test DPPH.

Rappelons que IC₅₀ représente la concentration d'échantillon nécessaire pour réduire de moitié l'activité du radical DPPH, et une valeur plus basse d'IC₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée.

A la lumière de nos résultats (figure 29), nous observons des différences significatives entre les extraits testés en termes d'activité antioxydante, mesurée par les valeurs d'IC₅₀.

Les composés de référence BHA, BHT et α -Tocophérol présentent des IC₅₀ de $6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$, $12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$ et $13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/mL}$ respectivement. Ces valeurs démontrent une activité antioxydante significative de ces composés de référence, les rendant potentiellement utiles dans des applications visant à combattre les radicaux libres.

Parmi les extraits testés, l'Ext A présente la plus faible valeur d'IC₅₀ ($12,08 \pm 0,76 \mu\text{g/mL}$), comparable à celle du BHT, ce qui suggère une excellente activité antioxydante supérieure aux

autres extraits (B, C, E). De même, l'Ext B présente également une IC₅₀ relativement faible (13,69±2,21 µg/mL), similaire à celle de l'α-Tocophérol. Cependant, les deux extraits sont moins actifs que le BHA.

En revanche, les extraits E et C présentent des valeurs d'IC₅₀ plus élevées (20,42±1,60 µg/mL et 23,9±4,53 µg/mL respectivement). L'Ext E démontre une activité antioxydante près de trois fois inférieure à celle du BHA, mais est comparable au BHT et à l'α-tocophérol. L'Ext C révèle une activité presque deux fois inférieure à celle du BHT et l'α-Tocophérol, et trois fois inférieure à celle du BHA. Ces extraits possèdent donc une bonne activité antioxydant, peuvent contribuer à la lutte contre le stress oxydatif, même si dans une moindre mesure que les autres extraits.

Ces résultats suggèrent que les extraits A, B, C et E pourraient présenter une activité antioxydante intéressante, comparable à celle des antioxydants de référence synthétiques le BHA, le BHT et l'α-Tocophérol. Dans l'ordre décroissant d'activité antioxydante, nous pouvons les classer comme suit : Ext A, Ext B, Ext E et Ext C.

Selon nos résultats, l'acétate d'éthyle extrait de cette espèce du genre *Linum* a montré la plus forte activité antioxydante parmi tous les extraits testés, avec une valeur de 12,8±0,76 µg/mL. Cette valeur est similaire à celle obtenue par Kaabouche et ses collaborateurs en 2022 (**Mouna & Kabouche, 2022**) dans l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *Linum numidicum*, qui était de 11,10±0,01 µg/mL. De plus, l'étude de Kaabouche a également révélé qu'un autre extrait d'acétate d'éthyle provenant d'une différente espèce du même genre, *Linum trigynum*, présentait une valeur de IC₅₀ très élevée par rapport aux deux autres espèces, atteignant 101,30±0,63 g/mL.

Une autre étude réalisée par Keykhasalar et ses collaborateurs en 2020 (**Keykhasalar et al., 2020**) a révélé que l'huile essentielle extraite des graines de l'espèce *Linum usitatissimum* présentait une activité antioxydante avec une valeur de IC₅₀ égale à 235 µg/mL. Cette valeur est plus élevée que celle observée dans nos quatre extraits testés, ce qui suggère une excellente activité antioxydante de notre espèce par rapport à celles étudiées par ce groupe.

Après l'analyse par HPLC réalisée par (**X. Zhou et al., 2020**), il a été démontré que l'extrait de *Linum usitatissimum* était riche en acides phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide férulique et l'acide vanillique. Ces composés ont montré une activité de capture des radicaux libres avec une valeur d'IC₅₀ de 19,3±1,14 µg/mL, les résultats suggèrent que nos deux extraits, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait n-butanolique, présentent un effet plus fort en termes d'activité antioxydante. De plus, cette valeur a montré de niveaux d'activité similaires à ceux observés dans nos autres extraits testés, à savoir l'extrait d'éther et l'extrait de chloroforme.

De plus, dans une étude menée par Song et ses collaborateurs en 2021 (*Song et al., 2021*), l'extrait de *Linum usitatissimum*, riche en polyphénols, a présenté une valeur d'IC₅₀ égale à 34,2±0,9 µg/mL. Cela suggère une forte activité antioxydante de nos quatre extraits par rapport à celui de l'étude précédente.

Ces comparaisons avec les résultats de la littérature renforcent l'idée que nos extraits exhibent des propriétés antioxydantes remarquables, particulièrement en ce qui concerne leur efficacité à neutraliser le radical DPPH.

2.1.2. L'activité de piégeage des radicaux libres ABTS :

La méthode de piégeage des radicaux libres ABTS ^{•+} est une technique optimale pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de la plante. L'ajout des extraits ou des molécules de référence BHA/BHT entraîne la formation de ABTSH⁺ à partir de ABTS^{•+}, ce qui entraîne une décoloration de la solution qui quantifiée à l'aide d'un lecteur de microplaque à 734 nm. Les résultats ont été présentés dans les figures 30, 31, 32 et le tableau 13.

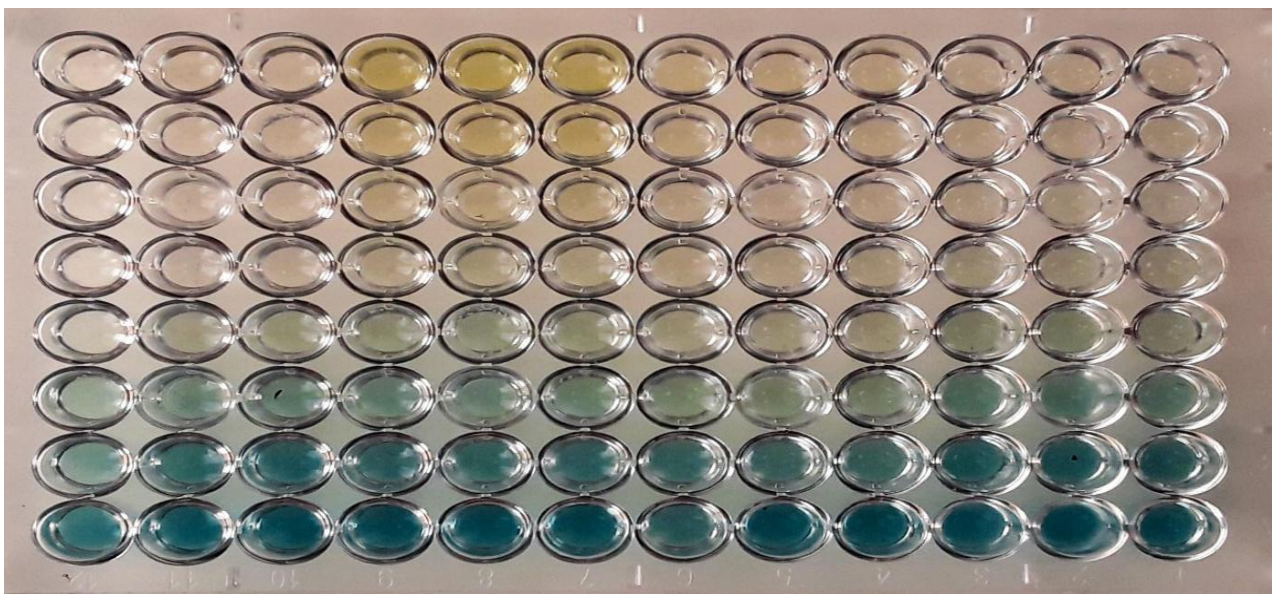


Figure 30 : Résultats du test ABTS sur microplaques. (Trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).

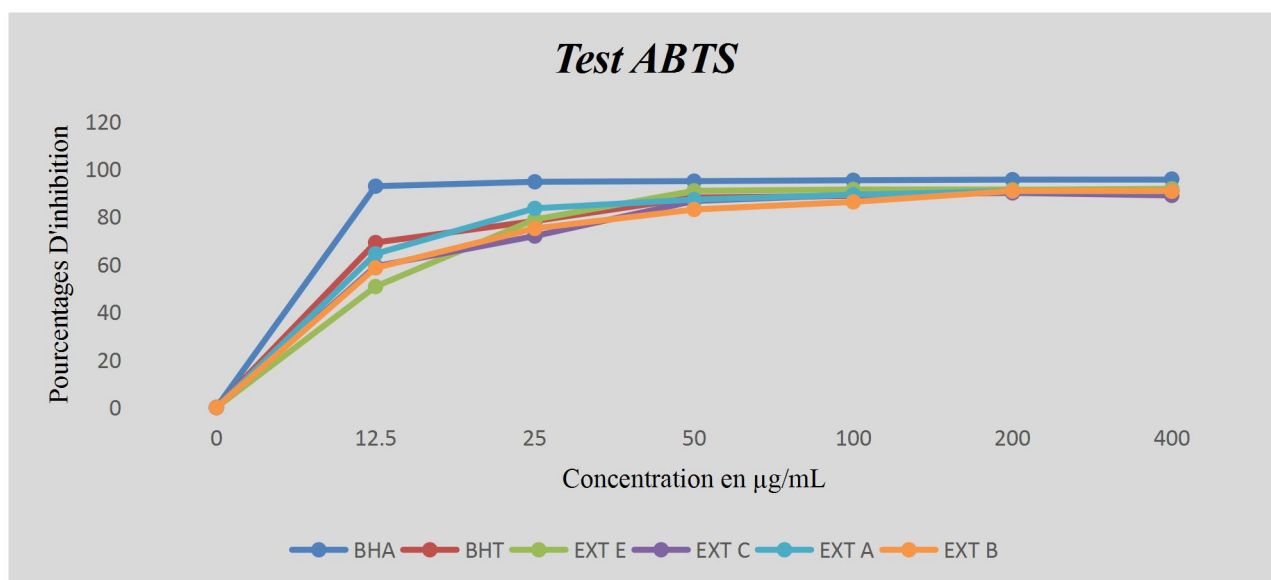


Figure 31 : Analyse comparative des pourcentages d’inhibition entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical ABTS ^{•+} (moyenne écart. Type de trois essais).

Tableau 13 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d’inhibition et de IC₅₀ des extraits testés et des standards utilisés.

Concentration/Extraits	Pourcentages d'inhibition %						
	Ext E	Ext C	Ext A	Ext B	Concentration en µg/mL	BHA	BHT
6,25µg/mL	32.31±0,88	40.34±1.58	36.52±21.20	30.34±1.58	12,50µg/mL	92.83±1.42	69.21±0.40
12,5µg/mL	50.75±1,26	59.24±1.65	64.49±9.3	48.58±1.54	25,00µg/mL	94.68±0.42	78.23±1.34
25µg/mL	78.86±0,93	71.92±2.49	83.54±5.04	75.12±1.06	50µg/mL	94.95±0.90	88.12±1.28
50µg/mL	90.91±0,45	86.64±0.60	87.23±3.35	83.05±0.59	100µg/mL	95.32±0.25	88.76±3.07
100µg/mL	91.44±1.95	89.19±0.31	89.24±1.75	86.24±2.48	200µg/mL	95.59±0.47	90.85±1.74
200µg/mL	91.34±0.4	90.04±0.70	90.76±2.64	90.84±0.06	400µg/mL	95.83±0.15	90.95±0.51
400µg/mL	91.73±0.92	88.97±0.98	90.81±2.34	90.67±1.79µ	800µg/mL	95.86±0.10	96.68±0.39
IC ₅₀ µg/mL	12,96±0,28	10,09±1,07	8,39±5,93	6,45±1,69	IC ₅₀ µg/mL	1.810±0.100	1.29±0.300

Les résultats de notre étude (figure 31) ont mis en évidence une augmentation du pourcentage d’inhibition du radical libre en fonction de la concentration, tant pour les standards BHA, BHT, que pour les différents extraits de la plante étudiés B, A, C, E.

Nous avons constaté que le BHT présente le pourcentage d’inhibition le plus élevé parmi tous les extraits testés, ainsi que le standard BHA, à une concentration de 400 µg/mL. Le pourcentage d’inhibition pour le BHT a été mesuré à 96,69±0,39 %, ce qui est remarquable.

De plus, nous avons découvert que les extraits B, A, C et E présentait également des pourcentages d'inhibitions élevés dans la même concentration. Plus spécifiquement, les extraits B, A, C et E ont montré des pourcentages d'inhibition respectifs de $90,67 \pm 1,79$ %, $90,81 \pm 2,34$ %, $88,97 \pm 0,98$ %, $91,73 \pm 0,92$ %. Ces résultats sont similaires à ceux des molécules de référence BHA et BHT.

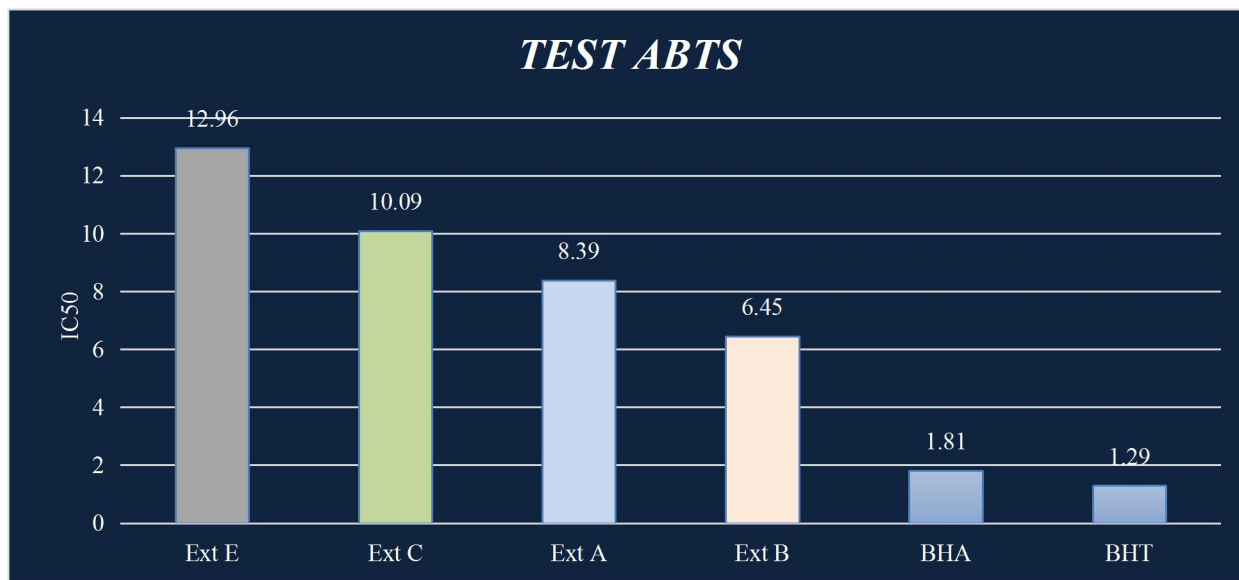


Figure 32 : Histogramme montre les valeurs d'IC₅₀ des extraits et des standards du test ABTS.

En analysant les résultats du test ABTS présentés dans la figure 32, nous pouvons observer différentes activités antioxydantes parmi les extraits testés. Les composés de références BHA et BHT ont présenté des IC₅₀ les plus bas, révélant une activité antioxydante élevée que celle des extraits. Le BHA a affiché une IC₅₀ de $1,810 \pm 0,0100$ μg/mL, tandis que le BHT a montré une IC₅₀ de $1,29 \pm 0,300$ μg/mL. Ces résultats mettent en évidence l'efficacité supérieure de ces composés de référence dans la neutralisation du radical cation ABTS⁺.

Les extraits A et B ont démontré une activité antioxydante, avec des IC₅₀ respectifs de $8,39 \pm 5,93$ μg/mL et $6,45 \pm 1,69$ μg/mL. Ces valeurs indiquent leur excellente capacité à neutraliser le radical cation ABTS⁺ et suggèrent une activité antioxydante potentielle.

En revanche, les extraits E et C ont montré des valeurs d'IC₅₀ plus élevées (respectivement $12,96 \pm 0,28$ μg/ml et $10,09 \pm 1,07$ μg/ml), indiquant une bonne activité antioxydante même ont été relativement plus faible par rapport aux autres extraits testés.

En conclusion, les extraits A, B, E et C ont démontré une capacité à neutraliser le radical cation ABTS⁺ et peuvent donc être considérés comme ayant une activité antioxydante. Dans l'ordre de décroissant suivant : Ext B, Ext A, Ext C et Ext E.

L'extrait n-butanolique et l'extrait acétate d'éthyle que nous avons testé ont démontré une excellente capacité antioxydante à neutraliser le cation ABTS⁺, avec une valeur d'IC₅₀ de 8,39±5,93 µg/mL. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Kabouche et ses collaborateurs en 2022 (*Mouna & Kabouche, 2022*) pour l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *Linum numidicum*, qui avait une valeur d'IC₅₀ de 8,28±0,12 µg/mL. Dans la même étude, il a également été révélé que l'extrait acétate d'éthyle d'une autre espèce du même genre, *Linum trigynum*, présentait une bonne activité antioxydante avec une valeur d'IC₅₀ de 37,56±0,41 µg/mL, ce qui correspond à un effet plus faible par rapport à notre extraits testé.

L'étude menée en 2020 par Keykhasalar et ses collaborateurs (*Keykhasalar et al., 2020*), sur l'huile essentielle de graines de *Linum usitatissimum* a révélé une valeur d'IC₅₀ considérablement plus élevée par rapport à nos quatre extraits testés, atteignant 350 µg/mL. Cette observation indique que nos extraits ont une excellente capacité à neutraliser le cation ABTS⁺, en comparaison avec l'huile essentielle de graines de *Linum usitatissimum*.

Ces comparaisons avec les résultats des études précédentes renforcent l'idée que nos extraits possèdent des propriétés antioxydantes remarquables, notamment en ce qui concerne leur capacité à neutraliser le cation ABTS⁺.

2.1.3. L'activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) :

Le test FRAP est une méthode utilisée pour évaluer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe³⁺), qui est de couleur jaune, en fer ferreux (Fe²⁺), qui est de couleur bleu vert, ce qui est considéré comme une mesure du pouvoir antioxydant. Les mesures d'absorbance sont réalisées à une longueur d'onde de 700nm.

Dans notre étude, nous avons comparé les résultats dans le tableau 14 ainsi que dans les figures 33, 34 et 35, avec les standards α-tocophérol et l'acide ascorbique.

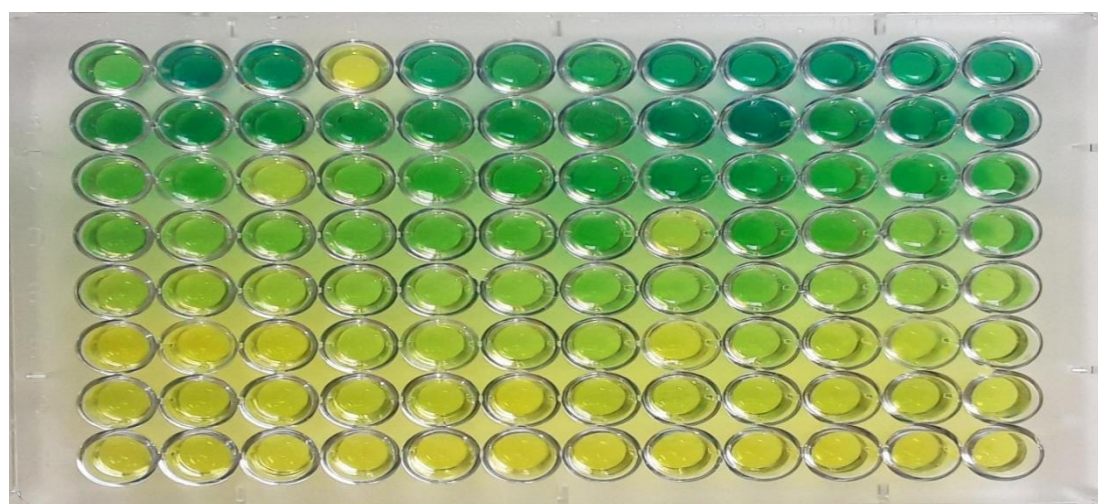


Figure 33 : Résultat du test FRAP sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).

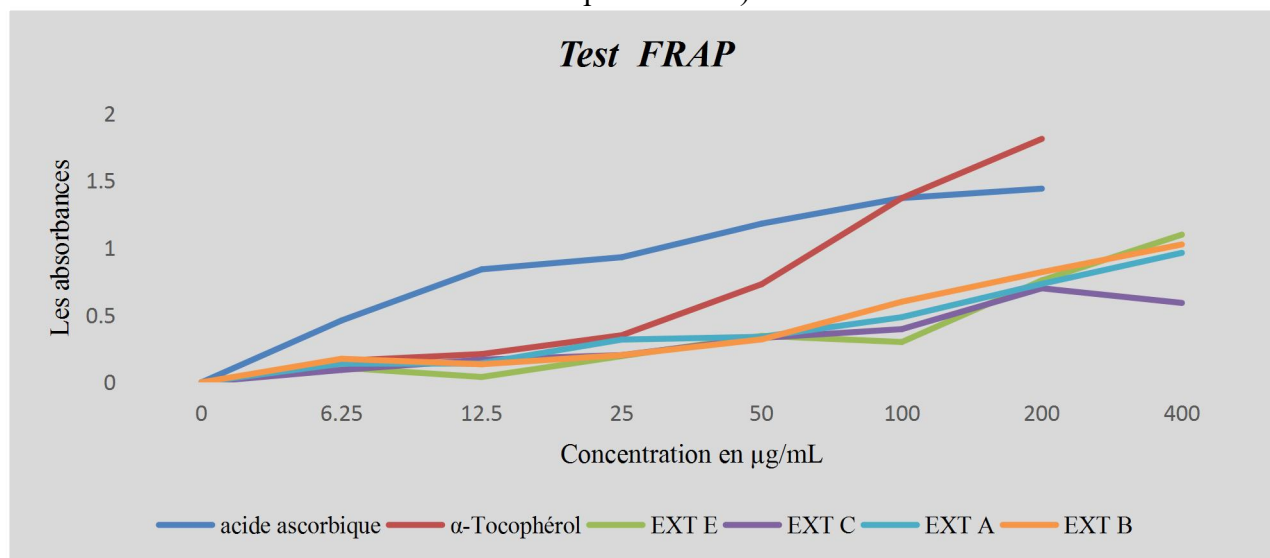


Figure 34 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical FRAP (moyenne écart.type de trois essais).

Tableau 14 : Récapitulatif des résultats d’absorbances et des A_{0,5} des extraits testés et des standards utilisés.

Concentration/Extraits	Les absorbances						
	Ext E	Ext C	Ext A	Ext B	Concentration en µg/mL	α-Tocophérol	Acide ascorbique
6,25µg/mL	0,11±0,003	0,092±0,05	0,14±0,008	0,175±0,055	3,125µg/mL	0,11±0	0,35±0,05
12,5µg/mL	0,04±0,004	0,17±0,012	0,14±0,09	0,134±0,056	6,25µg/mL	0,16±0	0,46±0,03
25µg/mL	0,195±0,02	0,2±0,020	0,32±0,034	0,2±0,009	12,5µg/mL	0,21±0,03	0,84±0,120
50µg/mL	0,35±0,06	0,33±0,032	0,34±0,26	0,32±0,161	25µg/mL	0,35±0,03	0,93±0,3
100µg/mL	0,299±0,23	0,4±0,12	0,48±0,131	0,599±0,01	50µg/mL	0,73±0,03	1,18±0,340
200µg/mL	0,76±0,08	0,7±0,071	0,73±0,53	0,82±0,39	100µg/mL	1,37±0,08	1,37±0,2
400µg/mL	1,098±0,5	0,6±0,5	0,93±0,35	1,025±0,2	200µg/mL	1,81±0,09	1,44±0,21
A _{0,5}	98,23±13,77	129,69±16,23	56,32±24,25	70,82±3,98	A _{0,5}	34.293±0	6,845±0

Les résultats de notre étude (figure 34) ont révélé une augmentation des absorbances en fonction de la concentration, tant pour les standards : acide ascorbique et α-Tocophérol que pour les différents extraits de la plante étudiés.

Nous avons observé que l’acide ascorbique présentait la plus haute absorbance parmi tous les extraits testés, ainsi que le standard α-tocophérol, à une concentration de 200 µg/mL. L’absorbance mesurée pour l’acide ascorbique était de 1,81 ± 0,09, ce qui remarquable.

De plus, nous avons constaté que les extraits E, A et B présentait également des absorbances élevées à une concentration de 400 µg/ mL. Plus précisément, les extraits E, A et B ont montré les absorbances respectives suivantes : 1,098 ± 0,5, 0,93±0,35 et 1,025 ± 0,2 (tableau 14). Ces résultats

sont similaires à ceux des molécules de référence acide ascorbique et α -Tocophérol et sont supérieurs à ceux de l'autre extrait C ($0,6 \pm 0,5$).

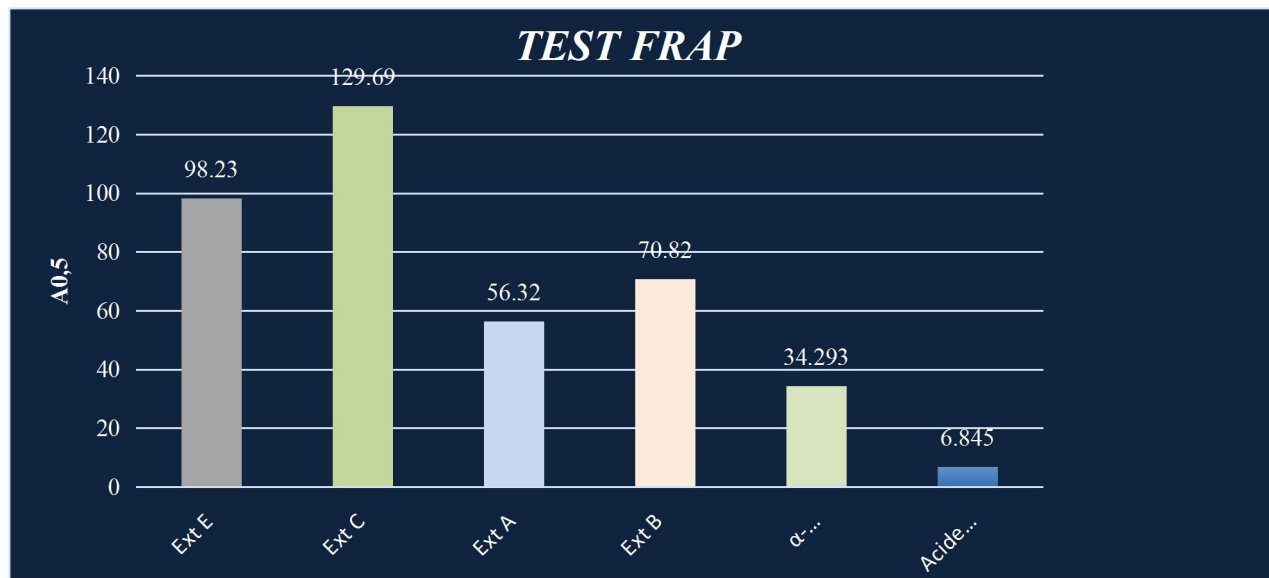


Figure 35 : Histogramme montre les A_{0,5} des extraits et des standards du test FRAP.

Dans ce test, les molécules de référence, l' α -tocophérol et l'acide ascorbique, ont des valeurs A_{0,5} encore plus basses. Ces résultats confirment le potentiel antioxydant élevé bien documenté de ces molécules, tel qu'établi dans la littérature scientifique.

L'extrait acétate d'éthyle a montré la valeur A_{0,5} la plus basse égale à $56,32 \pm 0 \mu\text{g/mL}$, suggérant une activité antioxydante potentiellement plus forte par rapport aux autres extraits.

Les extraits B, C, E ont démontré des bonnes activités antioxydantes, bien qu'inférieures aux standards utilisés. L'Ext B présente une activité environ deux fois inférieure à celle de l' α -Tocophérol, tandis que l'Ext E et l'Ex C sont respectivement trois et quatre fois inférieurs à l' α -Tocophérol. Cependant, toutes ces valeurs des extraits restent largement inférieures à celles de l'acide ascorbique. Les valeurs obtenues pour ces extraits sont les suivants : $70,82 \pm 3,95 \mu\text{g/mL}$, $98,13,77 \mu\text{g/mL}$, $129,69 \pm 16,23 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

En conclusion, les résultats suggèrent que l'extrait acétate d'éthyle présente une activité antioxydante potentiellement plus élevée parmi les extraits, suivi d'Ext B, Ext E et Ex C.

En 2021, Song et ses collaborateurs (*Song et al., 2021*) ont démontré que l'extrait de polyphénols testé à partir de l'espèce *Linum usitatissimum* présentait une bonne activité antioxydante, avec une valeur de $121,1 \pm 1,3 \mu\text{g/mL}$. Cette valeur est presque similaire à celles obtenues pour les extraits éther et chloroforme de notre espèce testée ($98,23 \pm 13,77 \mu\text{g/mL}$, $129,69 \pm 16,23 \mu\text{g/mL}$ respectivement). En revanche, elle est presque deux fois supérieure aux

valeurs obtenues pour les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol ($56,32 \pm 24,35 \mu\text{g/mL}$, $70,82 \pm 3,98 \mu\text{g/mL}$ respectivement). Ces résultats suggèrent que nos deux extraits, éther et chloroforme, présentent une activité antioxydante similaire à celle de l'extrait de polyphénols testé. D'autre part, les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol ont montré une forte capacité à chélater les ions ferreux par rapport à cet extrait.

Le test FRAP réalisé sur des extraits méthanoliques de l'espèce *Linum usitatissimum* par Deme et ses collaborateurs (*Deme et al., 2021*) a révélé des valeurs allant de $15,25 \mu\text{g/mL}$ à $30,64 \mu\text{g/mL}$, ce qui indique une activité antioxydante élevée par rapport à nos quatre extraits testés.

Ces études confirment que nos extraits testés pourraient être efficaces dans la neutralisation des ions ferreux.

2.1.4. Evaluation de l'activité de la réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline :

Le pouvoir antioxydant des extraits a été évalué en utilisant la méthode de la phénanthroline, qui se base sur la réduction et la formation du complexe ferroïne (Fe^{+2}) à partir du fer aqueux réduit (Fe^{+2}). Cette réaction se manifeste par une absorbance de couleur rouge-orangée foncée mesurée à 510nm.

Les résultats obtenus ont été comparés aux standards BHA et BHT, couramment utilisés comme références dans les études antioxydantes.

Les résultats ont été présentés sous forme de données tabulaires (15) et de figures graphiques (figure36, figure37) et (figure38), fournissant ainsi une visualisation claire des réponses obtenues.

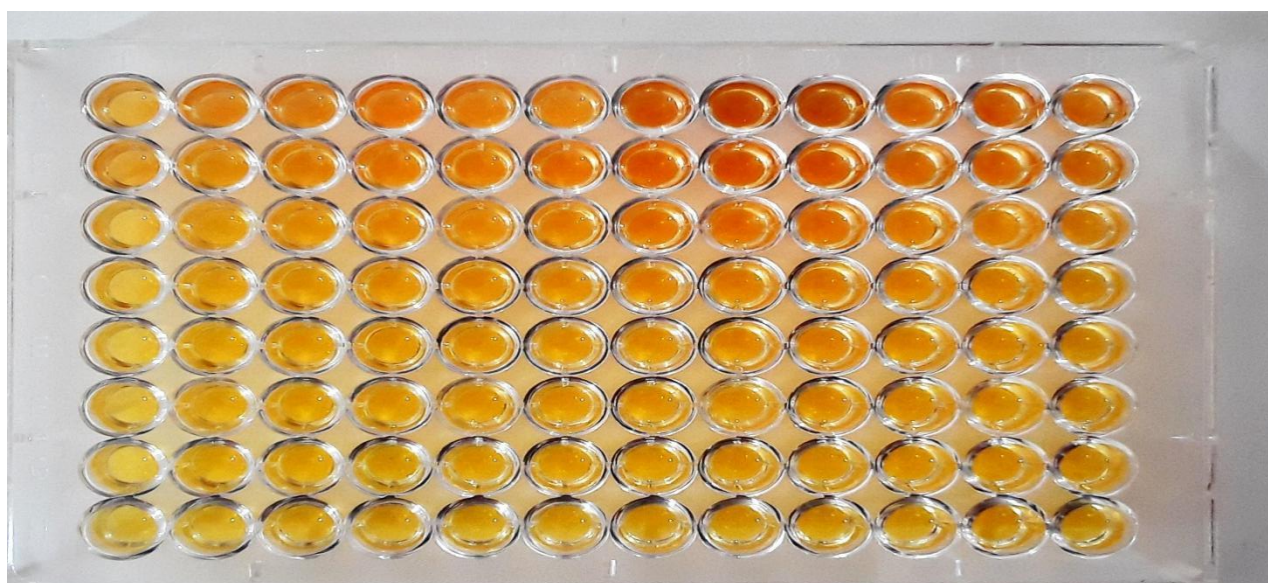


Figure 36 : Résultat du test Phénanthroline sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).

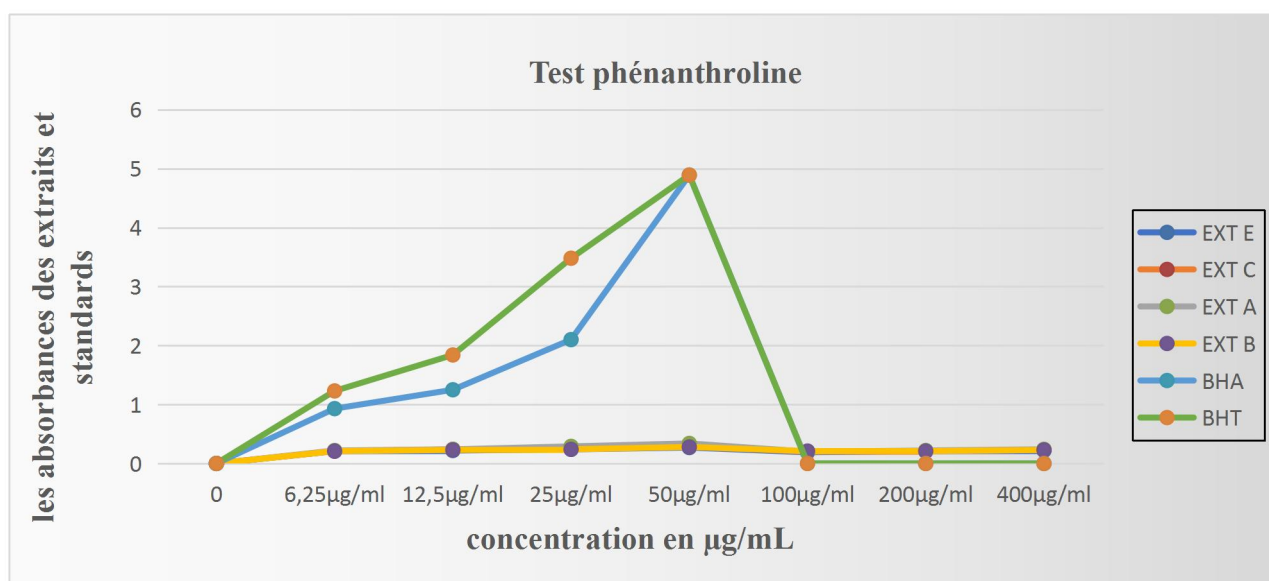


Figure 37 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du Phénanthroline (moyenne écart.type de trois essais).

Tableau 15 : Récapitulatif des résultats d’absorbances et des A_{0,5} des extraits testés et des standards utilisés.

Concentration/Extrait	Les absorbances							
	6,25µg/mL	12,5µg/mL	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL	200µg/ml	400µg/mL	A _{0,5}
EXT E	0,21±0,005	0,22±0,008	0,24±0,002	0,27±0,01	0,19±0,004	0,21±0,005	0,22±0,008	194,53±72,14
EXT C	0,21±0,016	0,239±0,006	0,25±0,005	0,29±0,006	0,20±0,001	0,21±0,016	0,23±0,006	199,97±33,26
EXT A	0,22±0,003	0,24±0,002	0,29±0,024	0,34±0,006	0,2±0,007	0,22±0,003	0,24±0,002	105,51±8,24
EXT B	0,21±0,008	0,23±0,009	0,24±0,010	0,28±0,011	0,21±0,012	0,21±0,013	0,23±0,014	186,03±25,08
Concentration	6,25 µg/mL	12,5µg/mL	25µg/mL	50µg/mL				A _{0,5}
BHA	0,93±0,01	1,25±0,04	2,1±0,05	4,89±0,06				0,93±0,07

Les résultats comparatifs présentés dans la figure (37) démontrent que les absorbances des extraits sont similaires entre elles et inférieures aux absorbances des standards (BHA, BHT).

De plus, les résultats obtenus dans le tableau (15) confirment que les absorbances des extraits sont inférieures à celles des standards (BHA, BHT) pour toutes les concentrations testées.

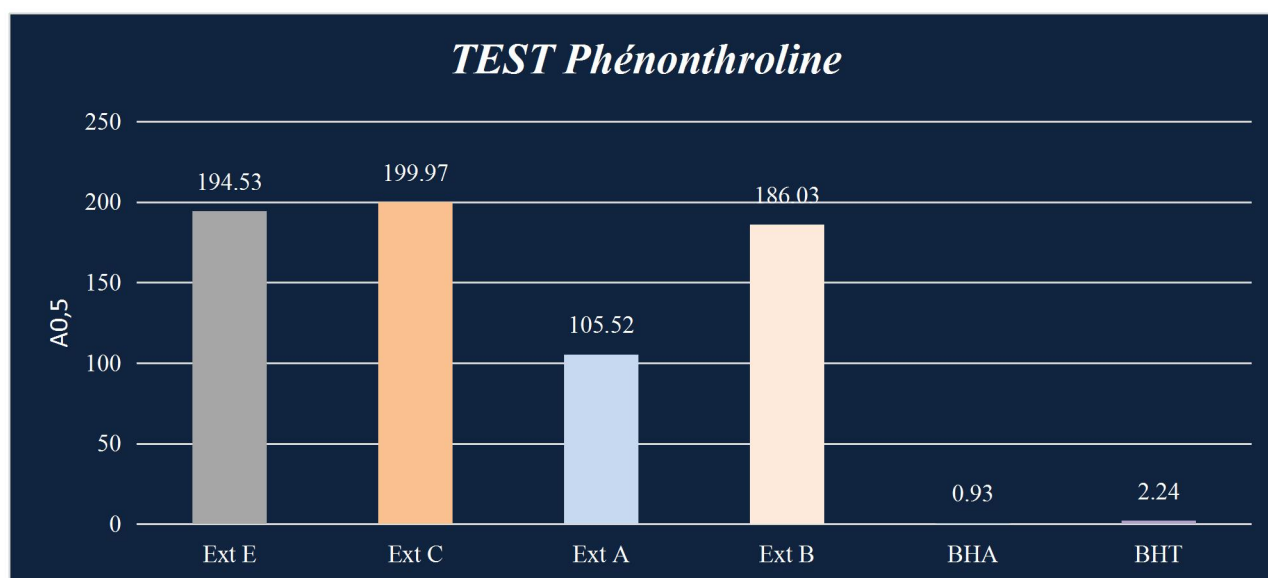


Figure 38 : Histogramme montre les A_{0,5} des extraits et des standards du test Phenanthroline.

Les résultats présentés dans la figure (38) indiquent que les molécules de référence BHA, BHT présentent respectivement des valeurs A_{0,5} de $0,93 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ et $2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$, témoignant ainsi de leur bonne activité antioxydante. Il est également notable que la molécule BHA exhibe une activité antioxydante supérieure à celle de BHT.

Parmi les extraits, l'extrait (A) a révélé le meilleur pouvoir réducteur du fer en formant un complexe Fe⁺²-phénanthroline, bien que moins efficace que les molécules de référence, car sa valeur A_{0,5} était supérieure $105,51 \pm 8,24 \mu\text{g/mL}$ à celle de BHA et BHT.

En revanche, les extraits B ($186,03 \pm 25,08 \mu\text{g/mL}$) C ($199,97 \pm 33,26 \mu\text{g/mL}$) et E ($194,53 \pm 72,14 \mu\text{g/mL}$), ont montré des valeurs A_{0,5} pratiquement similaires entre eux. De plus, ces extraits ont affiché des valeurs A_{0,5} plus élevées que l'extrait A ainsi que les standards BHA et BHT. Par conséquent, les extraits B, C et E ont présenté une activité antioxydante relativement faible dans cet ordre.

Ces résultats viennent confirmer les conclusions précédemment obtenues à partir du test FRAP.

Les travaux de Mouna et Kabouche (2022) (*Mouna & Kabouche, 2022*) ont mis en évidence des niveaux intéressants d'activité antioxydante pour une plante de l'espèce *linum numidicum*, ainsi que pour une autre espèce, *linum trigynum*. Les valeurs d'A_{0,5} obtenues pour ces extraits d'acétate d'éthyle étaient de $13,97 \pm 1,44 \mu\text{g/mL}$ et $16,73 \pm 1,60 \mu\text{g/mL}$ respectivement. Ces valeurs sont considérablement inférieures à celle observées pour notre extrait d'acétate d'éthyle A, ce qui indique que leur extrait est plus efficace en termes d'activité antioxydante.

2.1.5. Activité SNP (Silver nanoparticles assay) :

Pour évaluer de manière précise et comparative l'activité antioxydante des extraits étudiés en utilisant la méthode de SNP (Silver Nanoparticle-based Antioxydant assay), cette méthode repose sur la réduction et la formation de nanoparticules d'argent (SNP) à partir du sel d'argent (Ag(I)) en présence de citrate, qui agit à la fois en tant qu'agent réducteur et stabilisant des SNP. En mesurant les propriétés antioxydantes des échantillons, le test SNP permet d'obtenir des informations quant à leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger contre le stress oxydatif.

La mesure colorimétrique réalisée dans le cadre du test SNP se base sur l'absorption caractéristique par résonance plasmonique de surface (SPR) des SNP (Ag. NPS). Cette absorption est mesurée à une longueur d'onde de 423 nm.

Afin d'établir des comparaisons significatives, les résultats obtenus ont été comparés aux molécules de référence, le trolox et l'acide ascorbique.

Les résultats ont été présentés de manière claire et visuelle à l'aide de données tabulaires (16) et de représentations graphique (figure 39, figure 40) et (figure 41).

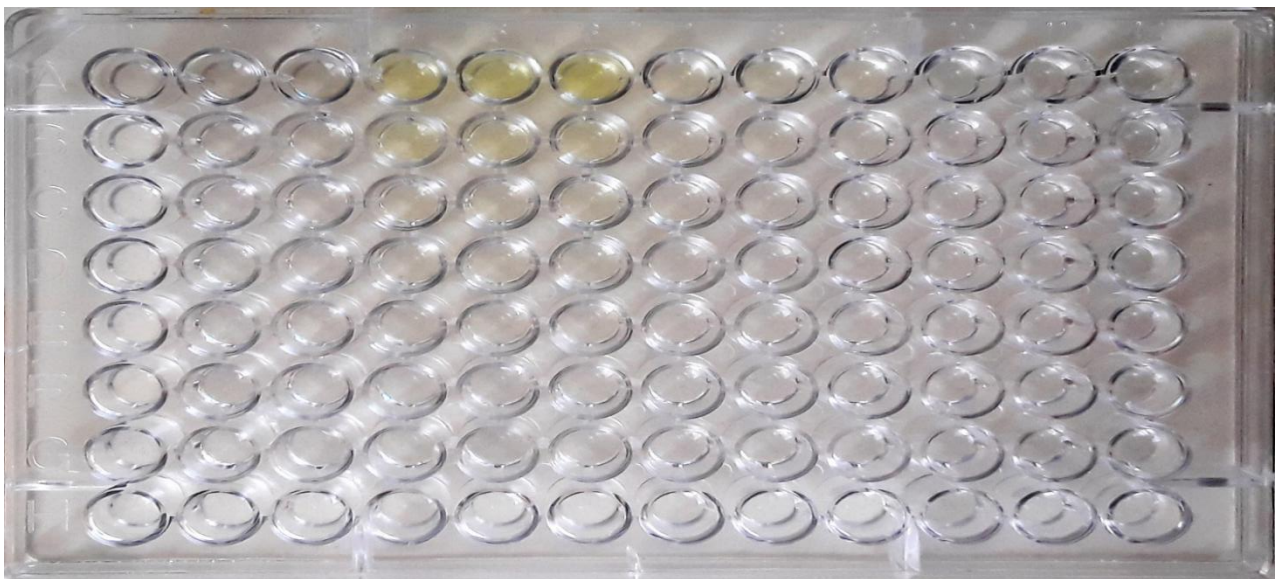


Figure 39 : Résultat du test SNP sur microplaques (trois répétitions pour chaque extrait E, C, A, B respectivement).

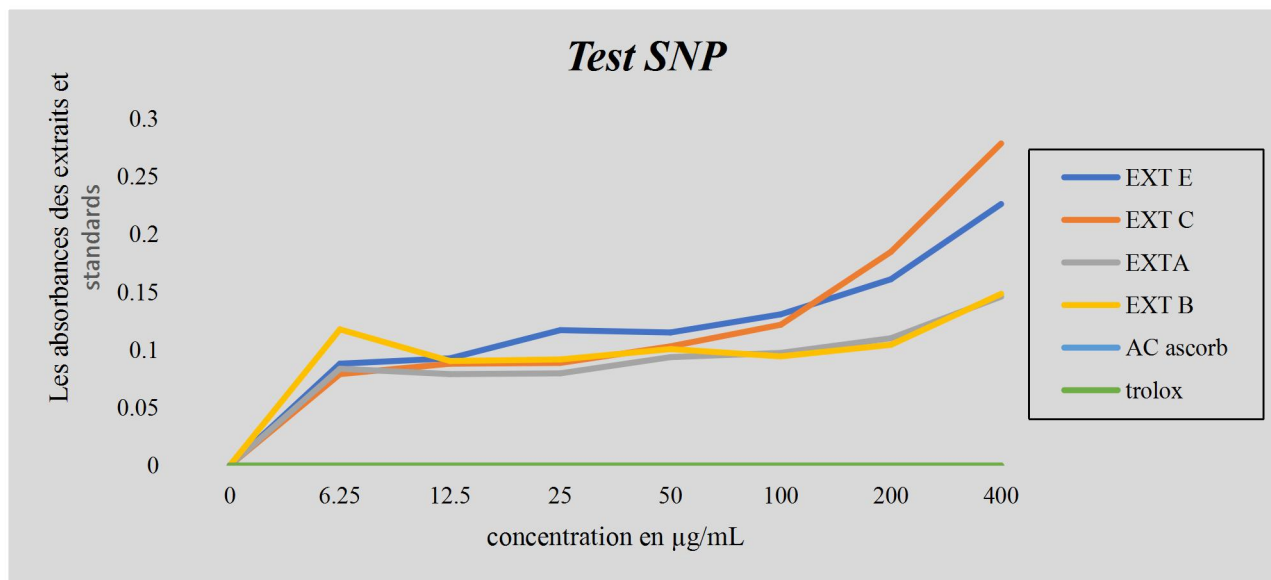


Figure 40 : Analyse comparative des absorbances entre les antioxydants de références et les extraits testés vis-à-vis du radical SNP (moyenne écart.type de trois essais).

Tableau 16 : Récapitulatif des résultats d’absorbances et des A_{0,5} des extraits testés et des standards utilisés.

Concentration	Les absorbances							
	6,25 µg/mL	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	A _{0,5}
EXT E	0,08±0,005	0,09±0,003	0,11±0,02	0,11±0,003	0,13±0,008	0,16±0,004	0,22±0,01	1228,19±196,65
EXT C	0,07±0,003	0,08±0,002	0,08±0,002	0,1±0,002	0,12±0,004	0,18±0,01	0,27±0,04	831,53±181,007
EXT A	0,08±0,01	0,07±0,004	0,07±0,01	0,09±0,01	0,09±0,002	0,11±0,005	0,14±0,004	167,89±181
EXT B	0,11±0,02	0,09±0,005	0,09±0,004	0,1±0,005	0,09±0,002	0,1±0,003	0,14±0,01	822,93±76,24
Concentration	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL				A _{0,5}
AC ascorbique	0,75±0,01	1,22±0,01	1,9±0,03	2,35±0,01				7,14±0,05
Trolox	0,3±0,01	0,43±0,01	0,64±0,03	1,04±0,01				34,17±1,23

Les résultats obtenus dans la figure 40 démontrent de manière significative que les absorbances des extraits testés sont très similaires les unes aux autres, et qu’elles sont supérieures aux absorbances des standards utilisés.

Les absorbances des standards, quant à elles, se présentent sous la forme de deux droites congruentes d’absorbance inférieure.

Ces observations sont également corroborées par les données présentées dans le tableau (16).

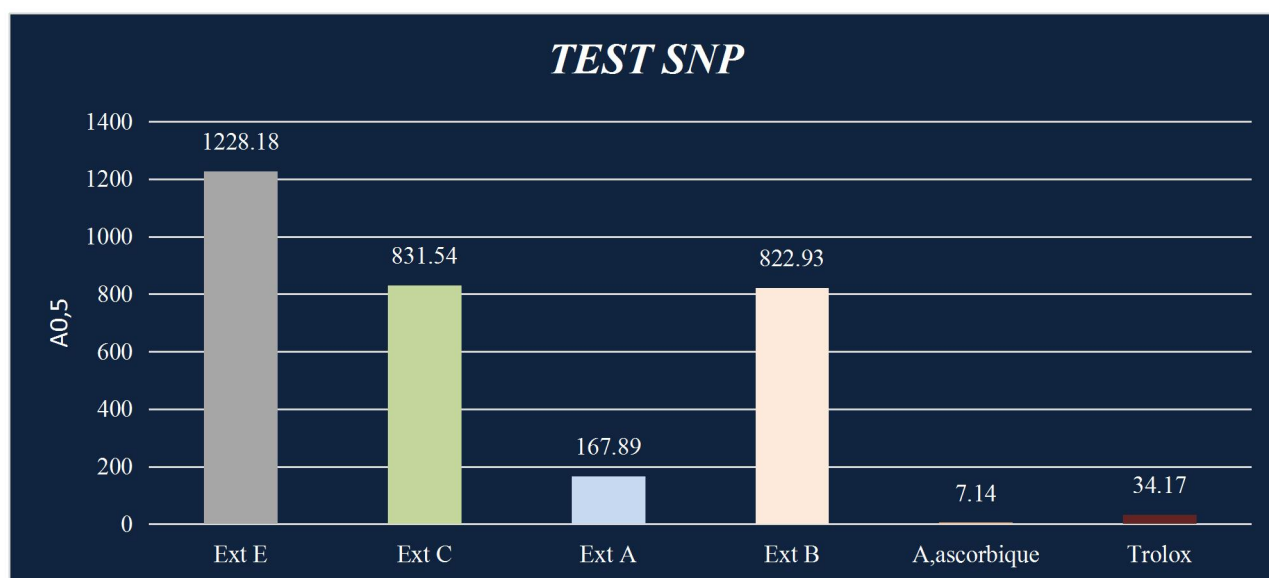


Figure 41 : Histogramme montre les A_{0,5} des extraits et des standards du test SNP.

En analysant les résultats, on observe que l'acide ascorbique et le trolox présentent une activité antioxydante élevée, avec des valeurs de A_{0,5} (7,14±0,05 µg/mL et 34,17±1,23 µg/mL) respectivement inférieures à celles des extraits.

En analysant les données de la figure 41, on peut observer que la valeur A_{0,5} de l'Ext A acétate d'éthyle relativement basse (167,89 ±76,24 µg/mL) présente une appréciable activité, inférieur presque cinq fois aux trolox, suggère un pouvoir réducteur le plus élevée parmi les autres extraits testés.

En revanche, les Ext B, Ext C, Ext E ont des valeurs de A_{0,5} plus élevées (822,93±549,91 µg/mL, 831,54±181 µg/mL, 1228,19±196,65 µg/mL respectivement), ce qui indique une activité antioxydante très faible par rapport aux standards utilisés et aux extrait acétate d'éthyle.

On conclusion à l'aide de ces résultats :

Test	Extrait	IC50
DPPH	B	13,69±2,21 µg/mL
	A	12,08±0,76 µg/mL
	C	23,90±4,53 µg/mL
	E	20,42±1,60 µg/mL
ABTS	B	6,45±1,69 µg/mL
	A	8,39±5,93 µg/mL
	C	10,09±1,07 µg/mL
	E	12,96±0,28 µg/mL

FRAP	B	70,82±3,98 µg/mL
	A	56,32±24,25 µg/mL
	C	129,69±16,23 µg/mL
	E	98,23±13,77 µg/mL
Phenanthroline	B	186,03±25,8 µg/mL
	A	105,51±8,24 µg/mL
	C	199,97±33,26 µg/mL
	E	194,53±72,14 µg/mL
SNP	B	822,93±549,93 µg/mL
	A	167,89±76,89 µg/mL
	C	831,53±181,007µg/mL
	E	1228,19±196,65µg/mL

Tableau 17 : Récapitulatif des résultats IC₅₀ des cinq tests antioxydants.

✓ A l'aide de ces résultats, nous pouvons conclure que:

L'extrait d'acétate d'éthyle a démontré une excellente activité antioxydante en termes d'inhibition des radicaux libres DPPH et ABTS⁺, ainsi qu'une forte capacité à réduire le fer ferrique dans le complexe phérucianure de potassium. De plus, l'extrait A présente une activité antioxydante appréciable en ce qui concerne la Phenanthroline et le SNP. En revanche, l'extrait de *n*-butanol affiche des valeurs légèrement plus élevées d'IC₅₀ par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle A (à l'exception de l'ABTS⁺ où c'est l'inverse).

Quant aux extraits d'éther E et de chloroforme C, ils démontrent les valeurs d'IC₅₀ les plus élevées dans tous les tests, suggérant une activité antioxydante relativement plus faible par rapport aux extraits A et B.

En résumé, l'extrait d'acétate d'éthyle A présente la plus grande activité antioxydante parmi les extraits testés, suivi de près par l'extrait de *n*-butanol B, puis les extraits d'éther E et de chloroforme C. Ces résultats indiquent que les extraits d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol renferment des composés dotés d'une remarquable capacité antioxydante, ce qui en fait des candidats prometteurs pour des applications dans le domaine de la santé. Ils pourraient également constituer des sources prometteuses de composés antioxydants et méritent donc une attention particulière pour d'autres études et applications potentielles.

Nos résultats, ainsi que la comparaison des extraits testés provenant de notre espèce du genre *Linum* avec ceux d'autres espèces du même genre, mettent en évidence la diversité des activités antioxydantes présentes dans ces espèces. Cette diversité d'activités antioxydantes entre les différentes espèces du genre *Linum* suggère la présence de composés bioactifs spécifiques dans chaque espèce, contribuant ainsi à leurs propriétés antioxydantes uniques.

2.2. Activités anti-inflammatoires

La présente étude vise à évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante étudiée en utilisant deux approches : l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine et la stabilisation de la membrane érythrocytaire afin de prévenir l'hémolyse.

2.2.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines BSA

L'objectif de cette étude est de mesurer l'activité anti-inflammatoire à l'aide d'une méthode qui se base sur la dénaturation thermique des protéines, en particulier la protéine de sérum bovin (BSA).

Les résultats obtenus ont été organisés dans le tableau (18), ainsi que sous forme de graphiques (figure 42, figure 43) pour une meilleure visualisation.

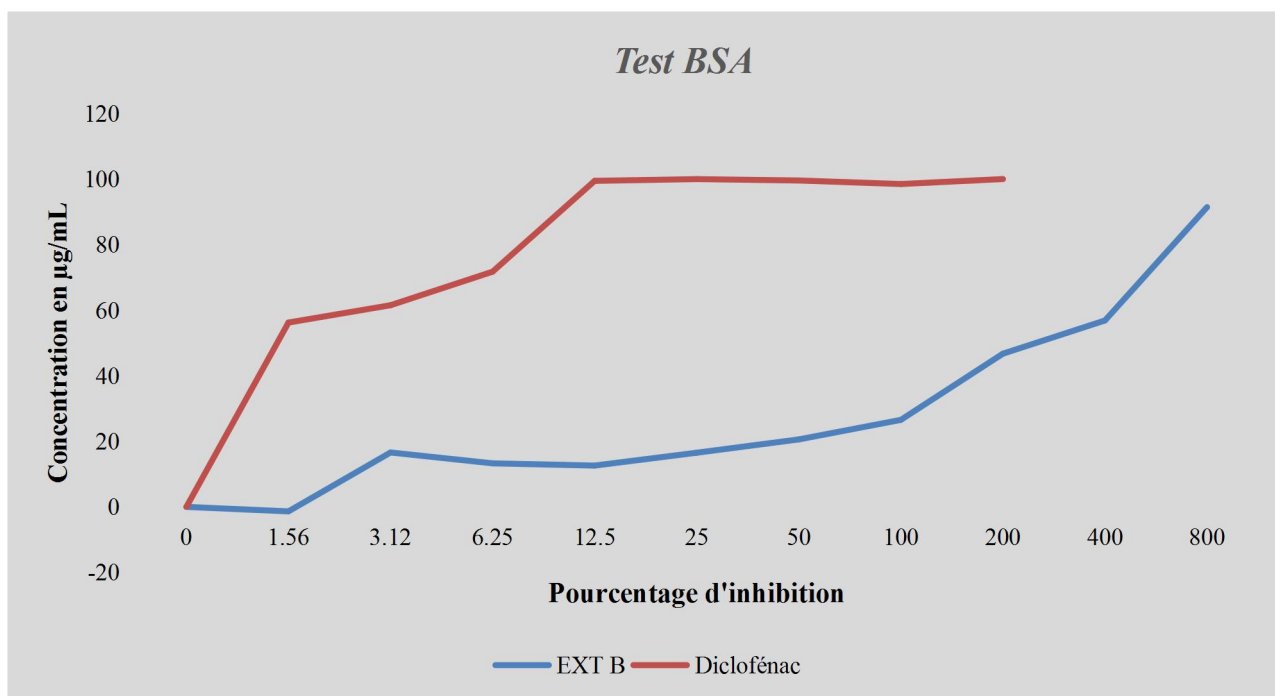


Figure 42 : Analyse comparative des pourcentages d'inhibition entre l'anti-inflammatoire de référence et l'extrait testé (moyen écart type de trois essais)

Tableau 18 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition d'extrait testé et le standard utilisé.

Concentration	Pourcentage d'inhibition								
	1,56 µg/mL	3,12 µg/mL	6,25µg/ mL	12,5µg/ mL	25µg/m L	50µg/m L	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
Ext B	1,36±6, 51	16,61±0, 191	13,3±6, 34	12,61±5 ,52	16,53±1 ,77	20,6±0, 85	26,56±2 ,27	46,77±3, 06	56,91±1 3,51
Dicloféna c	56.28±6 ,61	61.57±2, 78	71.81±9 ,32	99.54±0 ,28	100.07± 0 µ	99.65±0 ,04	98.57±0 ,56	100.09± 0,10	

En analysant les données, on remarque une tendance générale à l'augmentation des pourcentages d'inhibition à mesure que la concentration augmente pour les deux molécules (extrait B, diclofénac).

Aux concentrations les plus faibles (1,56 µg/mL, 3,12 µg/mL), l'extrait B présente des pourcentages d'inhibition faibles (1,36±6,51 %, 16,61±0,191 % respectivement). En revanche, le diclofénac affiche des pourcentages d'inhibition plus élevés à ces concentrations (56,28%, 61,57%) respectivement.

Aux concentrations les plus élevées, on observe une augmentation progressive des pourcentages d'inhibition pour l'extrait B, atteignant sa valeur maximale de (91,5±13,23%) à une concentration de 800 µg/mL. En revanche, le diclofénac atteint son pourcentage d'inhibition maximal de (100,09±0,10%) à une concentration plus basse, soit 200 µg/mL.

Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode de l'IC₅₀ pour évaluer la capacité anti-inflammatoire de l'extrait B et du diclofénac. Les valeurs de l'IC₅₀, qui représentent les concentrations nécessaires pour inhiber à 50% l'activité inflammatoire, ont été déterminées à partir des équations de régression linéaire des graphiques.

Ces valeurs d'IC₅₀ ont été représentées dans l'histogramme suivant, permettant ainsi de comparer l'efficacité des deux molécules dans leur capacité à réduire l'inflammation. Une valeur d'IC₅₀ plus basse indique une plus grande efficacité, car une concentration plus faible est nécessaire pour atteindre une inhibition de 50%.

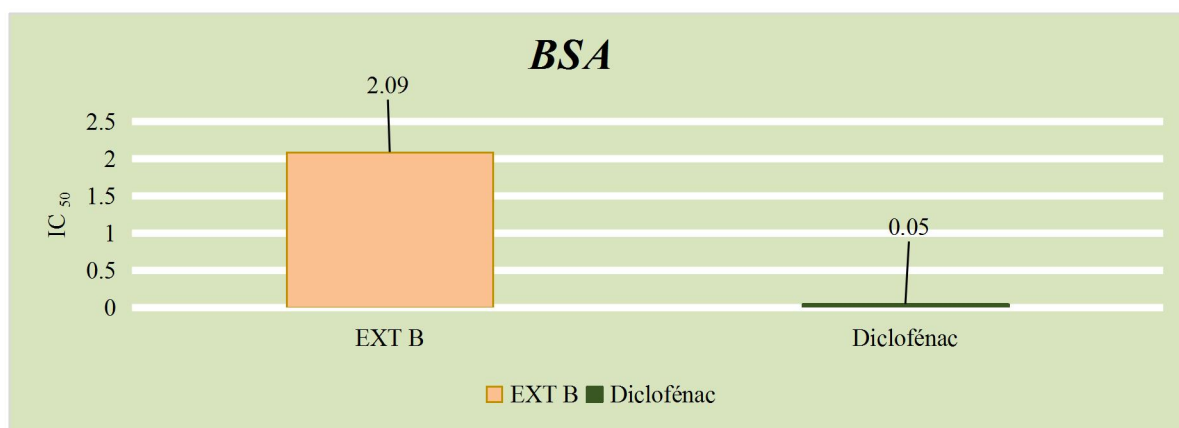


Figure 43 : Histogramme montre les valeurs d'IC₅₀ d'un anti-inflammatoire de référence et d'extrait testé.

Selon les résultats fournis dans l'histogramme, il est clair que la valeur IC₅₀ de l'extrait B (2,09±0,49 µg/mL) est supérieure à la valeur IC₅₀ du diclofénac (0,05±0,007 µg/mL).

Effectivement, les résultats suggèrent que l'extrait B possède une faible activité protectrice contre la dénaturation de protéine BSA.

D'après l'étude réalisée par cheurfa et al. (2022) (*Cheurfa et al. 2022*) sur la plante *linum usitatissimum L.*, les résultats du test BSA ont été présentés sous forme de tableau (19).

Les extraits de <i>linum usitatissimum</i>	IC ₅₀ en (µg/ml)
Extrait aqueux	7,62 ±1,56 µg/mL
Extrait hydroalcoolique	36,86 ±2,72 µg/mL

Tableau 19 : Les résultats des valeurs IC₅₀ pour l'extrait aqueux et hydroalcoolique de plante *linum usitatissimum L.*

Les deux extraits de cette espèce présentent des valeurs IC₅₀ plus élevées que la valeurs IC₅₀ de notre extrait B, ce qui indique que l'extrait B est plus faible pour inhiber la dénaturation de BSA que ces extraits.

2.2.2. Activité anti-hémolytique

2.2.2.1. Innocuité des extraits vis-à-vis des cellules érythrocytaires

Afin de pouvoir évaluer l'activité anti-hémolytique des extraits, il était essentiel de préalablement évaluer leur innocuité vis-à-vis des cellules érythrocytaires. Cette évaluation nous a permis de déterminer les concentrations appropriées à utiliser. Les taux d'hémolyse, obtenus après l'incubation des érythrocytes en présence des extraits, ont été calculés en comparant un témoin positif (érythrocytes avec de l'eau distillée) à un témoin négatif (extraits à différentes concentrations avec

le tampon phosphate salin PBS). Les résultats obtenus sont présentés dans les histogrammes suivants (Figure 44 et Figure 45) :

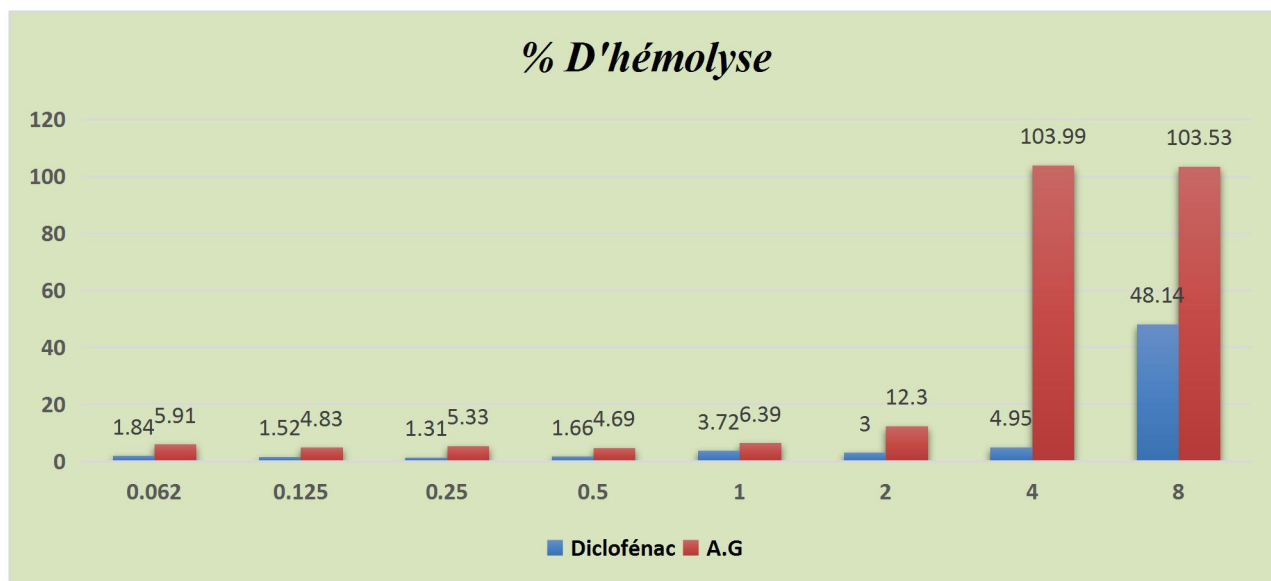


Figure 44 : Histogramme montre les pourcentages d'hémolyse des hématies des déférents concentrations de références utilisées : diclofénac et acide gallique.

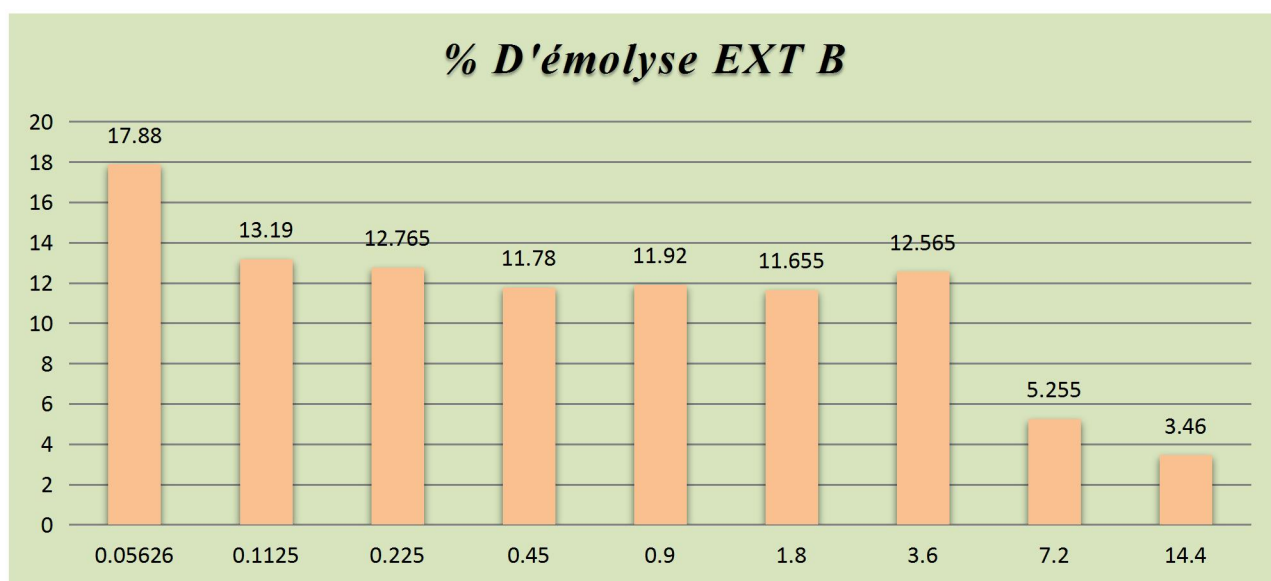


Figure 45 : Histogramme montre les pourcentages d'hémolyse d'extrait n-butanolique testé.

On observe une diminution de l'hémolyse avec l'augmentation de la concentration de l'extrait jusqu'à une certaine concentration, puis une augmentation de l'hémolyse à des concentrations plus élevées pour l'extrait n-butanol testé par rapport aux standards utilisés.

Aux concentrations les plus faibles (0,05626 µg/mL et 0,1125 µg/mL), l'extrait n-butanol semble induire une hémolyse relativement élevée, ce qui peut suggérer une certaine toxicité à ces concentrations. À partir de la concentration de 0,225 µg/mL, nous observons une diminution progressive de l'hémolyse, et à partir de la concentration de 7,2 µg/mL, nous constatons une

diminution marquée de l'hémolyse, ce qui suggère une innocuité importante de l'extrait *n*-butanol à ces concentrations élevées. Cette diminution significative de l'hémolyse est un indicateur positif de l'innocuité de l'extrait *n*-butanol à des concentrations élevées. La diminution de l'hémolyse observée à la concentration de 14,4 µg/mL confirme cette tendance et renforce l'hypothèse d'une innocuité de l'extrait *n*-butanol à des concentrations élevées.

Les pourcentages d'hémolyse pour l'acide gallique sont généralement inférieurs à ceux du diclofénac pour toutes les concentrations testées, ce qui suggère une moindre toxicité de l'acide gallique envers les hématies. En ce qui concerne le diclofénac, les pourcentages d'hémolyse augmentent de manière significative aux concentrations les plus élevées (4 µg/mL et 8 µg/mL), ce qui peut indiquer une toxicité plus importante à des concentrations supérieures.

Comparativement, les pourcentages d'hémolyse observés pour l'extrait B semblent être plus élevés que ceux du diclofénac et de l'acide gallique, en particulier aux concentrations les plus faibles.

2.2.2.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique

Effectivement, plusieurs approches ont été utilisées dans le domaine de la biochimie pour étudier l'efficacité anti-inflammatoire des extraits de plantes. L'une de ces approches est le test de stabilisation de la membrane des globules rouges que vous avez mentionné. Ce test consiste à exposer des globules rouges de rats wistar à une solution hypotonique et à une haute chaleur. Cette combinaison entraîne la destruction des membranes des globules rouges, ce qui conduit à la libération d'hémoglobine. La quantité d'hémolyse peut être évaluée en observant la couleur rouge du surnageant, qui est proportionnelle au degré d'hémolyse.

Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 20 et la figure 46. Pour comparer l'effet de l'extrait *n*-butanol, vous avez utilisé l'acide gallique comme molécule de référence. L'acide gallique est un composé couramment utilisé dans le traitement anti-inflammatoire, ce qui en fait un choix approprié pour évaluer l'efficacité des extraits de plantes.

Tableau 20: Récapitulatif des pourcentages de protection de l'extrait testé et le standard utilisé.

Concentration	0,0281µg/ml	0,05626µg/ml	0,1125µg/ml	0,225µg/ml	0,45µg/ml	0,9µg/ml	1,8µg/ml	3,6µg/ml	7,2µg/ml	14,4µg/ml
Ext B	8,265±1,39	14,62±1,85	14,785±9,64	18,36±8,34	21,46±0,33	22,46±0,98	22,465±1,07	24,13±2,5	58,585±0,7	64,395±0,64
A. G	21,805±0,42	23,215±1,29	34,23±0,18	52,525±4,45	55,605±0,23	56,66±0	57,315±0,74	58,3±0	57,97±0	57,74±0,32

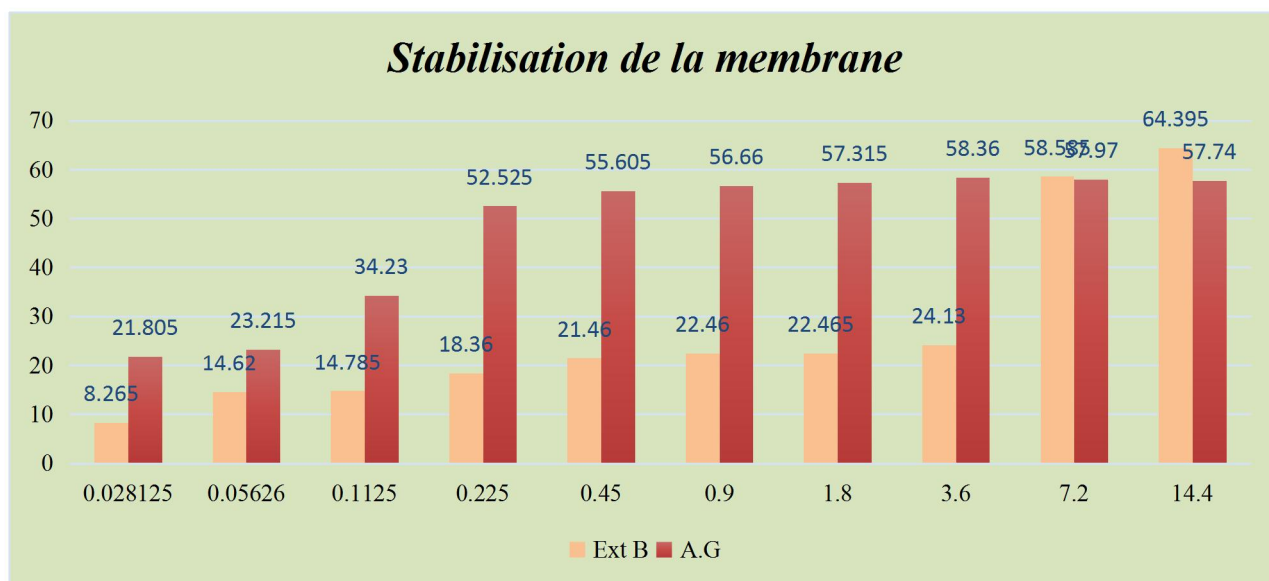


Figure 46 : Histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des concentrations de l'extrait testé et l'acide gallique.

L'analyse des données révèle des variations dans la protection contre l'hémolyse pour chaque composé. À des concentrations plus faibles, l'extrait testé présente une protection limitée, avec des pourcentages de protection compris entre $8,265 \pm 1,39$ % et $24,13 \pm 2,5$ %. En revanche, l'acide gallique montre une protection plus élevée à ces concentrations, avec des pourcentages allant de $21,805 \pm 0,42$ % à $58,3 \pm 0$ %.

Cependant, à une concentration de $7,2 \mu\text{g/mL}$, il y a un changement significatif. L'extrait *n*-butanolique testé présente une augmentation importante de la protection contre l'hémolyse, atteignant un pourcentage de $58,585 \pm 0,7$ %, tandis que l'acide gallique montre une diminution de la protection à $57,97 \pm 0$ %. Ce changement suggère qu'à cette concentration spécifique, l'extrait testé pourrait être plus efficace que l'acide gallique pour protéger contre l'hémolyse.

À une concentration de $14,4 \mu\text{g/mL}$, l'extrait testé continue de présenter une protection élevée ($64,395 \pm 0,64$ %), tandis que l'acide gallique montre une protection légèrement plus faible ($57,74 \pm 0,32$ %). Cela renforce l'idée que l'extrait testé à cette concentration peut être efficace pour prévenir l'hémolyse.

En conclusion, ces résultats suggèrent que l'extrait testé présente une dépendance à la concentration pour sa capacité à protéger contre l'hémolyse, avec une augmentation significative de la protection à des concentrations plus élevées, mais semble moins efficace à des concentrations plus faibles. Ces résultats ouvrent la possibilité d'explorer davantage l'extrait testé comme un agent

potentiellement plus efficace dans la protection contre l'hémolyse, en particulier à des concentrations plus élevées.

L'étude menée par Mechchate et ses collaborateurs (*Mechchate et al., 2021*) a révélé que toutes les concentrations testées de l'extrait polyphénol de l'espèce *Linum usitatissimum* présentaient un pourcentage d'hémolyse inférieur à $5 \pm 0,126$ %. Cela signifie qu'il y avait un pourcentage de protection allant jusqu'à 95 %, ce qui indique que l'extrait est non hémolytique et peut être considéré comme sûr à utiliser. Cet effet protecteur est supérieur à celui observé avec l'extrait n-butanolique, qui a montré un pourcentage de protection égal à $58,3 \pm 0$ %. Cette valeur est près de deux fois celle obtenue avec l'extrait de l'espèce étudiée par Mechchate et ses collaborateurs.

2.3. Activité enzymatique alpha-amylase

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase est une propriété essentielle dans le contexte du diabète, car cette enzyme joue un rôle clé dans la dégradation des glucides complexes en sucres simples, tels que l'amidon.

Les inhibiteurs de l'alpha-amylase, comme l'acarbose (molécule de référence), sont utilisés comme agents anti-diabétiques. Ces inhibiteurs agissent en se liant à l'enzyme alpha-amylase et en entravant son activité catalytique, ce qui réduit la dégradation des glucides en sucres simples.

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase est généralement mesurée en utilisant l'IC₅₀, qui représente la concentration nécessaire pour inhiber l'activité de l'enzyme de 50%. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure (48).

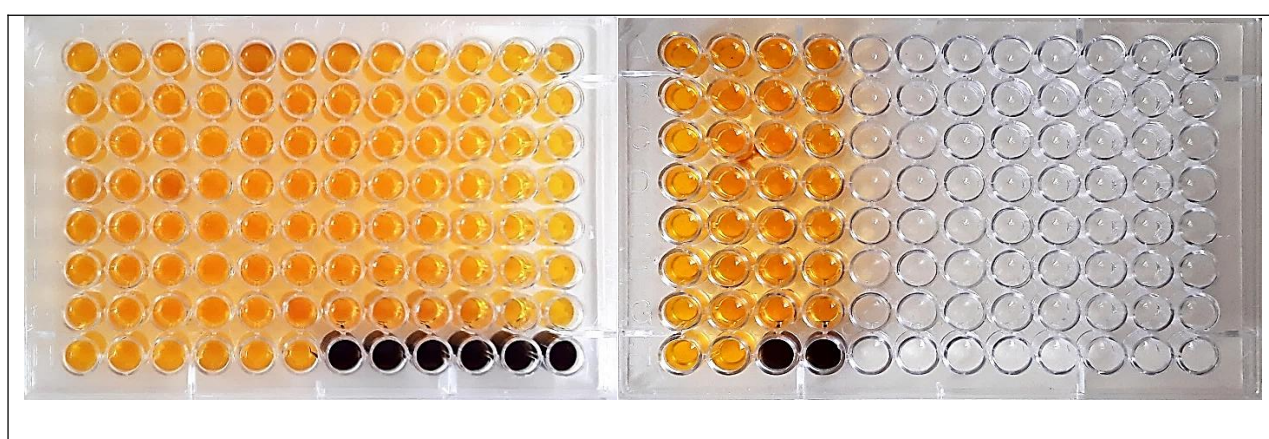


Figure 47 : Résultats du test alpha-amylase sur microplaque (Trois essais avec un blanc pour chaque extrait E, C, A, B respectivement)

Tableaux 21: Récapitulatif des résultats d’absorbances et des IC₅₀ des extraits testés et des standards utilisés.

Concentration	Pourcentages d'inhibition						
	6,25µg/mL	12,5µg/mL	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL	200µg/mL	400µg/mL
EXT E	3,22±0,47	1,78±0,16	3,26±0,34	5,49±1,95	3,28±0,29	3,53±0,3	4,16±0,47
EXT C	2,07±0,35	2,9±0,44	2,14±0,13	2,77±0,23	2,76±0,27	1,83±0,68	5,23±2,48
EXT A	2,61±0,42	2,05±0,17	NA	1,76±0,21	0,51±0,31	NA	NA
EXT B	3,21±1,24	2,86±0,31	2,19±0,15	NA	2,92±1,52	1,49±0,85	0,24±0,6
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,3	9,46±0,11	10,7±0,96	31,81±31,81	37,21±3,54	53,05±1,59

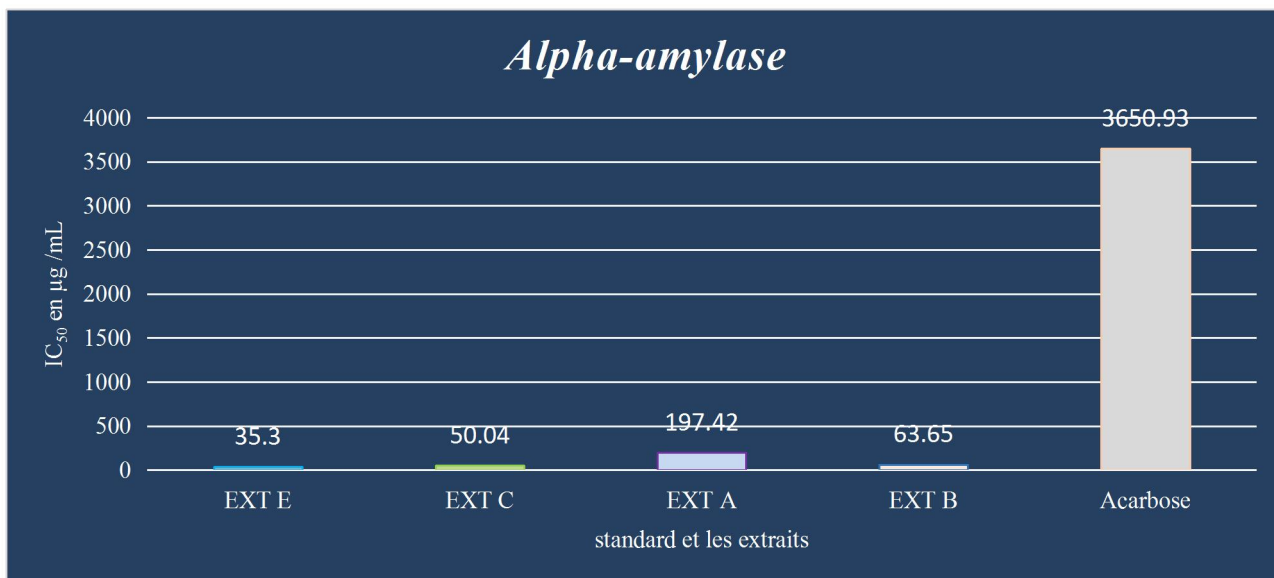


Figure 48 : Histogramme montre l’IC₅₀ de standard utilisé et les quatre extraits testés.

Dans ce cas, une IC₅₀ élevée indique une activité inhibitrice relativement forte de l'échantillon sur l'enzyme alpha-amylase.

La molécule de référence, l'acarbose, présente une activité inhibitrice plus forte que les extraits, avec une IC₅₀ plus élevée (3650,93±10,7 µg/mL).

En revanche, les extraits E, C et B présentent des valeurs d'IC₅₀ plus basses (35,30±24,58 µg/mL), (50,04±36,57 µg/mL) et (63,65±39,67 µg/mL) respectivement par rapport au standard. Cela suggère que ces extraits ont une activité inhibitrice relativement plus faible sur l'enzyme alpha-amylase.

L'extrait A présente une valeur d'IC₅₀ plus faible (197,42±87,83 µg/mL) par rapport à l'acarbose, mais supérieure à celle des extraits E, C et B. Cela indique que l'extrait A a une activité inhibitrice d'enzyme relativement faible par rapport à l'acarbose.

2.4. Test de toxicité sur les larves de farines *Tenebrio molitor*

Cette étude vise à évaluer la toxicité des extraits éther, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanolique de la plante étudiée sur des larves de *Tenebrio molitor*. Pour cela, six larves de taille similaire ont été utilisées pour chaque extrait. Un volume de 3 µL des différentes concentrations (8000 µg/µL, 800 µg/mL, 80 µg/mL) a été injecté dans le ventre des larves à l'aide d'une seringue Hamilton. Les résultats de cette étude ont été comparés à des standards tels que l'acide ascorbique et le méthanol, afin d'évaluer la toxicité relative des extraits. Les résultats sont présentés dans le tableau, et les figures sont utilisées pour représenter graphiquement les données et présenter des images réelles des larves.

Tableau 22: Evaluation du pourcentage de mortalité, de survie, de développement des larves de Ténébrions Molitor après l'injection des quatre extraits.

(+) : la survie (-) : la mort (D) : le développement (M) :méthanol (A.A) :acide ascorbique.

Extraits	Les jours de surveillance sur les larves Tenebrion Molitor															Pourcentage de mortalité%	Pourcentage de Développement %	Pourcentage de survivants
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
E1	4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	33,33 %	00%	66,67%	
E2	+6	+6	6	+6	+6	+6	+6	+5 -1	+5 -1	+5 -1	+5 -1	+5 -1	+5 -1	+5 -1	16,67%	00%	83,33%	
E3	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6 1D	6+ 1D	6+ 2D	6+ 2D	6+ 3D	6+ 4D	6+ 5D	6+ 5D	00%	83,33%	100%	
C1	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	33,33%	00%	66,67%	
C2	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6 1D	+6 1D	+6 2D	+6 3D	+6 4D	+6 5D	+6 5D	+6 5D	00%	83,33%	100%	
C3	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6 1D	+6 1D	+6 2D	+6 2D	+6 3D	+5 -1 3D	+5 -1 3D	+5 -1 3D	16,67%	50%	83,33%	
A1	+6	+4 -1	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	+4 -2	33,33%	16,67%	66,67%	
A2	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	00%	00%	100%	
A3	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6 1D	+6 1D	+5 -1 1D	+5 -1 1D	+4 -2 1D	+4 -2 1D	+4 -2 1D	33,33%	16,67%	66,67%	
B1	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	00%	00%	100%	
B2	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	6	00%	16,67%	100%	

										1D	1D	1D	1D	1D	1D			
B3	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	00%	00%	100%
M	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	00%	00%	100%
A.A	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	00%	00%	100%

<p>E1 (80mg/ml) E2 (8mg/ml) E3 (0,8mg/ml)</p>		
<p>C1 (80mg/ml) C2 (8mg/ml) C3 (0,8mg/ml)</p>		
<p>A1 (80mg/ml) A2 (8mg/ml) A3 (0,8mg/ml)</p>		
<p>B1 (80mg/ml) B2 (8mg/ml) B3 (0,8mg/ml)</p>		

Figure 49 : Effets des extraits de la plante étudiée sur les larves injectées par différentes concentrations.

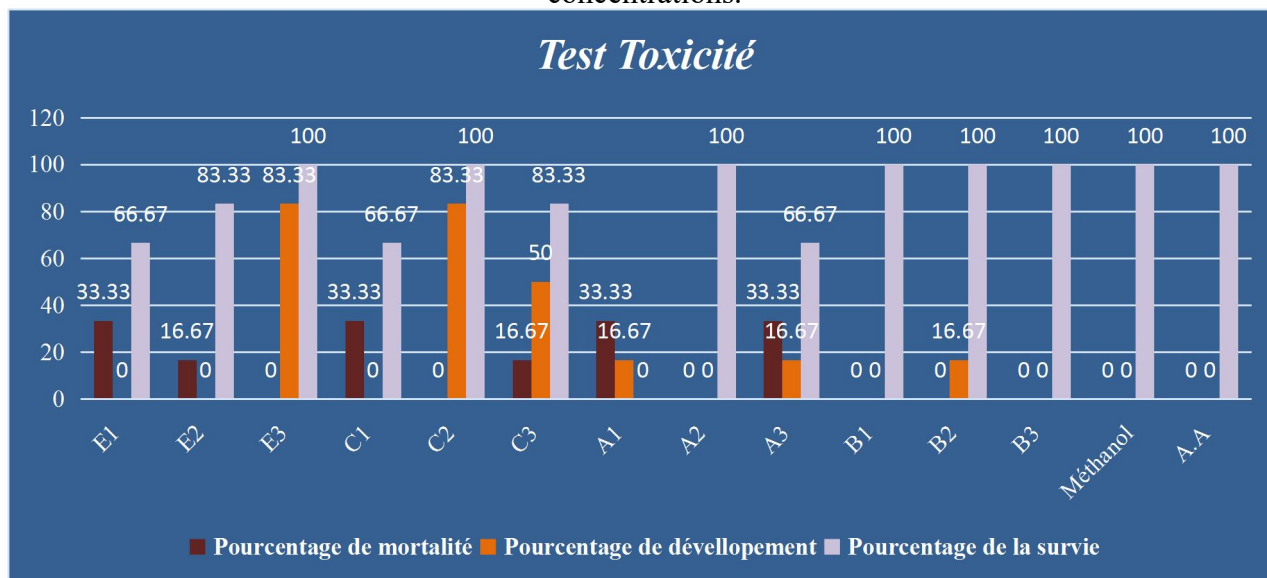


Figure 50 : Histogramme des pourcentages de mortalité, de survie et de développement des extraits et des standards lors du test de toxicité sur les vers de farines *Tenebrio molitor*.

Les résultats obtenus dans le tableau 22 et les figures 49 et 50 permettent de comparer les effets des différents extraits testés sur les larves de *Tenebrio molitor* par rapport aux standards tels que l'acide ascorbique et le méthanol. Les paramètres évalués comprennent le pourcentage de mortalité, le pourcentage de développement et le pourcentage de survie. Les numéros 1, 2 et 3 correspondent respectivement aux concentrations de 8000 $\mu\text{g/mL}$, 800 $\mu\text{g/mL}$ et 80 $\mu\text{g/mL}$.

Les larves injectées avec les molécules de référence, telles que le méthanol et l'acide gallique, ont présenté un taux de survie complet, mais aucun développement n'a été observé. Dans l'ensemble, les extraits E1, C1, A1 et A3 montrent une toxicité importante avec des pourcentages de mortalité de 33,33 % dans ces groupes. Les extraits E2, C2, C3, B2 et B3 montrent une toxicité modérée avec des pourcentages de mortalité de 16,67 % ou moins. Les extraits E3, C2, A2, B1, B2, B3, ainsi que les molécules de référence méthanol et acide ascorbique, n'induisent aucune mortalité chez les larves.

En ce qui concerne le développement, l'extrait E3 présente le pourcentage le plus élevé de développement larvaire (83,33 %). Sur cinq larves développées avec cet extrait, trois ont atteint le stade de nymphe à partir du septième jour, et deux sont devenues des coléoptères adultes. De même, l'extrait C2 présente également un pourcentage élevé de développement (83,33 %). Sur cinq larves développées avec cet extrait, quatre ont atteint le stade de nymphe à partir du septième jour, et une larve est devenue un coléoptère adulte. L'extrait C3 montre un effet légèrement moins prononcé sur le développement, avec trois larves atteignant le stade de nymphe à partir du douzième jour. Les

autres extraits ont des effets plus faibles sur le développement larvaire, où dans les extraits A1, A3 et B2, une seule larve a atteint le stade de nymphe à partir du douzième jour.

Le pourcentage de survie est de 100 % dans la plupart des concentrations des extraits, à l'exception des extraits E1, C1, A1 et A3 qui présentent un taux de survie de 66,67 % en raison de la mortalité observée.

Ces résultats comparables aux références suggèrent que certains extraits ont une toxicité plus élevée sur les larves de *Tenebrio molitor*, tandis que d'autres extraits ont un impact limité sur la mortalité et le développement. L'extrait n-butanolique B s'avère non toxique dans les trois concentrations testées, confirmant qu'il constitue un excellent complément alimentaire riche en composants nutritifs. L'extrait éther E présente une toxicité notable à des concentrations élevées (8000 µg/mL, 800 µg/mL), suggérant la présence de composés toxiques. De plus, l'extrait chloroforme et l'acétate d'éthyle sont également toxiques à une concentration de 8000 µg/mL, tandis que la présence de toxicité à une concentration de 80 µg/mL peut être expliquée par une possible erreur de manipulation lors de l'injection.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'étude approfondie des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales, en évaluant leur activité antioxydante et anti-inflammatoire, représente une approche prometteuse pour la découverte de nouvelles thérapies naturelles. Dans cette étude, nous avons entrepris d'évaluer de manière exhaustive l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, enzymatique et la toxicité des extraits de l'espèce du genre *Linum*, afin d'explorer leur potentiel thérapeutique.

Différents tests ont été réalisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits, notamment le piégeage des radicaux libres DPPH, ABTS, les tests FRAP, Phénanthroline et SNP. Les résultats ont démontré que l'extrait acétate d'éthyle présente l'effet le plus élevé dans tous les tests, tandis que l'extrait *n*-butanol présente des effets légèrement inférieurs à ceux de l'extrait acétate d'éthyle dans la plupart des tests (à l'exception du test ABTS). En revanche, les extraits d'éther et de chloroforme ont montré les capacités les plus faibles dans tous les tests. Ces résultats permettent d'évaluer l'efficacité potentielle des extraits de *Linum* en tant qu'antioxydants.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée *in vitro* en utilisant les modèles BSA (albumine sérique bovine) et la stabilisation de la membrane des globules rouges. L'extrait *n*-butanol a démontré une bonne activité anti-hémolytique, ce qui suggère son potentiel pour inhiber les processus inflammatoires liés à la lyse des globules rouges. Cependant, une faible activité a été observée dans la protection du BSA contre l'agression inflammatoire. Ces résultats suggèrent que l'extrait *n*-butanol pourrait avoir un intérêt en tant qu'agent anti-inflammatoire.

Parallèlement, nous avons également étudié l'activité enzymatique des extraits pour évaluer leur capacité à interférer avec des enzymes spécifiques impliquées dans des processus pathologiques. Dans cette étude, nous avons choisi d'étudier l'enzyme alpha-amylase. Les résultats suggèrent que notre extrait présente une faible activité inhibitrice de l'alpha-amylase.

Enfin, la toxicité des extraits de *Linum* a été évaluée pour garantir leur innocuité potentielle lors de leur utilisation thérapeutique. Les résultats ont révélé que l'extrait *n*-butanol est non toxique, ce qui le rend prometteur pour des applications thérapeutiques. En revanche, les autres extraits, l'extrait acétate d'éthyle, le chloroforme et l'éther, ont montré une toxicité significative, mais seulement à des concentrations élevées.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives de recherche pour identifier les composés actifs responsables de ces activités et approfondir l'exploration des applications thérapeutiques de cette espèce du genre *Linum*.

Références

A

Abe, H., Katada, K., Orita, M., & Nishikibe, M. (1991). Effects of calcium antagonists on the erythrocyte membrane. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 43(1), 22- 26.

Abe, H., Katada, K., Orita, M., & Nishikibe, M. (1991). Effects of calcium antagonists on the erythrocyte membrane. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 43(1), 22-26.

Abe, J., & Berk, B. C. (1999). Fyn and JAK2 mediate Ras activation by reactive oxygen species. *Journal of Biological Chemistry*, 274(30), 21003- 21010.

Abe, J., & Berk, B. C. (1999). Fyn and JAK2 mediate Ras activation by reactive oxygen species. *Journal of Biological Chemistry*, 274(30), 21003-21010.

Adachi, T., Weisbrod, R. M., Pimentel, D. R., Ying, J., Sharov, V. S., Schöneich, C., & Cohen, R. A. (2004). S-Glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide. *Nature medicine*, 10(11), 1200- 1207.

Adachi, T., Weisbrod, R. M., Pimentel, D. R., Ying, J., Sharov, V. S., Schöneich, C., & Cohen, R. A. (2004). S-Glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide. *Nature medicine*, 10(11), 1200-1207.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : Rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636- 643.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : Rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

Aggarwal, N. R., King, L. S., & D'Alessio, F. R. (2014). Diverse macrophage populations mediate acute lung inflammation and resolution. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 306(8), L709- L725. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00341.2013>

Aguilar-Miranda, E. D., López, M. G., Escamilla-Santana, C., & Barba de la Rosa, A. P. (2002). Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 192-195.

Ahmad, S. (2012). *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology*. Springer Science & Business Media.

Ahmad, S. (2012). *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology*. Springer Science & Business Media.

Ahmad, S., Arshad, M. A., Ijaz, S., Khurshid, U., Rashid, F., & Azam, R. (2014). Review on methods used to determine antioxidant activity. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1(1), 35-40.

Ahmad, S., Arshad, M. A., Ijaz, S., Khurshid, U., Rashid, F., & Azam, R. (2014). Review on methods used to determine antioxidant activity. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1(1), 35-40.

Ait-Oufella, H., Maury, E., Guidet, B., & Offenstadt, G. (2008). L'endothélium : Un nouvel organe. *Réanimation*, 17(2), 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2007.12.005>

Alli, J. A., Kehinde, A. O., Kosoko, A. M., & Ademowo, O. G. (2014). Oxidative Stress and Reduced Vitamins C and E Levels Are Associated with Multi-Drug Resistant Tuberculosis. *Journal of Tuberculosis Research*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.4236/jtr.2014.21006>

Alscher, R. G., Donahue, J. L., & Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants : Relationships in green cells. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 224-233.

Alscher, R. G., Donahue, J. L., & Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants : Relationships in green cells. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 224-233.

Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.

Amzal, H. (2010). *Etude de l'activité antioxydante des saponines de l'arganier*.

Amzal, H. (2010a). *Etude de l'activité antioxydante des saponines de l'arganier*.

Amzal, H. (2010b). *Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Rabat: Université Mohammed V Agdal Faculté des Sciences Rabat.*

Anderson, M. T., Staal, F. J., Gitler, C., Herzenberg, L. A., & Herzenberg, L. A. (1994). Separation of oxidant-initiated and redox-regulated steps in the NF-kappa B signal transduction pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(24), 11527-11531.

Andrianjafimasy, M. (2020). *Exposition professionnelle aux agents irritants et asthme : Rôle des marqueurs biologiques liés au stress oxydant*. Université Paris-Saclay.

Andrianjafimasy, M. (2020). *Exposition professionnelle aux agents irritants et asthme : Rôle des marqueurs biologiques liés au stress oxydant*. Université Paris-Saclay.

Anne-Sophie Glover-Bondeau. (2020, décembre 11). *Histamine : C'est quoi, effets, rôle, dans quels aliments ?* <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2682645-histamine-c-est-quoi-effet-role-aliments-stress-sommeil-allergie/>

B

Bartosz, G. (2003). Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems. *Comments on Toxicology*, 9(1), 5-21. <https://doi.org/10.1080/08865140302420>

Beaudeau, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21(3), 144-150.

Beaudeau, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21(3), 144-150.

Benhamou, Y., Bellien, J., Armengol, G., Gomez, E., Richard, V., Lévesque, H., & Joannidès, R. (2014). Évaluation de la fonction endothéliale au cours des maladies auto-immunes. *La Revue de médecine interne*, 35(8), 512-523.

Benhamou, Y., Bellien, J., Armengol, G., Gomez, E., Richard, V., Lévesque, H., & Joannidès, R. (2014). Évaluation de la fonction endothéliale au cours des maladies auto-immunes. *La Revue de médecine interne*, 35(8), 512-523.

Benkhaled, A. (2019). *Activités anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux de Limoniastrum guyonianum*. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/3079>

Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.

Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.

Beray-Berthet, V. (2003). *Rôle des polynucléaires neutrophiles dans les conséquences d'une ischémie cérébrale focale avec reperfusion chez le rat. Interactions avec le stress oxydatif*. Paris 5.

Beray-Berthet, V. (2003). *Rôle des polynucléaires neutrophiles dans les conséquences d'une ischémie cérébrale focale avec reperfusion chez le rat. Interactions avec le stress oxydatif*. Paris 5.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3-8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3-8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)

Bien utiliser les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). (s. d.). VIDAL. Consulté 19 avril 2023, à l'adresse <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/bon-usage/paracetamol-aspirine-ains/anti-inflammatoires-non-steroidiens-ains.html>

Bienert, G. P., & Chaumont, F. (2014). Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1840(5), 1596-1604. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.09.017>

Biofactors—Volume 10, issue 2-3—Journals. (2022). *Biofactors*, 10(2-3). <https://content.iospress.com/journals/biofactors/10/2-3?start=10&rows=10>

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5698931. <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Bohlender, J. M., Franke, S., Stein, G., & Wolf, G. (2005). Advanced glycation end products and the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 289(4), F645- F659.

Bohlender, J. M., Franke, S., Stein, G., & Wolf, G. (2005). Advanced glycation end products and the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 289(4), F645-F659.

Bonizzi, G., Piette, J., Schoonbroodt, S., Merville, M.-P., & Bours, V. (1999). Role of the protein kinase C λ /t isoform in nuclear factor- κ B activation by interleukin-1 β or tumor necrosis factor- α : Cell type specificities. *Biochemical pharmacology*, 57(6), 713- 720.

Bonizzi, G., Piette, J., Schoonbroodt, S., Merville, M.-P., & Bours, V. (1999). Role of the protein kinase C λ /t isoform in nuclear factor- κ B activation by interleukin-1 β or tumor necrosis factor- α : Cell type specificities. *Biochemical pharmacology*, 57(6), 713-720.

Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudeau, J.-L., Thérond, P., Legrand, A., & Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 260- 267.

Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudeau, J.-L., Thérond, P., Legrand, A., & Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 260-267.

Bounihi, A. (2016). *Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées)* [PhD Thesis].

Browne, S. E., Ferrante, R. J., & Beal, M. F. (1999). Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain pathology*, 9(1), 147- 163.

Browne, S. E., Ferrante, R. J., & Beal, M. F. (1999). Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain pathology*, 9(1), 147-163.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.)*—BRUNETON Jean—کتب Google.

[https://books.google.dz/books?hl=ar&lr=&id=2UXvAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR2&dq=+Bruneton+J.+\(1999\).+Pharmacognosie,+phytochimie+des+plantes+m%C3%A9dicinales.+3%C3%A9me+%C3%A9dition,+Tec+et+Doc+\(ED\)+Paris,+658p.&ots=Iuys9rm-Ka&sig=QAwAtjNYXr9-1YwGIVx2gfxj9fA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?hl=ar&lr=&id=2UXvAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR2&dq=+Bruneton+J.+(1999).+Pharmacognosie,+phytochimie+des+plantes+m%C3%A9dicinales.+3%C3%A9me+%C3%A9dition,+Tec+et+Doc+(ED)+Paris,+658p.&ots=Iuys9rm-Ka&sig=QAwAtjNYXr9-1YwGIVx2gfxj9fA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

Butterfield, D. A., & Halliwell, B. (2019). Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(3), 148- 160.

Butterfield, D. A., & Halliwell, B. (2019). Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(3), 148-160.

C

Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, A.-G., Douki, T., Duarte, V., Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., & Ravanat, J.-L. (2002). *Recent aspects of oxidative DNA damage : Guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases.*

Calder, P. C. (2013). n-3 Fatty acids, inflammation and immunity : New mechanisms to explain old actions. *Proceedings of the Nutrition Society*, 72(3), 326- 336. <https://doi.org/10.1017/S0029665113001031>

Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids : Structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749- 760.

Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids : Structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749-760.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15- 25.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.

CCM Benchmark. (2022, mai 10). *Cellules endothéliales : Définition, schéma.* <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2813265-cellules-endotheliales-definition-schema/>

Cecchi, C., Fiorillo, C., Sorbi, S., Latorraca, S., Nacmias, B., Bagnoli, S., Nassi, P., & Liguri, G. (2002). Oxidative stress and reduced antioxidant defenses in peripheral cells from familial Alzheimer's patients. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(10), 1372- 1379.

Cecchi, C., Fiorillo, C., Sorbi, S., Latorraca, S., Nacmias, B., Bagnoli, S., Nassi, P., & Liguri, G. (2002). Oxidative stress and reduced antioxidant defenses in peripheral cells from familial Alzheimer's patients. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(10), 1372-1379.

Chabaud, C. (2015). Les filières lin et chanvre au coeur des enjeux des matériaux biosourcés émergents. *Journal Officiel de la République Française*, 16.

Chang, C.-H., Yu, F.-Y., Wu, T.-S., Wang, L.-T., & Liu, B.-H. (2011). Mycotoxin citrinin induced cell cycle G2/M arrest and numerical chromosomal aberration associated with disruption of

microtubule formation in human cells. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 119(1), 84-92. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq309>

Chaouche, T. M. (2020). *Activités biologiques de quelques plantes médicinales*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32719.23207>

Chapple, I. L. C. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*, 24(5), 287- 296.

Chapple, I. L. C. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*, 24(5), 287-296.

Chaquin Patrick. (2000). *Manuel de chimie théorique : Application à la structure et à la réactivité en chimie moléculaire / Patrick Chaquin,...* Ellipses.

Chatterjee, S. (2016). Chapter Two—Oxidative Stress, Inflammation, and Disease. In T. Dziubla & D. A. Butterfield (Éds.), *Oxidative Stress and Biomaterials* (p. 35-58). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4>

Chatterjee, S. (2016). Chapter Two—Oxidative Stress, Inflammation, and Disease. In T. Dziubla & D. A. Butterfield (Éds.), *Oxidative Stress and Biomaterials* (p. 35-58). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4>

Chaudière, J., & Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants : From chemical to biochemical mechanisms. *Food and chemical toxicology*, 37(9- 10), 949- 962.

Chaudière, J., & Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants : From chemical to biochemical mechanisms. *Food and chemical toxicology*, 37(9-10), 949-962.

Chen, G. Y., & Nuñez, G. (2010). Sterile inflammation : Sensing and reacting to damage. *Nature Reviews Immunology*, 10(12), 826-837.

Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., & Chou, S.-T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454- 2458.

Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., & Chou, S.-T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454-2458.

Coyle, J. T., & Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262(5134), 689- 695.

Coyle, J. T., & Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262(5134), 689-695.

D

Dejean, C., & Richard, D. (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de Médecine Interne*, 34(5), 264- 268. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2013.02.021>

Delattre, J., Gardès, M., & Jore, D. (2001). Stress oxydant et diabète sucré. *Journal de la Société de Biologie*, 195(4), 375-376.

Delattre, J., Gardès, M., & Jore, D. (2001). Stress oxydant et diabète sucré. *Journal de la Société de Biologie*, 195(4), 375-376.

Deme, T., Haki, G. D., Retta, N., Woldegiorgis, A., & Geleta, M. (2021). Fatty acid profile, total phenolic content, and antioxidant activity of niger seed (*Guizotia abyssinica*) and linseed (*Linum usitatissimum*). *Frontiers in Nutrition*, 8, 674882.

Deme, T., Haki, G. D., Retta, N., Woldegiorgis, A., & Geleta, M. (2021). Fatty acid profile, total phenolic content, and antioxidant activity of niger seed (*Guizotia abyssinica*) and linseed (*Linum usitatissimum*). *Frontiers in Nutrition*, 8, 674882.

Denise-Anne Moneret-Vautrin. (s. d.). *L'éosinophilie : Implication dans l'inflammation des maladies allergiques – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps*. Consulté 14 avril 2023, à l'adresse <https://www.academie-medecine.fr/leosinophilie-implication-dans-linflammation-des-maladies-allergiques/>

Denisov, E. T., & Afanas' ev, I. B. (2005). *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*.

Denisov, E. T., & Afanas' ev, I. B. (2005). *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*.

Descamps-Latscha, B., & Witko-Sarsat, V. (1999). Relations polynucléaires neutrophiles et monocytes-macrophages. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 39(4), 241-247. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(99\)80048-3](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(99)80048-3)

Desmettre, T., & Lecerf, J.-M. (2005). Cataracte et nutrition. *EMC-Ophtalmologie*, 2(3), 218-223.

Desmettre, T., & Lecerf, J.-M. (2005). Cataracte et nutrition. *EMC-Ophtalmologie*, 2(3), 218-223.

Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health : Current status and future prospects. *Japi*, 52(794804), 4.

Devillier, P. (2005). Effets synergiques et additifs entre les différentes classes d'anti-inflammatoires de l'asthme11Une version de cet article est paru dans les Archives de Pédiatrie—Volume 11 (2004) 65 s–67s. Nous remercions la rédaction des Archives de Pédiatrie pour son aimable autorisation de reproduction. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 45(5), 416-421. <https://doi.org/10.1016/j.allerg.2004.12.002>

Djamilatou, Z. S., Djibo, A. K., Sahabi, B., & Seini, S. H. (2021). Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes antihypertensives du Niger. *European Scientific Journal*, ESJ, 17(17), Article 17. <https://doi.org/10.19044/esj.2021.v17n17p335>

Doctissimo. (2022, novembre 10). *Monocytes : Définition, taux normal, trop bas ou trop élevé*. Doctissimo. https://www.doctissimo.fr/sante/examens-medicaux-et-operations/analyses-medicales/monocytes-definition-taux-normal-trop-bas-ou-trop-eleve/736276_ar.html

Dr Anne-Christine Della Valle. (2019, mai 7). *Quels sont les signes d'une inflammation ?* <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2524933-inflammation-definition-signe-chronique/>

Dr Anne-Christine Della Valle. (2022, octobre 11). *Lymphocytes bas, élevés : Définition, causes et examen*. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2502500-lymphocytes-bas-eleve-definition-causes-examen/>

Dr Claire Lewandowski. (2023, janvier 18). *Polynucléaires neutrophiles bas, haut : Ce que dit votre taux*. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2538200-polynucleaires-neutrophiles-bas-haut-taux/>

Dr F. Reinaud. (2018, mai 5). *Les maladies inflammatoires*. <https://www.concilio.com/chirurgie-viscerale-pathologies-inflammatoires>

Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*.

Dupic, L., Huet, O., Harrois, A., & Duranteau, J. (2010). Hypoxie et fonction mitochondriale. *Réanimation*, 19(5), 399-405. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2010.06.006>

Dupic, L., Huet, O., Harrois, A., & Duranteau, J. (2010). Hypoxie et fonction mitochondriale. *Réanimation*, 19(5), 399-405. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2010.06.006>

Ďuračková, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research*, 59(4), 459-469. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931844>

Ďuračková, Z., & Gvozdjaková, A. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. *Mitochondrial medicine: Mitochondrial metabolism, diseases, diagnosis and therapy*, 19-54.

Dussauze, H., Bourgault, I., Doleris, L.-M., Prinseau, J., Baglin, A., & Hanslik, T. (2007). Corticothérapie systémique et risque infectieux. *La Revue de Médecine Interne*, 28(12), 841-851. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2007.05.030>

E

Edimara S. Reis, Dimitrios C. Mastellos, George Hajishengallis & John D. Lambri. (2019). *New insights into the immune functions of complement* | *Nature Reviews Immunology*. <https://www.nature.com/articles/s41577-019-0168-x>

Édit. 2018. (s. d.). *Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine*. Consulté 14 avril 2023, à l'adresse <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=polynucl%C3%A9aire%20basophile>

Edwards, S. (2005). *Fluent aphasia* (Vol. 107). Cambridge University Press.

Edwards, S. (2005). *Fluent aphasia* (Vol. 107). Cambridge University Press.

Emerit, J., Edeas, M., & Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 58(1), 39-46.

Emerit, J., Edeas, M., & Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 58(1), 39-46.

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology*, 6, 183-197. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.008>

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology*, 6, 183-197. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.008>

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341-390.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-396.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-396.

Fay, N. S., Larson, E. C., & Jameson, J. M. (2016). Chronic Inflammation and $\gamma\delta$ T Cells. *Frontiers in Immunology*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00210>

Felton, G. W., & Summers, C. B. (1995). Antioxidant systems in insects. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 29(2), 187-197.

Ferrara, N., Gerber, H.-P., & LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine*, 9(6), 669-676.

Ferrara, N., Gerber, H.-P., & LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine*, 9(6), 669-676.

Fialkow, L., Wang, Y., & Downey, G. P. (2007). Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(2), 153-164.

Fialkow, L., Wang, Y., & Downey, G. P. (2007). Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(2), 153-164.

Figueira, M. S., Sá, L. A., Vasconcelos, A. S., Moreira, D. R., Laurindo, P. S. O. C., Ribeiro, D. R. G., Santos, R. S., Guzzo, P., Dolabela, M. F., & Percario, S. (2014). *Nutritional supplementation*

with the mushroom *Agaricus sylvaticus* reduces oxidative stress in children with HIV/Des suppléments alimentaires contenant le champignon *Agaricus sylvaticus* renversent le stress oxydatif chez des enfants atteints du VIH. 25(5), 257-264.

Flohé, L., Brigelius-Flohé, R., Saliou, C., Traber, M. G., & Packer, L. (1997). Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(6), 1115-1126.

Forman, H. J., & Torres, M. (2002). Reactive Oxygen Species and Cell Signaling : Respiratory Burst in Macrophage Signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(supplement_1), S4- S8. <https://doi.org/10.1164/rccm.2206007>

Forman, H. J., & Torres, M. (2002). Reactive Oxygen Species and Cell Signaling : Respiratory Burst in Macrophage Signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(supplement_1), S4-S8. <https://doi.org/10.1164/rccm.2206007>

Fourrier, C. (2016). *Bases neurobiologiques des troubles de l'humeur et de la cognition associés à l'obésité : Rôle de l'inflammation* [Phdthesis, Université de Bordeaux]. <https://theses.hal.science/tel-01674185>

Franceschi, C., & Campisi, J. (2014). Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. *The Journals of Gerontology: Series A*, 69(Suppl_1), S4- S9. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu057>

Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry*, 64(1), 97- 112.

Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry*, 64(1), 97-112.

Fridovich, I. (2013). Oxygen : How do we stand it? *Medical Principles and Practice: International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 22(2), 131-137. <https://doi.org/10.1159/000339212>

Futura. (2001, 2022). *Définition | Plaquette—Plaquette sanguine—Thrombocyte | Futura Santé*. Futura. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/corps-humain-plaquette-2812/>

G

Gadamsetty, G., Maru, S., & 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.

Gahramanov, V., Oz, M., Aouizerat, T., Rosenzweig, T., externe, L. vers un site, fenêtre, celui-ci s'ouvrira dans une nouvelle, Gorelick, J., Drori, E., externe, L. vers un site, fenêtre, celui-ci s'ouvrira dans une nouvelle, Salmon-Divon, M., externe, L. vers un site, fenêtre, celui-ci s'ouvrira dans une nouvelle, Sherman, M. Y., externe, L. vers un site, fenêtre, celui-ci s'ouvrira dans une nouvelle, & Lubin, B. C. R. (2022). *Integration of the Connectivity Map and Pathway Analysis to Predict Plant Extract's Medicinal Properties—The Study Case of *Sarcopoterium spinosum* L.* 11(17), 2195. <https://doi.org/10.3390/plants11172195>

Gamble, P. E., & Burke, J. J. (1984). Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system : I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiology*, 76(3), 615- 621.

Gamble, P. E., & Burke, J. J. (1984). Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system : I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiology*, 76(3), 615-621.

Gardès-Albert, M. (2006). Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 365-372.

Gardès-Albert, M. (2006). Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 365-372.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M., & Ley, K. (2010). Development of monocytes, macrophages and dendritic cells. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5966), 656-661. <https://doi.org/10.1126/science.1178331>

Georgin-Lavialle, S., Rodrigues, F., Hentgen, V., Fayand, A., Quartier, P., Bader-Meunier, B., Bachmeyer, C., Savey, L., Louvrier, C., Sarrabay, G., Melki, I., Belot, A., Koné-Paut, I., & Grateau, G. (2018). Panorama des maladies auto-inflammatoires. *La Revue de Médecine Interne*, 39(4), 214-232. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2018.01.004>

Gilbert, T., Draï, J., & Bonnefoy, M. (2013). Stress oxydant et maladie d'Alzheimer. In *Traité sur la maladie d'Alzheimer* (p. 175-194). Springer.

Gilbert, T., Draï, J., & Bonnefoy, M. (2013). Stress oxydant et maladie d'Alzheimer. In *Traité sur la maladie d'Alzheimer* (p. 175-194). Springer.

Gill, R., Tsung, A., & Billiar, T. R. (2010). LINKING OXIDATIVE STRESS TO INFLAMMATION: TOLL-LIKE RECEPTORS. *Free radical biology & medicine*, 48(9), 1121-1132. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.006>

Gill, R., Tsung, A., & Billiar, T. R. (2010). LINKING OXIDATIVE STRESS TO INFLAMMATION: TOLL-LIKE RECEPTORS. *Free radical biology & medicine*, 48(9), 1121-1132. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.006>

Goldenberg, N. M., & Kuebler, W. M. (2011). Endothelial cell regulation of pulmonary vascular tone, inflammation, and coagulation. *Comprehensive Physiology*, 5(2), 531-559.

Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.

Gramss, G. (2018). Formation of the Azodication (ABTS²⁺) from ABTS [2, 2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)] in Sterile Plant Cultures: Root-Exuded Oxidoreductases Contribute to Rhizosphere Priming. *Soil Systems*, 2(2), 26.

Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 546.

Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.

Guzik, T. J., & Harrison, D. G. (2006). Vascular NADPH oxidases as drug targets for novel antioxidant strategies. *Drug Discovery Today*, 11(11), 524-533. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.04.003>

Guzik, T. J., & Harrison, D. G. (2006). Vascular NADPH oxidases as drug targets for novel antioxidant strategies. *Drug Discovery Today*, 11(11), 524-533. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.04.003>

H

Habouche et MIMOUNE. (2019). *Etude in vitro de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de matricaria pubescens*. [Thesis, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila]. <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/15201>

Haiba, F., Kerboua, K., Ait Hami, N., & Benmahdi, L. (2014). Stress oxydatif et infertilité masculine : Premiers résultats de l'expérience algérienne pilote à l'HMRUO/2 RM. *Revue Médicale de l'HMRUO*, 1, 2-7.

Haiba, F., Kerboua, K., Ait Hami, N., & Benmahdi, L. (2014). Stress oxydatif et infertilité masculine : Premiers résultats de l'expérience algérienne pilote à l'HMRUO/2 RM. *Revue Médicale de l'HMRUO*, 1, 2-7.

Hajjaj, G. (2017). *Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de matricaria chamomilla l. Et de l'ormenis mixta l.(asteraceae)*.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).

Halliwell, B. (1995). How to characterize an antioxidant: An update. *Biochemical Society Symposium*, 61, 73-101.

Halliwell, B. (2006a). Phagocyte-derived reactive species: Salvation or suicide? *Trends in biochemical sciences*, 31(9), 509-515.

Halliwell, B. (2006b). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141(2), 312-322. <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015a). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989). *Free radicals in biology and medicine*, 2nd edn. Clarendon. Oxford.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015b). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231-255. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705776>

Hano, C., Renouard, S., Molinié, R., Corbin, C., Barakzoy, E., Doussot, J., Lamblin, F., & Lainé, E. (2013). Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) extract as well as (+)-secoisolariciresinol diglucoside and its mammalian derivatives are potent inhibitors of α -amylase activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 23(10), 3007-3012.

Harambat, J., van Stralen, K. J., Kim, J. J., & Tizard, E. J. (2012). Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatric Nephrology*, 27(3), 363-373. <https://doi.org/10.1007/s00467-011-1939-1>

Hardouin, J., & Mahoux, G. (2003). *Zootecnie d'insectes-Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux*.

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 36(6), 2090-2097.

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 36(6), 2090-2097.

Helmut Sies. (1985). *Stress Biology*. Springer. <https://www.springer.com/journal/44154>

Helmut Sies. (1985). *Stress Biology*. Springer. <https://www.springer.com/journal/44154>

Hensley, K., Benaksas, E. J., Bolli, R., Comp, P., Grammas, P., Hamdheydari, L., Mou, S., Pye, Q. N., Stoddard, M. F., & Wallis, G. (2004). New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free radical biology and medicine*, 36(1), 1-15.

Hensley, K., Benaksas, E. J., Bolli, R., Comp, P., Grammas, P., Hamdheydari, L., Mou, S., Pye, Q. N., Stoddard, M. F., & Wallis, G. (2004). New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free radical biology and medicine*, 36(1), 1-15.

Henzen, C. (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: Risques et effets secondaires. *Forum Médical Suisse – Swiss Medical Forum*. <https://doi.org/10.4414/fms.2003.04866>

Heyneman, R. A., & Vercauteren, R. E. (1984). Activation of a NADPH oxidase from horse polymorphonuclear leukocytes in a cell-free system. *Journal of Leukocyte Biology*, 36(6), 751-759.

Heyneman, R. A., & Vercauteren, R. E. (1984). Activation of a NADPH oxidase from horse polymorphonuclear leukocytes in a cell-free system. *Journal of Leukocyte Biology*, 36(6), 751-759.

Hierso, R. (2015). *Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drépanocytose: Crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge*. Antilles.

Hierso, R. (2015). *Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drépanocytose : Crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge*. Antilles.

Huet, O., & Duranteau, J. (2008). Dysfonction endothéliale: Rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17(4), 387-392.

Hurtado-Nedelec, M., Dang, P. M.-C., Monteiro, R. C., Benna, J. E., & Gougerot-Pocidallo, M.-A. (2014). Physiologie des polynucléaires neutrophiles humains. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(462), 25- 38. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(14\)72476-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(14)72476-1)

Hussain, S. P., Hofseth, L. J., & Harris, C. C. (2003). Radical causes of cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 3(4), 276-285. <https://doi.org/10.1038/nrc1046>

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). *Oxidative Stress and Inflammation : What Polyphenols Can Do for Us? 2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). *Oxidative Stress and Inflammation : What Polyphenols Can Do for Us? 2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>

J

J McDill. (2009, juin 2). *The Phylogeny of Linum and Linaceae Subfamily Linoideae, with Imp... : Ingenta Connect*. <https://www.ingentaconnect.com/content/aspt/sb/2009/00000034/00000002/art00013>

Jadid, N., Kurniawan, E., Himayani, C. E. S., Andriyani, Prasetyowati, I., Purwani, K. I., Muslihatin, W., Hidayati, D., & Tjahjaningrum, I. T. D. (2020). *An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Tengger tribe in Ngadisari village, Indonesia*. 15(7), e0235886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235886>

Jarvis, D. J., Adamkiewicz, G., Heroux, M.-E., Rapp, R., & Kelly, F. J. (2010). Nitrogen dioxide. In *WHO Guidelines for Indoor Air Quality : Selected Pollutants*. World Health Organization. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138707/>

Jarvis, D. J., Adamkiewicz, G., Heroux, M.-E., Rapp, R., & Kelly, F. J. (2010). Nitrogen dioxide. In *WHO Guidelines for Indoor Air Quality : Selected Pollutants*. World Health Organization. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138707/>

Jean-Marc CAVAILLON. (2023, mai 6). *RÉACTION INFLAMMATOIRE, Les cellules inflammatoires au travail—Encyclopædia Universalis*. <https://www.universalis.fr/encyclopedie/reaction-inflammatoire/6-les-cellules-inflammatoires-au-travail/>

Jenner, P. (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 53(S3), S26- S38.

Jenner, P. (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 53(S3), S26-S38.

K

Kabamba, A. T., Bakari, S. A., Longanga, A. O., & Lukumwena, Z. K. (2014). Baisse du HDL-cholestérol indicateur du stress oxydatif dans le diabète de type 2. *Pan African Medical Journal*, 19(1).

Kabamba, A. T., Bakari, S. A., Longanga, A. O., & Lukumwena, Z. K. (2014). Baisse du HDL-cholestérol indicateur du stress oxydatif dans le diabète de type 2. *Pan African Medical Journal*, 19(1).

Kalousova, M., Skrha, J., & Zima, T. (2002). Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiological research*, 51(6), 597-604.

Katia Mayol. (2021, mars 1). *Les médiateurs de l'inflammation—Site des ressources d'ACCES pour enseigner les Sciences de la Vie et de la Terre*. <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/immunité-innée-barrières-naturelles-et-reaction-inflammatoire/les-médiateurs-de-l2019inflammation>

Kelly, F. J., Mudway, I., Krishna, M. T., & Holgate, S. T. (1995). The free radical basis of air pollution : Focus on ozone. *Respiratory medicine*, 89(10), 647- 656.

Kelly, F. J., Mudway, I., Krishna, M. T., & Holgate, S. T. (1995). The free radical basis of air pollution : Focus on ozone. *Respiratory medicine*, 89(10), 647-656.

Keykhasalar, R., Homayouni Tabrizi, M., & Ardalani, P. (2020). Antioxidant Property and Bactericidal Activity of Linum usitatissimum Seed Essential Oil Nanoemulsion (LSEO-NE) on Staphylococcus aureus. *International Journal of Infection*, 7(2). <https://doi.org/10.5812/iji.101639>

Keykhasalar, R., Homayouni Tabrizi, M., & Ardalani, P. (2020). Antioxidant Property and Bactericidal Activity of Linum usitatissimum Seed Essential Oil Nanoemulsion (LSEO-NE) on Staphylococcus aureus. *International Journal of Infection*, 7(2). <https://doi.org/10.5812/iji.101639>

Kh, C. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br med bull*, 49, 481- 493.

Kh, C. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br med bull*, 49, 481-493.

Khither, H. (2019). *Etude des effets de la thymoquinone sur le stress oxydant : Application à l'hépatotoxicité et l'arthrite rhumatoïde induites chez le rat*.

Khither, H. (2019). *Etude des effets de la thymoquinone sur le stress oxydant : Application à l'hépatotoxicité et l'arthrite rhumatoïde induites chez le rat*.

Klaunig, J. E. (2018). Oxidative stress and cancer. *Current pharmaceutical design*, 24(40), 4771- 4778.

Klaunig, J. E. (2018). Oxidative stress and cancer. *Current pharmaceutical design*, 24(40), 4771-4778.

Klaunig, J. E., & Kamendulis, L. M. (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44, 239- 267. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121851>

Klaunig, J. E., & Kamendulis, L. M. (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44, 239-267. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121851>

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006a). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006b). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Invited review : Oxidation of biological systems : Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.

Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Invited review : Oxidation of biological systems : Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2015). Free radicals : Health implications and their mitigation by herbals. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 7(6), 438-457.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2015). Free radicals : Health implications and their mitigation by herbals. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 7(6), 438-457.

Kumar, S., Chashoo, G., Saxena, A. K., & Pandey, A. K. (2013). Parthenium hysterophorus : A probable source of anticancer, antioxidant and anti-HIV agents. *BioMed Research International*, 2013.

Lahmadi, S., Belhamra, M., Karoune, S., Imad, K., Bensouici, C., Kechebar, M. S. A., Halis, Y., & Ksouri, R. (2020). Phenolic constituents and antioxidant activity of *Euphorbia retusa* Forssk. *Natural Product Research*, 34(24), 3545-3547. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1582040>

Lahmadi, S., Belhamra, M., Karoune, S., Imad, K., Bensouici, C., Kechebar, M. S. A., Halis, Y., & Ksouri, R. (2020). Phenolic constituents and antioxidant activity of *Euphorbia retusa* Forssk. *Natural Product Research*, 34(24), 3545-3547. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1582040>

L

Landis, G. N., & Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 126(3), 365-379.

Latifian, E., & Arslanoğlu, Ş. F. (2018). Traditional Medicinal Plants of Azerbaijan Province of Iran. *Agricultural Sciences*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.4236/as.2018.91012>

Latifian, E., & Arslanoğlu, Ş. F. (2018). Traditional Medicinal Plants of Azerbaijan Province of

Lauridsen, C. (2019). From oxidative stress to inflammation: Redox balance and immune system. *Poultry Science*, 98(10), 4240-4246. <https://doi.org/10.3382/ps/pey407>

Laursen, J. B., Rajagopalan, S., Galis, Z., Tarpey, M., Freeman, B. A., & Harrison, D. G. (1997). Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation*, 95(3), 588-593.

Laursen, J. B., Rajagopalan, S., Galis, Z., Tarpey, M., Freeman, B. A., & Harrison, D. G. (1997). Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation*, 95(3), 588-593.

Lavieri, R., Piccioli, P., Carta, S., Delfino, L., Castellani, P., & Rubartelli, A. (2014). TLR costimulation causes oxidative stress with unbalance of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production. *The Journal of Immunology*, 192(11), 5373-5381.

Lavieri, R., Piccioli, P., Carta, S., Delfino, L., Castellani, P., & Rubartelli, A. (2014). TLR costimulation causes oxidative stress with unbalance of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production. *The Journal of Immunology*, 192(11), 5373-5381.

Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique - p108 - N°270 - L'Actualité Chimique, le journal de la SCF. (s. d.). Société Chimique de France (SCF). Consulté 26 mars 2023, à l'adresse <https://new.societechimiquedefrance.fr/numero/le-stress-oxydant-interet-conceptuel-et-experimental-dans-la-comprehension-des-mecanismes-des-maladies-et-potentiel-therapeutique-p108-n270/>

Lecomte, J., Leclercq-Foucart, J., Geubelle, F., & Damas, J. (1973). Formation de kinines plasmatiques dans les lésions d'urticaire « a frigore. *Revue Française d'Allergologie*, 13(1), 3-9. [https://doi.org/10.1016/S0035-2845\(73\)80027-7](https://doi.org/10.1016/S0035-2845(73)80027-7)

Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale* (1983), 30(21), 1076-1081.

Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale* (1983), 30(21), 1076-1081.

Leliefeld, P. H., Koenderman, L., & Pillay, J. (2015). How neutrophils shape adaptive immune responses. *Frontiers in immunology*, 6, 471.

Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., & Chen, F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390.

Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., & Chen, F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390.

Li, J., Stouffs, M., Serrander, L., Banfi, B., Bettioli, E., Charnay, Y., Steger, K., Krause, K.-H., & Jaconi, M. E. (2006). The NADPH oxidase NOX4 drives cardiac differentiation : Role in regulating cardiac transcription factors and MAP kinase activation. *Molecular biology of the cell*, 17(9), 3978-3988.

Li, J., Stouffs, M., Serrander, L., Banfi, B., Bettioli, E., Charnay, Y., Steger, K., Krause, K.-H., & Jaconi, M. E. (2006). The NADPH oxidase NOX4 drives cardiac differentiation : Role in regulating cardiac transcription factors and MAP kinase activation. *Molecular biology of the cell*, 17(9), 3978-3988.

Liaudet, L. (2007). Biologie oxydative et implications cliniques du peroxy-nitrite. *Rev Med Suisse*, 137, 2840-2843.

Liaudet, L. (2007). Biologie oxydative et implications cliniques du peroxy-nitrite. *Rev Med Suisse*, 137, 2840-2843.

Liebler, D. C., Kling, D. S., & Reed, D. J. (1986). Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol. Control of alpha-tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *Journal of Biological Chemistry*, 261(26), 12114-12119.

Liebler, D. C., Kling, D. S., & Reed, D. J. (1986). Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol. Control of alpha-tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *Journal of Biological Chemistry*, 261(26), 12114-12119.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods : Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods : Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

M

Mahdjoub Hanane, M. S. (2010). *Le stress oxydant et le diabète auto-immun*.

Manda, G., Checherita, A.-I., Comanescu, M. V., & Hinescu, M. E. (2015). Redox signaling in diabetic nephropathy : Hypertrophy versus death choices in mesangial cells and podocytes. *Mediators of Inflammation*, 2015.

Manda, G., Checherita, A.-I., Comanescu, M. V., & Hinescu, M. E. (2015). Redox signaling in diabetic nephropathy : Hypertrophy versus death choices in mesangial cells and podocytes. *Mediators of Inflammation*, 2015.

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

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

Marie-Céline Ray. (2016, janvier 20). *Définition | Inflammation | Futura Santé*. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-inflammation-15288/>

Martinez-Cayuella, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.

Martinez-Cayuella, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.

Martinon, F., Burns, K., & Tschopp, J. (2002). The inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Molecular cell*, 10(2), 417-426.

Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.

Massion, P., Preiser, J.-C., & Balligand, J.-L. (2002). Les espèces réactives de l'azote: Bénéfiques ou délétères? *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 248-252.

Massion, P., Preiser, J.-C., & Balligand, J.-L. (2002). Les espèces réactives de l'azote: Bénéfiques ou délétères? *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 248-252.

Masson, E. (s. d.). *Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: État des connaissances*. EM-Consulte. Consulté 26 mars 2023, à l'adresse <https://www.em-consulte.com/article/39450/manipulations-nutritionnelles-du-stress-oxydant-et>

Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.

Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.

Mbida, H., externe, L. vers un site, fenêtre, celui-ci s'ouvrira dans une nouvelle, Tsala, D. E., Aboubakar, S., Habtemariam, S., Edmond, J. J., Bakwo, E. F., & Minkande, J. Z. (2022). *Antioxidant Activity of Aqueous Extract of Leaves and Seeds of Datura metel (Solanaceae) in Frog's Heart Failure Model*. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5318117>

McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 108(8), 652-659.

McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 108(8), 652-659.

Mechchate, H., Es-Safi, I., Conte, R., Hano, C., Amaghnouje, A., Jawhari, F. Z., Radouane, N., Bencheikh, N., Grafov, A., & Bousta, D. (2021). In vivo and in vitro antidiabetic and anti-inflammatory properties of Flax (*Linum usitatissimum* L.) seed polyphenols. *Nutrients*, 13(8), 2759.

Mechchate, H., Es-Safi, I., Conte, R., Hano, C., Amaghnouje, A., Jawhari, F. Z., Radouane, N., Bencheikh, N., Grafov, A., & Bousta, D. (2021). In vivo and in vitro antidiabetic and anti-inflammatory properties of Flax (*Linum usitatissimum* L.) seed polyphenols. *Nutrients*, 13(8), 2759.

Meziti, H. (2018). *Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva parviflora L.*

Meziti, H. (2018). *Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva parviflora L.*

Miara, M. D., Hammou, M. A., & Rebbas, K. (2017). Flore endémique, rare et menacées de l'Atlas Tellien Occidental de Tiaret (Algérie). *Acta Botanica Malacitana*, 42(2), Article 2. <https://doi.org/10.24310/abm.v42i2.3590>

Miara, M. D., Hammou, M. A., & Rebbas, K. (2017). Flore endémique, rare et menacées de l'Atlas Tellien Occidental de Tiaret (Algérie). *Acta Botanica Malacitana*, 42(2), Article 2. <https://doi.org/10.24310/abm.v42i2.3590>

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), Article 4. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), Article 4. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxydant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996a). Antioxydant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996b). Antioxydant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.

Miranda-Díaz, A. G., Pazarín-Villaseñor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., & Andrade-Sierra, J. (2016). Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. *Journal of Diabetes Research*, 2016, e7047238. <https://doi.org/10.1155/2016/7047238>

Miranda-Díaz, A. G., Pazarín-Villaseñor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., & Andrade-Sierra, J. (2016). Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. *Journal of Diabetes Research*, 2016, e7047238. <https://doi.org/10.1155/2016/7047238>

Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay : A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>

Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay : A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>

Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling—PubMed. (s. d.). Consulté 26 mars 2023, à l'adresse <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19733481/>

Mohamed, A. K., Bierhaus, A., Schiekofler, S., Tritschler, H., Ziegler, R., & Nawroth, P. P. (1999). The role of oxidative stress and NF- κ B activation in late diabetic complications. *Biofactors*, 10(2-3), 157-167.

Mohamed, A. K., Bierhaus, A., Schiekofer, S., Tritschler, H., Ziegler, R., & Nawroth, P. P. (1999). The role of oxidative stress and NF- κ B activation in late diabetic complications. *Biofactors*, *10*(2-3), 157-167.

Mortensen, A., Skibsted, L. H., & Truscott, T. G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of biochemistry and Biophysics*, *385*(1), 13- 19.

Mortensen, A., Skibsted, L. H., & Truscott, T. G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of biochemistry and Biophysics*, *385*(1), 13-19.

Mouna, R., & Kabouche, Z. (2022). *Profils phytochimiques LC-HRMS/MS et évaluation des activités antioxydante, anticholinestérase et anticancéreuse d'extraits et de fractions VLC de deux espèces du genre Linum (Linaeae)*. [PhD Thesis]. Université Frères Mentouri-Constantine 1.

Mouna, R., & Kabouche, Z. (2022). *Profils phytochimiques LC-HRMS/MS et évaluation des activités antioxydante, anticholinestérase et anticancéreuse d'extraits et de fractions VLC de deux espèces du genre Linum (Linaeae)*. [PhD Thesis]. Université Frères Mentouri-Constantine 1.

Mugge, A., Elwell, J. H., Peterson, T. E., & Harrison, D. G. (1991). Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *260*(2), C219- C225.

Mugge, A., Elwell, J. H., Peterson, T. E., & Harrison, D. G. (1991). Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *260*(2), C219-C225.

Mulder, K. M. (2000). Role of Ras and Mapks in TGF β signaling. *Cytokine & growth factor reviews*, *11*(1-2), 23- 35.

Mulder, K. M. (2000). Role of Ras and Mapks in TGF β signaling. *Cytokine & growth factor reviews*, *11*(1-2), 23-35.

N

Nagy, P., & Winterbourn, C. C. (2010). In *Advances in molecular toxicology* (Vol. 4, p. 183-222). Elsevier.

Nagy, P., & Winterbourn, C. C. (2010). Redox chemistry of biological thiols. In *Advances in molecular toxicology* (Vol. 4, p. 183-222). Elsevier.

Narni-Mancinelli, É., Ugolini, S., & Vivier, É. (2013). Les cellules natural killer—Adaptation et mémoire dans le système immunitaire inné. *médecine/sciences*, *29*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013294012>

Nassima, H. (s. d.). *Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clous de Girofle (Syzygium aromaticum) à l'égard de Tenebrio molitor (L.)(Coleoptera : Tenebrionidae)* [PhD Thesis].

Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S., & Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *The FASEB journal*, *13*(1), 9- 22.

Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S., & Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth

factor (VEGF) and its receptors. *The FASEB journal*, 13(1), 9-22.

Nikias Bertrand. (2023). *Inflammation chronique : Symptômes, causes et traitement (naturel)*. <https://www.nutripure.fr/fr/blog/inflammation-chronique-n313>

Nunomura, A., Castellani, R. J., Zhu, X., Moreira, P. I., Perry, G., & Smith, M. A. (2006). Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *Journal of neuropathology & experimental neurology*, 65(7), 631-641.

Nunomura, A., Castellani, R. J., Zhu, X., Moreira, P. I., Perry, G., & Smith, M. A. (2006). Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *Journal of neuropathology & experimental neurology*, 65(7), 631-641.

Nunomura, A., Chiba, S., Lippa, C. F., Cras, P., Kalaria, R. N., Takeda, A., Honda, K., Smith, M. A., & Perry, G. (2004). Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of familial Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease*, 17(1), 108-113.

Nunomura, A., Chiba, S., Lippa, C. F., Cras, P., Kalaria, R. N., Takeda, A., Honda, K., Smith, M. A., & Perry, G. (2004). Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of familial Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease*, 17(1), 108-113.

O

Ohara, Y., Peterson, T. E., Sayegh, H. S., Subramanian, R. R., Wilcox, J. N., & Harrison, D. G. (1995). Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation*, 92(4), 898-903.

Ohara, Y., Peterson, T. E., Sayegh, H. S., Subramanian, R. R., Wilcox, J. N., & Harrison, D. G. (1995). Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation*, 92(4), 898-903.

OPIE. (2013). *Les Insectes | L'Office pour les Insectes et leur Environnement—Office pour les insectes et leur environnement | Opie*. <https://www.insectes.org/content/category/10-les-insectes>

Oxidative DNA damage : Mechanisms, mutation, and disease—PubMed. (s. d.). Consulté 26 mars 2023, à l'adresse <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12832285/>

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

P

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2023). Chronic Inflammation. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>

Pandey, A. K., Mishra, A. K., & Mishra, A. (2012). Antifungal and antioxidative potential of oil

and extracts derived from leaves of Indian spice plant *Cinnamomum tamala*. *Cellular and Molecular Biology*, 58(1), 142-147.

Paul-Eduard Neagoe, M. (2021). *Réponses cliniques individuelles aux traitements par manipulations vertébrales : Influence de la fréquence et du dosage*. Université de Montréal.

Peyrot, F. (2004). *Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques*. Université Paris XI.

Peyrot, F. (2004). *Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques*. Université Paris XI.

Pichard, C., & Cano, N. J.-M. (2006). Métabolisme des nutriments au cours de l'insuffisance respiratoire chronique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2006.10.179>

Pichard, C., & Cano, N. J.-M. (2006). Métabolisme des nutriments au cours de l'insuffisance respiratoire chronique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2006.10.179>

Piconese, S., Gri, G., Tripodo, C., Musio, S., Gorzanelli, A., Frossi, B., Pedotti, R., Pucillo, C. E., & Colombo, M. P. (2009). Mast cells counteract regulatory T-cell suppression through interleukin-6 and OX40/OX40L axis toward Th17-cell differentiation. *Blood*, 114(13), 2639-2648. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-220004>

Pisoschi, A. M. (2012). Food additives and ingredients-structures, properties, uses. *Elisavaros Edition, Bucharest, Romania*.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products : A review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016a). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products : A review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016b). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products : A review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016c). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products : A review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Placha, D., & Jampilek, J. (2021). Chronic Inflammatory Diseases, Anti-Inflammatory Agents and Their Delivery Nanosystems. *Pharmaceutics*, 13(1), 64. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010064>

Plasma Antioxidant Micronutrients and Oxidative Stress in People Living with HIV. (s. d.). <https://doi.org/10.3923/pjn.2011.214.219>

Poirier, J. (2020). Le système nerveux central et périphérique : Formation, fonction et rôle. *Cité le*, 16.

Popa-Wagner, A., Mitran, S., Sivanesan, S., Chang, E., & Buga, A.-M. (2013). ROS and brain diseases : The good, the bad, and the ugly. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.

Popa-Wagner, A., Mitran, S., Sivanesan, S., Chang, E., & Buga, A.-M. (2013). ROS and brain diseases : The good, the bad, and the ugly. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.

Prasad, S., & Aggarwal, B. B. (2011). Turmeric, the Golden Spice : From Traditional Medicine to Modern Medicine. In I. F. F. Benzie & S. Wachtel-Galor (Éds.), *Herbal Medicine : Biomolecular and Clinical Aspects* (2nd éd.). CRC Press/Taylor & Francis. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92752/>

Pucheu, S. (1994). *Contribution à l'étude des manifestations physiopathologiques liées au stress oxydatif intervenant lors de la reperfusion du myocarde ischémique : Rôle des oligoéléments et essais de protection par des molécules antioxydantes*. Ph. D. thesis, Joseph Fourier University, Grenoble, France.

Pucheu, S. (1994). *Contribution à l'étude des manifestations physiopathologiques liées au stress oxydatif intervenant lors de la reperfusion du myocarde ischémique : Rôle des oligoéléments et essais de protection par des molécules antioxydantes*. Ph. D. thesis, Joseph Fourier University, Grenoble, France.

Q

Qin, L., Liu, Y., Wang, T., Wei, S.-J., Block, M. L., Wilson, B., Liu, B., & Hong, J.-S. (2004). NADPH oxidase mediates lipopolysaccharide-induced neurotoxicity and proinflammatory gene expression in activated microglia. *Journal of Biological Chemistry*, 279(2), 1415- 1421.

Qin, L., Liu, Y., Wang, T., Wei, S.-J., Block, M. L., Wilson, B., Liu, B., & Hong, J.-S. (2004). NADPH oxidase mediates lipopolysaccharide-induced neurotoxicity and proinflammatory gene expression in activated microglia. *Journal of Biological Chemistry*, 279(2), 1415-1421.

Quézel, P. (1926-2015) A. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.

Quézel, P. (1926-2015) A. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.

R

Radak, Z., & Radák, Z. (2000). Free radicals in exercise and aging. Human kinetics. *Champaign. IL*, 381-389.

Raghavendra, G. M., Varaprasad, K., & Jayaramudu, T. (2015). Chapter 2 - Biomaterials : Design, Development and Biomedical Applications. In S. Thomas, Y. Grohens, & N. Ninan (Éds.), *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering* (p. 21-44). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-32889-0.00002-9>

Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., & Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59(7), 365-373.

Rahman, I., Marwick, J., & Kirkham, P. (2004). Redox modulation of chromatin remodeling : Impact on histone acetylation and deacetylation, NF- κ B and pro-inflammatory gene expression. *Biochemical pharmacology*, 68(6), 1255- 1267.

Rahman, I., Marwick, J., & Kirkham, P. (2004). Redox modulation of chromatin remodeling : Impact on histone acetylation and deacetylation, NF- κ B and pro-inflammatory gene expression. *Biochemical pharmacology*, 68(6), 1255-1267.

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219- 236.

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219-236.

RAHMANI, Z. (2015). Etude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humaines par quelques dithiolethiones et composés phénoliques. *Doctorat. Université Kasdi Merbah*.

RAHMANI, Z. (2015). Etude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humaines par quelques dithiolethiones et composés phénoliques. *Doctorat. Université Kasdi Merbah*.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta*, 436, 332- 347.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta*, 436, 332-347.

Ramos-Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., & Pino, J. M. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of economic entomology*, 95(1), 214-220.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy : A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189- 207.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy : A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.

Ratz-Łyko, A., & Arct, J. (2015). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of enzymatically hydrolysed *Cucurbita pepo* and *Linum usitatissimum* seedcakes. *Food science and biotechnology*, 24, 1789-1796.

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

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical*

biology and medicine, 26(9-10), 1231-1237.

Reiter, R., Tan, D., Rosales-Corral, S., Galano, A., Zhou, X., & Xu, B. (2018). Mitochondria : Central Organelles for Melatonin's Antioxidant and Anti-Aging Actions. *Molecules*, 23(2), 509. <https://doi.org/10.3390/molecules23020509>

Reiter, R., Tan, D., Rosales-Corral, S., Galano, A., Zhou, X., & Xu, B. (2018). Mitochondria : Central Organelles for Melatonin's Antioxidant and Anti-Aging Actions. *Molecules*, 23(2), 509. <https://doi.org/10.3390/molecules23020509>

Ren, J.-D., Wu, X.-B., Jiang, R., Hao, D.-P., & Liu, Y. (2016). Molecular hydrogen inhibits lipopolysaccharide-triggered NLRP3 inflammasome activation in macrophages by targeting the mitochondrial reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1863(1), 50-55.

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer : How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, 49(11), 1603-1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

Revuz, J. (2009). *Traité EMC : Cosmétologie et dermatologie esthétique*. Elsevier Masson.

Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Current medicinal chemistry*, 8(7), 797- 807.

Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Current medicinal chemistry*, 8(7), 797-807.

Riethmüller, M., Burger, N., & Bauer, G. (2015). Singlet oxygen treatment of tumor cells triggers extracellular singlet oxygen generation, catalase inactivation and reactivation of intercellular apoptosis-inducing signaling. *Redox biology*, 6, 157-168.

Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie*, 1- 57.

Rousserie, P. (2019). *De la synthèse des flavanols aux tanins du vin : Quelle place pour les pépins de raisin?* Bordeaux.

Rousserie, P. (2019). *De la synthèse des flavanols aux tanins du vin : Quelle place pour les pépins de raisin?* Bordeaux.

S

Sadallah, S., & Schifferli, J. A. (2018). Maladies et complément. *Rev Med Suisse*, 601, 752- 756.

Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31, 133-143. https://doi.org/10.5209/rev_LAZA.2010.v31.9

Salmeen, A., & Barford, D. (2005). Functions and mechanisms of redox regulation of cysteine-based phosphatases. *Antioxidants & redox signaling*, 7(5- 6), 560- 577.

Salmeen, A., & Barford, D. (2005). Functions and mechanisms of redox regulation of cysteine-

based phosphatases. *Antioxidants & redox signaling*, 7(5-6), 560-577.

Sanchez-Muñoz, F., Dominguez-Lopez, A., & Yamamoto-Furusho, J. K. (2008). Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 14(27), 4280-4288. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.4280>

Saunders, A. M., Schmader, K., Breitner, J. C., Benson, M. D., Brown, W. T., Goldfarb, L., Goldgaber, D., Manwaring, M. G., Szymanski, M. H., & McCown, N. (1993). Apolipoprotein E epsilon 4 allele distributions in late-onset Alzheimer's disease and in other amyloid-forming diseases. *Lancet (London, England)*, 342(8873), 710-711.

Saunders, A. M., Schmader, K., Breitner, J. C., Benson, M. D., Brown, W. T., Goldfarb, L., Goldgaber, D., Manwaring, M. G., Szymanski, M. H., & McCown, N. (1993). Apolipoprotein E epsilon 4 allele distributions in late-onset Alzheimer's disease and in other amyloid-forming diseases. *Lancet (London, England)*, 342(8873), 710-711.

Schoots, M. H., Gordijn, S. J., Scherjon, S. A., van Goor, H., & Hillebrands, J.-L. (2018). Oxidative stress in placental pathology. *Placenta*, 69, 153-161. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.03.003>

Schoots, M. H., Gordijn, S. J., Scherjon, S. A., van Goor, H., & Hillebrands, J.-L. (2018). Oxidative stress in placental pathology. *Placenta*, 69, 153-161. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.03.003>

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*, 23(5), 861-880.

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*, 23(5), 861-880.

Semalaty, M., Adhikari, L., Semwal, D., Chauhan, A., Mishra, A., Kotiyal, R., & Semalaty, A. (2017). A comprehensive review on phytochemistry and pharmacological effects of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Current Traditional Medicine*, 3(3), 156-167.

Semalaty, M., Adhikari, L., Semwal, D., Chauhan, A., Mishra, A., Kotiyal, R., & Semalaty, A. (2017). A comprehensive review on phytochemistry and pharmacological effects of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Current Traditional Medicine*, 3(3), 156-167.

Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African journal of pharmacy and pharmacology*, 7(10), 528-539.

Shi, H., Zhang, Z., Wang, X., Li, R., Hou, W., Bi, W., & Zhang, X. (2015). Inhibition of autophagy induces IL-1 β release from ARPE-19 cells via ROS mediated NLRP3 inflammasome activation under high glucose stress. *Biochemical and biophysical research communications*, 463(4), 1071-1076.

Sies, H. (1985). *Introductory remarks in oxidative stress*. London: Academic Press.

Sies, H., & Stahl, W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American journal of clinical nutrition*, 62(6), 1315S-1321S.

Sies, H., & Stahl, W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American journal of clinical nutrition*, 62(6), 1315S-1321S.

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715- 748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715-748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>

Soares, D. G., Andreazza, A. C., & Salvador, M. (2003). Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1077- 1080.

Soares, D. G., Andreazza, A. C., & Salvador, M. (2003). Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1077-1080.

Sofowora, A. (1993). Recent trends in research into African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 38(2), 197- 208. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90017-Y](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90017-Y)

Sofowora, A. (1993). Recent trends in research into African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 38(2), 197-208. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90017-Y](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90017-Y)

Song, M., Yin, Y., Sun, Y., Gao, H., Hu, A., Lou, Y., El-kott, A. F., & El-kenawy, A. E. (2021). Antioxidant, cytotoxicity, and anti-human lung cancer properties of *Linum usitatissimum* seed aqueous extract in in vitro conditions : A pre-clinical trial study. *Archives of Medical Science*.

Song, M., Yin, Y., Sun, Y., Gao, H., Hu, A., Lou, Y., El-kott, A. F., & El-kenawy, A. E. (2021). Antioxidant, cytotoxicity, and anti-human lung cancer properties of *Linum usitatissimum* seed aqueous extract in in vitro conditions : A pre-clinical trial study. *Archives of Medical Science*.

Soomro, S. (2019). Oxidative Stress and Inflammation. *Open Journal of Immunology*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.4236/oji.2019.91001>

Soomro, S. (2019). Oxidative Stress and Inflammation. *Open Journal of Immunology*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.4236/oji.2019.91001>

Soomro, S. (2019). Oxidative Stress and Inflammation. *Open Journal of Immunology*, 09(01), Article 01. <https://doi.org/10.4236/oji.2019.91001>

Sorg, O. (2004). Oxidative stress : A theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus biologiques*, 327(7), 649- 662.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress : A theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus biologiques*, 327(7), 649-662.

Stief, T. W. (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Medical Hypotheses*, 60(4), 567-572.

Strehl, C., Spies, C. M., & Buttgerit, F. (2011). Pharmacodynamics of glucocorticoids. *Clinical and Experimental Rheumatology-Incl Supplements*, 29(5), S13.

Strowig, T., Henao-Mejia, J., Elinav, E., & Flavell, R. (2012). Inflammasomes in health and disease. *nature*, 481(7381), 278-286.

Sun, Y. I., & Oberley, L. W. (1996). Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(3), 335-348.

Sun, Y. I., & Oberley, L. W. (1996). Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(3), 335-348.

T

Tbahriti, H. F., Messaoudi, A., Kaddous, A., Bouchenak, M., & Mekki, K. (2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokines pro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 63(3), 135-139.

Tbahriti, H. F., Messaoudi, A., Kaddous, A., Bouchenak, M., & Mekki, K. (2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokines pro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 63(3), 135-139.

Teissier, E., Nohara, A., Chinetti, G., Paumelle, R., Cariou, B., Fruchart, J.-C., Brandes, R. P., Shah, A., & Staels, B. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor α induces NADPH oxidase activity in macrophages, leading to the generation of LDL with PPAR- α activation properties. *Circulation research*, 95(12), 1174-1182.

Teissier, E., Nohara, A., Chinetti, G., Paumelle, R., Cariou, B., Fruchart, J.-C., Brandes, R. P., Shah, A., & Staels, B. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor α induces NADPH oxidase activity in macrophages, leading to the generation of LDL with PPAR- α activation properties. *Circulation research*, 95(12), 1174-1182.

Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028.

Tilak, J. C., Banerjee, M., Mohan, H., & Devasagayam, T. P. A. (2004). Antioxidant availability of turmeric in relation to its medicinal and culinary uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(10), 798-804.

Tréchet, P., & Jouzeau, J.-Y. (2014). Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Revue Française d'Allergologie*, 54(3), 212-217. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2014.01.026>

Tucker, P. S., Scanlan, A. T., & Dalbo, V. J. (2015). Chronic kidney disease influences multiple systems : Describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.

Tucker, P. S., Scanlan, A. T., & Dalbo, V. J. (2015). Chronic kidney disease influences multiple systems : Describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.

Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Valentine, D. H., Walters, S. M., & Webb, D. A. (1976). *Flora Europaea : Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)* (Vol. 4). Cambridge university press.

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007a). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44- 84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007a). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007b). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44- 84.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007b). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

van der Valk, T., & van der Meijden, A. (2014). Toxicity of scorpion venom in chick embryo and mealworm assay depending on the use of the soluble fraction versus the whole venom. *Toxicon*, 88, 38-43.

Verstrepen, L., & Beyaert, R. (2014). Receptor proximal kinases in NF- κ B signaling as potential therapeutic targets in cancer and inflammation. *Biochemical Pharmacology*, 92(4), 519- 529.

Verstrepen, L., & Beyaert, R. (2014). Receptor proximal kinases in NF- κ B signaling as potential therapeutic targets in cancer and inflammation. *Biochemical Pharmacology*, 92(4), 519-529.

Vignot, S., André, T., Gonçalves, A., Guièze, R., Magné, N., Orbach, D., Penel, N., Thariat, J., Wislez, M., & Bay, J.-O. (2017). Quels résultats de l'année 2016 vont avoir un impact sur nos pratiques ? Le point de vue du Comité de rédaction du Bulletin du Cancer. *Bulletin du Cancer*, 104(1), 6- 19. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2016.11.009>

Viola, T. W., Orso, R., Florian, L. F., Garcia, M. G., Gomes, M. G. S., Mardini, E. M., Niederauer, J. P. O., Zaparte, A., & Grassi-Oliveira, R. (2023). Effects of substance use disorder on oxidative and antioxidative stress markers: A systematic review and meta-analysis. *Addiction Biology*, 28(1), e13254. <https://doi.org/10.1111/adb.13254>

Vo, T. T. T., Chu, P.-M., Tuan, V. P., Te, J. S.-L., & Lee, I.-T. (2020). The Promising Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Periodontal Disease via the Inhibition of Oxidative Stress Pathways: Updated Insights. *Antioxidants*, 9(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/antiox9121211>

Vulgaris-medical 2000-2023. (s. d.). *Macrophage—Symptômes, Causes et traitements*. Consulté 13 avril 2023, à l'adresse <https://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/macrophage/>

W

Walker, J. E., Saraste, M., Runswick, M. J., & Gay, N. J. (1982). Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO journal*, 1(8), 945-951.

Walker, J. E., Saraste, M., Runswick, M. J., & Gay, N. J. (1982). Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO journal*, 1(8), 945-951.

Wang, C., Levis, G. B. S., Lee, E. B., Levis, W. R., Lee, D. W., Kim, B. S., Park, S. Y., & Park, E. (2004). Platycodin D and D3 isolated from the root of *Platycodon grandiflorum* modulate the production of nitric oxide and secretion of TNF- α in activated RAW 264.7 cells. *International immunopharmacology*, 4(8), 1039-1049.

Wu, Y., Lu, J., Antony, S., Juhasz, A., Liu, H., Jiang, G., Meitzler, J. L., Hollingshead, M., Haines, D. C., & Butcher, D. (2013). Activation of TLR4 is required for the synergistic induction of dual oxidase 2 and dual oxidase A2 by IFN- γ and lipopolysaccharide in human pancreatic cancer cell lines. *The Journal of Immunology*, 190(4), 1859-1872.

Y

Yang, M.-H., Lin, H.-J., & Choong, Y.-M. (2002). A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International*, 35(7), 627-633.

Yang, M.-H., Lin, H.-J., & Choong, Y.-M. (2002). A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International*, 35(7), 627-633.

Ye, J. (2009). Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *International journal of obesity*, 33(1), 54-66.

Ye, J. (2009). Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *International journal of obesity*, 33(1), 54-66.

Z

Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family : A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology and medicine*, 33(3), 337- 349.

Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family : A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology and medicine*, 33(3), 337-349.

Zhang, B., Alysandratos, K.-D., Angelidou, A., Asadi, S., Sismanopoulos, N., Delivanis, D.-A., Weng, Z., Miniati, A., Vasiadi, M., & Katsarou-Katsari, A. (2011). Human mast cell degranulation and preformed TNF secretion require mitochondrial translocation to exocytosis sites : Relevance to atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(6), 1522-1531. e8.

Zhou, R., Tardivel, A., Thorens, B., Choi, I., & Tschopp, J. (2010). Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nature immunology*, 11(2), 136- 140.

Zhou, R., Tardivel, A., Thorens, B., Choi, I., & Tschopp, J. (2010). Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nature immunology*, 11(2), 136-140.

Zhou, R., Yazdi, A. S., Menu, P., & Tschopp, J. (2011). A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 469(7329), 221- 225.

Zhou, R., Yazdi, A. S., Menu, P., & Tschopp, J. (2011). A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 469(7329), 221-225.

Zhou, X., Huang, N., Chen, W., Xiaoling, T., Mahdavi, B., Raoofi, A., Mahdian, D., & Atabati, H. (2020). HPLC phenolic profile and induction of apoptosis by *Linum usitatissimum* extract in LNCaP cells by caspase3 and Bax pathways. *Amb Express*, 10, 1- 11.

Zhou, X., Huang, N., Chen, W., Xiaoling, T., Mahdavi, B., Raoofi, A., Mahdian, D., & Atabati, H. (2020). HPLC phenolic profile and induction of apoptosis by *Linum usitatissimum* extract in LNCaP cells by caspase3 and Bax pathways. *Amb Express*, 10, 1-11.

Zou, M.-H., Shi, C., & Cohen, R. A. (2002). Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. *The Journal of clinical investigation*, 109(6), 817- 826.

Zou, M.-H., Shi, C., & Cohen, R. A. (2002). Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. *The Journal of clinical investigation*, 109(6), 817-826.

Панасенко, О. М., Горудко, И. В., & Соколов, А. В. (2013). Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах. *Успехи биологической химии*, 53, 195-244.

Annexe



Tube à essai

Tube Eppendorf

tube hépariné



Spatule

Eprouvette

Bécher

Micropipette

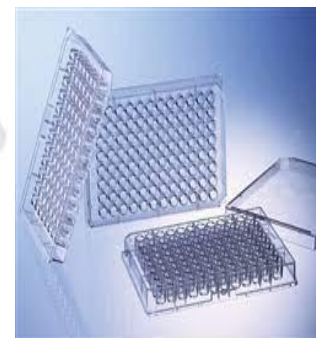


Entonnoir

Vers de montre

Boîte de pétri

Barreaux magnétique

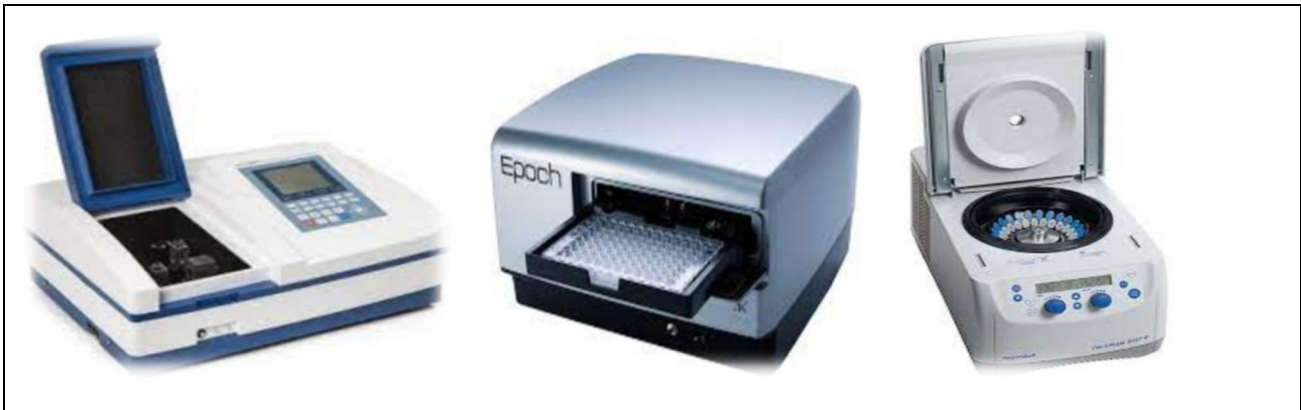


Flacon en vers

Ballon à évaporation

Papier filtre

Microplaques



Spectrophotomètre UV visible

Lecteur de microplaques

Centrifugeuse réfrigéré



Bain marin

Bain à ultrason

Etuve



Agitateur magnétique

Ampoule à décanter

Balance de précision



Evaporateur rotatif

PH mètre

Vortex

Année universitaire : 2022-2023	Présentée par : M ^{lle} Mimoune Romaiassa M ^{lle} Ziadi Lamis
TITRE : Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une espèce du genre '<i>Linum</i>'	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée	
Le travail présent vise à étudier les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, enzymatiques et la toxicité des extraits d'une espèce du genre <i>Linum</i> obtenus à partir d'extractions avec des solvants de différentes polarités.	
L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de différentes méthodes, le DPPH, l'ABTS, le FRAP, la Phénanthroline et le SNP, a montré que les extraits d'acétate d'éthyle et de <i>n</i> -butanol présentaient une excellente capacité à neutraliser les radicaux libres DPPH et ABTS, avec des pourcentages d'inhibition IC ₅₀ respectifs de (12,08±0,76 µg/mL, 8,39±5,93 µg/mL) et (13,69±2,21 µg/mL, 6,45±1,69 µg/mL) ainsi qu'une bonne activité de réduction du fer ferrique en fer ferreux. En revanche, les tests de Phénanthroline et de SNP ont montré des effets faibles et négligeables. Les extraits d'éther et de chloroforme, quant à eux, ont présenté les valeurs les plus basses par rapport aux autres extraits, avec une bonne activité oxydante pour neutraliser les radicaux DPPH et ABTS, ainsi que le FRAP, mais une faible activité pour la Phénanthroline et le SNP.	
L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de <i>n</i> -butanol a révélé une faible activité pour protéger la protéine BSA, avec un IC ₅₀ de 2,09±0,49 µg/mL. L'extrait de <i>n</i> -butanol a également montré une bonne activité anti-hémolytique vis-à-vis des globules rouges, avec une valeur de protection remarquablement élevée de 64,395% pour la première concentration élevée de 14,4 mg/mL.	
En ce qui concerne l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase, nos quatre extraits ont montré une faible activité enzymatique.	
Enfin, le test de toxicité sur les larves de <i>Tenebrio molitor</i> suggère que l'extrait de <i>n</i> -butanol ne présente aucune toxicité, tandis que les autres extraits testés, à savoir l'acétate d'éthyle, l'éther et le chloroforme, présentent une toxicité significative, mais seulement à des concentrations élevées.	
Mots clés : antioxydante, anti.inflammatoire, activité enzymatique, toxicité, <i>Linum</i> .	
Laboratoire de recherche : Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques Constantine 1 (LOST) Laboratoire de Biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie Constantine (CRBT)	
Président du jury : Mr BOUANIMBA Nour (MCA-UFM, Constantine 1).	
Encadreur : Mr KITOUNI Rachid (MCB-UFM, Canstantine1).	
Examineur1 : Mr BEZZI Tarek (MRB-CRBT, Constantine).	