

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



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

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

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté dans le cadre de l'arrêté ministériel
1275

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Et diplôme startup –diplôme brevet

Domaine : Sciences de la Nature et de la
Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Biotechnologie et Biothérapie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Production de complément alimentaire naturel anti
douleur menstruelle**

Présenté par:

Le 25/09/2023

- Bouarroudj Nihal
- Guessoum Nada
- Namous Lidya

Encadreur :	Bellil Ines	(Prof-UFMC1)
Président:	Madi Aicha	(MCA- UFMC1)
Examineur :	Benchiheb Meriem	(MCB- UFMC1)
Incubateur :	Ghorri Sana	(MCA- UFMC1)
Cati :	Betina Soumeya	(MCB- UFMC1)
Sécateur Socioéconomique :	Ababsa Zine El Abidine	(GMP-PHARMA)

Année universitaire 2022/2023

REMERCIEMENTS

Nous devons remercier avant tout Allah le tout puissant pour toute la Volonté et le courage.

*Chère Professeur **Bellil Ines***

Nous tenons simplement à vous remercier du fond du cœur pour votre précieuse guidance et votre soutien tout au long de cette période. Votre influence positive a été inestimable pour nous.

Merci infiniment.

*Chère Docteur **Benouchenne Djamila,***

Un grand merci pour votre précieuse aide dans notre travail.

Votre soutien a fait une réelle différence, et nous sommes extrêmement reconnaissants de vous avoir à nos côtés.

*Nous avons remercié également les membres de jury mesdames **MADI Aicha, BENCHIHEUB Meriem, GHORRI Sana et BETINA Soumeya** pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement notre partenaire, **ABABSA ZineEl Abidine,** pour son précieux soutien dans la formulation de notre complément alimentaire.*

*Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements au responsable du Laboratoire de Bactériologie **Dr. Yakhlef Asia,** et à son équipe d'ingénieurs pour leur précieuse contribution et pour nous avoir accueillis.*

*Nous remercions aussi les enseignants de la **Faculté des sciences et des sciences de la vie,** en particulier ceux de **département de biologie appliquée, Université frères Mentouri Constantine 1***

DEDICACES

À mes chers parents, **GUESSOUM Ahmed** et **REMLI Nora**,
Je dédie humblement ce travail en reconnaissance de tous leurs sacrifices, de leur amour
inconditionnel, de leur tendresse infinie, de leur soutien indéfectible et de leurs prières qui
m'ont guidé tout au long de mes études. J'espère sincèrement avoir répondu à vos attentes et
réalisé l'un de vos rêves.

À mes chères sœurs, **Khawla** et **Chaima**, ainsi qu'à mon petit frère **Ibrahim**, pour leur
engagement constant, leur générosité et leur soutien moral.

À ma chère tante **Safia**, pour son soutien précieux et ses conseils avisés.

À mes chères amies, **Nihal** et **Lidya**, avec qui j'ai surmonté bien des difficultés pour donner
vie à ce travail. Notre amitié a transformé chaque épreuve en un trésor précieux
d'expérience. Votre présence et votre soutien ont insufflé une vie marquée par le dévouement
et la persévérance à ces pages. Merci d'avoir été les piliers de ma réussite

Guessoum Nada

DEDICACES

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux,

*Je consacre humblement ce travail à mes chers parents, **Riad** et **Shahrazade**, en signe de gratitude pour leurs sacrifices, leur amour inconditionnel, leur tendresse infinie, leur soutien constant et leurs prières qui m'ont guidé tout au long de mon parcours académique. J'espère sincèrement avoir répondu à leurs attentes et avoir réalisé l'un de leurs rêves.*

*À ma sœur **Nouha**, et à mon petit frère, **Nouar**, je rends hommage pour leur engagement constant, leur générosité et leur soutien moral.*

*À mon cher ami **Ahmed**, Je tenais à t'exprimer ma profonde gratitude pour tout le soutien que tu m'as apporté tout au long de la réalisation de ma mémoire de fin d'études. Ton aide précieuse, ton encouragement constant et ta patience ont joué un rôle crucial dans la réussite de ce projet.*

*À mes amies précieuses, **Nada** et **Lidya**, avec qui j'ai relevé de nombreux défis pour donner vie à ce travail, je tiens à exprimer ma reconnaissance. Notre amitié a transformé chaque épreuve en une expérience précieuse. Votre présence et votre soutien ont donné à ces pages une vie imprégnée de dévouement et de persévérance.*

Merci d'avoir été les piliers de ma réussite.

Tous mes chers collègues, professeurs et tous ceux qui ont aidé à accomplir ce travail. Merci à tous, les mots de remerciement ne suffiront jamais

Bouarroudj Nihal

DEDICACES

Je remercie Allah pour chaque moment de ma vie, y compris pour m'avoir permis d'atteindre cette étape cruciale et de terminer ce travail.

*Avec une profonde gratitude, je dédie ce modeste travail à mes chers parents, **Abdeldjalil et Bouarroudj Iman**. Je sais que je ne pourrais jamais être à la hauteur de vos sacrifices et de votre patience. Je prie Dieu pour qu'Il vous accorde santé et longévité. Merci, papa et maman, pour votre amour et votre soutien indéfectible.*

*À le sourire et le secret de mon bonheur Ma grand mère " **mma zhor**", merci pour son soutien précieux et ses conseils avisés.*

*À mon frère unique, **Rabah Nidal**, merci pour tout, pour tes encouragements et ton soutien constant.*

*À mes chères sœurs, **Sara et Meysoune**, pour leur engagement permanent, leur générosité et leur soutien moral.*

*À mes chères amies, **Nihal et Nada**, avec qui j'ai surmonté bien des difficultés pour donner vie à ce travail. Notre amitié a transformé chaque épreuve en un trésor précieux d'expérience.*

Votre présence et votre soutien ont insufflé une vie marquée par le dévouement et la persévérance à ces pages. Merci d'avoir été les piliers de ma réussite.

*A mes chères copines **Mawra et Manal** qui avez été une source constante de soutien, de rires et de complicité. Votre amitié a rendu cette étape plus lumineuse.*

Merci pour tout.

Un grand merci à tous mes chers collègues, professeurs et à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Namous lidya

Table des matières

REMERCIEMENTS	i
DEDICACES	ii
Liste des figures	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction.....	1
I. Le cycle menstruel.....	4
1.1. Définition de cycle menstruel	4
1.2 Les phases de cycle menstruel	4
1.2.1 La Phase menstruelle	4
1.2.2 La phase pré-ovulatoire	5
1.2.3 L'ovulation	5
1.2.4. La phase post-ovulatoire.....	6
II. Les troubles menstruels.....	7
2.1 Le syndrome prémenstruel (SPM)	7
2.1.1. Physiopathologie	8
2.1.2. Les causes du syndrome prémenstruel	8
2.2. Définition de la dysménorrhée	9
2.2.1 L'étiologie de la dysménorrhée	9
2.2.2. La physiopathologie	10
2.3. Le traitement	11
Introduction :.....	12
1. La phytothérapie	12
1.1. Définition de la phytothérapie.....	12
I-2- Types de phytothérapie.....	12
I-2-1- La phytothérapie traditionnelle (classique)	12
I-2-2- La phytothérapie clinique (moderne)	13
I-3- Avantages de phytothérapie	13
1.4. Limites et risque de la phytothérapie	13
1.4.1. Toxicité intrinsèque des plantes	13
1.4.2. Risque d'interactions entre plantes médicinales et médicaments.....	14
1.5. Indications de la phytothérapie	14

2. Les plantes médicinales	14
2.1. Définition	14
2.2. Éléments actifs des plantes médicinales.....	15
2.2.1. Les principes actifs	15
2.2.2. Métabolites secondaires.....	15
2.3. Formes d'utilisation des plantes médicinales.....	16
2.3.1. Plantes en vrac	16
2.3.2. Formes galéniques	17
2.4. Les plantes médicinales utilisées pour traiter les douleurs menstruelles	18
3. Les plantes étudiées	20
3.1. <i>Vitex agnus castus</i> . L	20
3.1.1. Généralités	20
3.1.2. Composition chimique.....	20
3.1.3. Propriétés et utilisations.....	21
3.2. <i>Oenothera biennis</i> (Oenotheraceae ou Onagraceae).....	24
3.2.1. Généralité.....	24
3.2.2. Principaux constituants actifs	25
3.2.3. Propriétés pharmacologiques.....	26
3.2.4. Effets Thérapeutiques de l'Huile d' <i>Oenothera biennis</i> et de l'Acide Gamma- linoléinique sur le syndrome Prémenstruel et la Régulation Hormonale chez les Femmes	27
3.3. <i>Borago officinalis</i> L:	28
3.3.1. Généralités	28
3.3.2. Principaux constituants actifs	28
3.3.4. Propriétés pharmacologiques.....	29
3.3.5. Effets Thérapeutiques de l'Huile de <i>Borago officinalis</i> et de l'Acide Gamma- linoléinique sur le cycle menstruel et la Régulation Hormonale chez les Femmes.....	30
MATERIEL ET METHODES.....	32
Matériel et méthodes.....	32
1. Matériel.....	32
1.1. Matériel végétal.....	32
1.2. Les animaux	33
1.3. Les souches microbiennes.....	34
2. Méthodes.....	34

2.1. Préparation des extraits	34
2.1.1. Préparation des extraits pour le screening phytochimique	34
2.1.2. Préparation des extraits pour les testes <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	35
2.2. Analyses phytochimiques de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i>	36
2.2.1. Analyse qualitative par le screening phytochimique	36
2.3. Les activités biologiques	38
2.3.1. L'activité anti-inflammatoire de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i>	38
2.3.2. Activité antimicrobienne	40
2.4. Évaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë des extraits	44
2.4.1. Etude de la toxicité aiguë des extraits de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i> chez les souris (tests précliniques).....	44
2.4.2. Analyses biochimiques	48
2.4.3. Étude histologique	49
3. Résultats et discussion	52
1. Rendement d'extraction	52
2. Analyses phytochimiques	52
2.1. Screening phytochimique	52
3. Les activités biologiques.....	59
3.1. L'activité antibactérienne	59
3.2. Activité antifongique.....	62
3.3. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	65
4. Etude <i>in vivo</i> de la toxicité des extraits de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i> chez les souris (tests précliniques).....	67
4.1. Comportement et signes de toxicité	67
4.2. Changement du poids	68
4.3. Analyses biochimiques.....	69
4.3.1. Effet des extraits de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i> sur les fonctions rénales.....	69
4.3.2. Effet des extraits de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i> sur le bilan lipidique	70
4.3.3. Effet des extraits de <i>Vitex agnus-castus</i> , <i>Oenothera biennis</i> et <i>Borago officinalis</i> sur les organes	71
Conclusion	80

Les références	83
<i>Résumé</i>	96
Abstract	97
المخلص	98
Annexe:	101

Liste des tableaux

Tableau 1: Les causes du symptôme prémenstruel	8
Tableau 2: Modes d'obtention des tisanes.	16
Tableau 3: Les différentes formes galéniques de phytothérapie	17
Tableau 4: Les principaux constituants chimiques de Vitex agnus-castus.....	20
Tableau 5: Les principaux constituants de la graine d'Oenothera biennis	25
Tableau 6: Préparation des extraits hydro-méthanolique pour chaque plante.	35
Tableau 7: Volumes d'eau et d'extraits utilisés pour le test des saponosides.....	37
Tableau 8: Etude de la toxicité aiguë des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis	48
Tableau 9: Résultats du Screening phytochimique d'extrait de vitex agnus castus L	53
Tableau 10: Résultats du Screening phytochimique d'extrait Borago officinalis	54
Tableau 11: Résultats du Screening phytochimique d'extrait d' Oenothera biennis	54
Tableau 12: Diamètre d'inhibition des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur les différentes souches bactériennes.....	59
Tableau 13: Résultats de la lecture pour les différentes concentrations des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur les différentes souches bactériennes.	60
Tableau 14: Diamètre d'inhibition des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur les différentes souches fongiques.	62
Tableau 15: Comportements des souris contrôles et traitées par 2000 mg/kg des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis chez les souris.....	67
Tableau 16: Effet des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur le poids des souris dans le test de la toxicité aiguë.....	68
Tableau 17: Effet des extraits des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur la fonction rénale des souris traitées (2000mg/kg).	70
Tableau 18: Effet des extraits de Vitex agnus-castus, Oenothera biennis et Borago officinalis sur les paramètres lipidiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.	70
Tableau 19: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait de Vitex agnus-castus et le témoin (GX100).....	71
Tableau 20: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait d'Oenothera biennis et le témoin (GX10)	72
Tableau 21: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait de Borago officinalis et le témoin (GX100).....	73

Liste des figures

Figure 1: Cycle de reproduction chez la femme	7
Figure 2: Physiopathologie	11
Figure 3: Broyage des échantillons de plantes.	33
Figure 4: Les souris femelles Swiss Albinos dans les cages	33
Figure 5: Etapes de préparation des échantillons	39
Figure 6: Étapes de préparation de blanc	40
Figure 7: Préparation des doses pour la toxicité	46
Figure 8: Administration des doses par voie orale	47
Figure 9: Le prélèvement des échantillons de sang.....	49
Figure 10: La dissection des souris	49
Figure 11: Les organes des souris	50
Figure 12: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA	65

Liste des abréviations

SPM	syndrome prémenstruel
FSH	Hormone folliculo-stimulante
LH	Hormone lutéinisante
PG	prostaglandines
PGE2	prostaglandines de la série deux
PGF2α	Prostaglandine F2 alpha
PGI2	Prostacycline (ou Prostaglandine I2)
AINS	anti-inflammatoires non stéroïdiens
OMS	Organisation mondiale de la santé
UV	Les rayons ultraviolets
SIPF	Suspensions Intégrales de Plantes Fraîches
°C	degrés Celsius
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine
TDPM	Trouble dysphorique prémenstruel
PGE1	Prostaglandine de la série 1
IgE	Immunoglobuline E
IgG	Immunoglobuline G
AGL	Acide Gamma-Linolénique
PGE3	Prostaglandine de la série 3
EPA	Acide Eicosapentaénoïque
DHA	Acide Docosahexaénoïque
LA	Acide Linoléique
SDA	Acide Stéaridonique
GBBV	Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale
CRBt	Centre de Recherche en Biotechnologie
LaMyBAM	Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne
ONAB	Office National des Animaux du Bétail
HCL	Chlorure d'hydrogène
FeCl3	Chlorure de fer (III)
H2SO4	Acide sulfurique
NaOH	Hydroxyde de sodium
BSA	Albumine Sérum Bovin
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
SM	Suspension mère
NaCl	Chlorure de sodium
E	<i>Escherichia</i>
S	<i>Staphylococcus</i>
C	<i>Candida</i>
A	<i>Aspergillus</i>
CMI	concentration minimale inhibitrice

HE	huile essentielle
BSA	Bovine Sérum Albumine
DL50	Dose Létale Médiane
DME	Dose Minimale Efficace.

INTRODUCTION

Introduction

La puberté est une période de changements physiques et émotionnels qui prépare le corps à la reproduction. Pendant cette période, les organes reproducteurs grandissent, la croissance s'accélère et les caractéristiques sexuelles secondaires se développent. Une de ces caractéristiques est le cycle menstruel, qui implique des saignements mensuels de l'utérus par le vagin. Ces saignements, appelés menstruations, sont souvent accompagnés de douleurs, ce qu'on appelle la dysménorrhée (**Benlebbad, 2017**).

Les dysménorrhées sont des douleurs pendant les règles, ressemblant à des crampes ou des douleurs sourdes. Elles peuvent venir avec des symptômes comme maux de tête, nausées, problèmes digestifs. Certaines femmes souffrent de douleurs intenses, impactant la vie quotidienne, avec des absences possibles à l'école ou au travail. La sensibilité à la douleur des dysménorrhées peut aussi augmenter le risque de douleurs chroniques à long terme (**Pinkerton, 2023**).

Le syndrome prémenstruel (SPM) est un trouble qui regroupe diverses manifestations physiques et émotionnelles chez les femmes, survenant durant la phase lutéale du cycle menstruel (**Tortora et Derrickson, 2016**). Les symptômes les plus courants comprennent des douleurs abdominales, une sensibilité des seins, des ballonnements, des maux de tête, de la fatigue, des problèmes de sommeil, des problèmes de peau et des changements d'humeur tels que l'irritabilité et l'anxiété. Ces symptômes peuvent varier en intensité et en durée, impactant la qualité de vie des femmes (**Zaafraane et al., 2007; Haenggi-Bally, 2007**).

Depuis longtemps, les gens ont utilisé des plantes pour se soigner. Ils ont choisi certaines plantes en se basant sur l'expérience plutôt que le hasard, la religion ou la superstition. Des médecins anciens comme Hippocrate et Dioscoride en Grèce et Pline l'Ancien à Rome ont décrit les plantes médicinales. Jusqu'au XIXe siècle, les médecins ont surtout utilisé des plantes pour soulager les maux et les douleurs. Plus tard, les chimistes ont isolé les ingrédients actifs des plantes, et au XXe siècle, ils ont créé des molécules synthétiques. Cela a conduit à un intérêt renouvelé pour les traitements à base de plantes, mais aussi à des règlements qui ont limité leur utilisation médicale (**Iserin 2001**). Certaines plantes médicinales comme le gattilier, possèdent des caractéristiques anti-inflammatoires et spasmolytiques, et sont employées pour atténuer les douleurs menstruelles (**Ferey D, 2017**).

INTRODUCTION

C'est dans ce contexte général de douleurs menstruelles et de bien-être des femmes que nous avons initié notre travail de mémoire de Master 2 et notre projet d'entreprise portant sur les bio médicaments destinés aux bien être des femmes. L'objectif principal étant de développer un complément alimentaire qui agit comme un antidouleur menstruel, offrant une solution naturelle et efficace pour soulager les douleurs associées aux menstruations.

Dans notre étude, nous avons sélectionné et examiné trois plantes médicinales spécialement choisies pour atténuer les douleurs associées au cycle menstruel et traiter le syndrome SPM. Nous avons effectué une analyse phytochimique ainsi que des évaluations de leurs activités biologiques, notamment leur effet anti-inflammatoire, leur pouvoir antioxydant et leur activité antimicrobienne. Parallèlement, nous avons étudié la toxicité de ces plantes sur un modèle animal.

Le présent document de mémoire de Master se compose de deux parties :

- La première partie** est une synthèse bibliographique où nous apportons des généralités sur le cycle menstruel et la phytothérapie, les plantes médicinales et les plantes étudiées.
- La deuxième partie** est expérimentale, consacrée à l'étude de l'effet anti-inflammatoire, et antibactérien et la toxicité des plantes étudiées.

Enfin, une conclusion sera donnée qui permettra de tracer les perspectives nécessaires pour mieux approfondir ce travail.

CHAPITRE 1
LE CYCLE
MENSTRUEL

Introduction

Le cycle menstruel est un processus complexe se déroulant dans l'appareil génital interne des femmes en âge de procréer. Sous l'influence de diverses hormones, il se divise en quatre phases : la menstruation, la phase folliculaire, l'ovulation et la phase lutéale. Sa durée moyenne est de 28 jours (**Mihm, 2011; Czajkowska, 2020**).

De nombreuses femmes éprouvent des symptômes menstruels tels que le syndrome prémenstruel (SPM) et la dysménorrhée. Ces symptômes se manifestent physiquement, émotionnellement et comportementalement, ayant un impact significatif sur la vie personnelle et professionnelle des femmes (**Rapkin, 2003; MASURE, 2018**).

I. Le cycle menstruel

1.1. Définition de cycle menstruel

Le cycle menstruel ou la période des pertes sanguines est un processus cyclique qui implique des modifications anatomiques et physiologiques dans le corps de la femme (**Lansac et Evrard, 2013**) dans le but de produire mensuellement un ovocyte mature unique, à partir de la puberté jusqu'à la ménopause (**Buffet et al, 1998**), au cours duquel l'endomètre subit des modifications en réponse aux variations des hormones ovariennes présentes dans le sang. Ces modifications sont synchronisées avec les différentes phases du cycle ovarien, qui sont régulées par les gonadotrophines produites par l'adénohypophyse (**Marieb et Hoehn, 2019**) (**figure 1**).

La durée du cycle de la reproduction varie habituellement entre 25 à 35 jours (**Arne et Nicole, 2004**) et mesurée à partir du premier jour des saignements menstruels jusqu'au jour précédant le premier jour des saignements menstruels suivants (**Reed et Carr, 2018**) (**figure 1**).

1.2 Les phases de cycle menstruel

1.2.1 La Phase menstruelle

Pendant les jours 1 à 5 de la phase menstruelle les niveaux d'œstrogènes et de progestérone sont significativement réduits en raison de la dégénérescence du corps jaune, qui avait été actif durant la deuxième moitié du cycle précédent (**Ross et**

Wilson, 2014), l'endomètre subit une desquamation de la couche fonctionnelle qui recouvre la surface du revêtement épais (**François, 2003**), Cela conduit à des saignements qui durent en moyenne de trois à cinq jours, où le sang et les tissus qui se sont détachés s'écoulent dans le vagin sous forme de flux menstruel (**Marieb et Hoehn, 2019**). La perte de sang moyenne pendant cette période est d'environ 50 à 150 ml (**Sherwood, 2006**). À partir du jour 5, les follicules ovariens en développement recommencent à produire des œstrogènes (**Marieb, 2008**).

1.2.2 La phase pré-ovulatoire

La phase folliculaire est la période qui se situe entre la fin de la menstruation et l'ovulation (**Widmaier et al, 2013**), et elle se déroule généralement entre le 6ème et le 13ème jour d'un cycle menstruel (**Tortora et Derrickson, 2016**).

Pendant cette phase, plusieurs follicules primaires commencent à se développer (**Sherwood, 2006**), sous l'effet de la stimulation par la FSH et commencent à sécréter de l'œstrogène, un seul follicule sera recruté pour devenir le follicule pré-ovulatoire (**Johannes et Crawford, 1999**). Le follicule ovarien qui a été sélectionné comme dominant poursuit sa maturation et croît en taille jusqu'à atteindre sa maturité nécessaire pour l'ovulation (**Johann et Runhild, 2013**). Les œstrogènes sécrétés par follicule mature stimulent la croissance de la couche fonctionnelle de l'endomètre, qui se reconstruit après l'écoulement de la menstruation (**Michel, 2009**). À la fin de la phase proliférative, une augmentation soudaine de LH (hormone lutéinisante) provoque l'ovulation (**Courbiere, 2016**).

1.2.3 L'ovulation

L'ovulation se produit habituellement en moyenne au 14ème jour du cycle menstruel (**Marieb, 2008**) et est déclenchée par le pic de sécrétion de LH, survenue environ 36 heures auparavant (**Widmaier, 2013**). Ce pic de LH permet à l'ovocyte issu du follicule dominant de compléter sa première méiose et de débiter sa deuxième méiose jusqu'à la métaphase. Si l'ovocyte est fécondé, il achèvera sa deuxième méiose. L'ovulation correspond à la rupture du follicule de De Graaf, ou follicule mature, qui libère l'ovocyte mature dans l'ampoule de la trompe utérine, où il est prêt à être fécondé (**Courbiere, 2016**), l'augmentation des taux d'estrogènes a pour effet de stimuler la prolifération de la couche fonctionnelle de l'endomètre, qui continue à s'épaissir, à vasculariser et à s'enrichir les glandes utérine (**Marieb et Suzanne,**

2020) pour préparer l'utérus à une éventuelle grossesse . Cette réaction marque le début de la phase sécrétoire de l'utérus (**Tortora et Derrickson, 2016**).

1.2.4. La phase post-ovulatoire

La phase lutéale qui commence après l'ovulation, a généralement lieu entre le 15ème et le 28ème jour du cycle menstruel, Le corps jaune est formé à partir des cellules folliculaires restantes après l'ovulation et est stimulé par la LH pour produire de la progestérone et de l'estrogène (**Merviel et al, 2011**).

En l'absence de grossesse, sa durée de vie est limitée à environ 10 jours, après quoi il dégénère par apoptose, ne produisant plus d'hormones et laissant une cicatrice appelée corps blanc. Les derniers jours de la phase lutéale sont souvent appelés phase lutéolytique. En cas de fécondation et de grossesse, le corps jaune persiste pendant environ 3 mois, jusqu'à ce que le placenta prenne le relais dans la production d'hormones (**Marieb et Hoehn, 2019**).

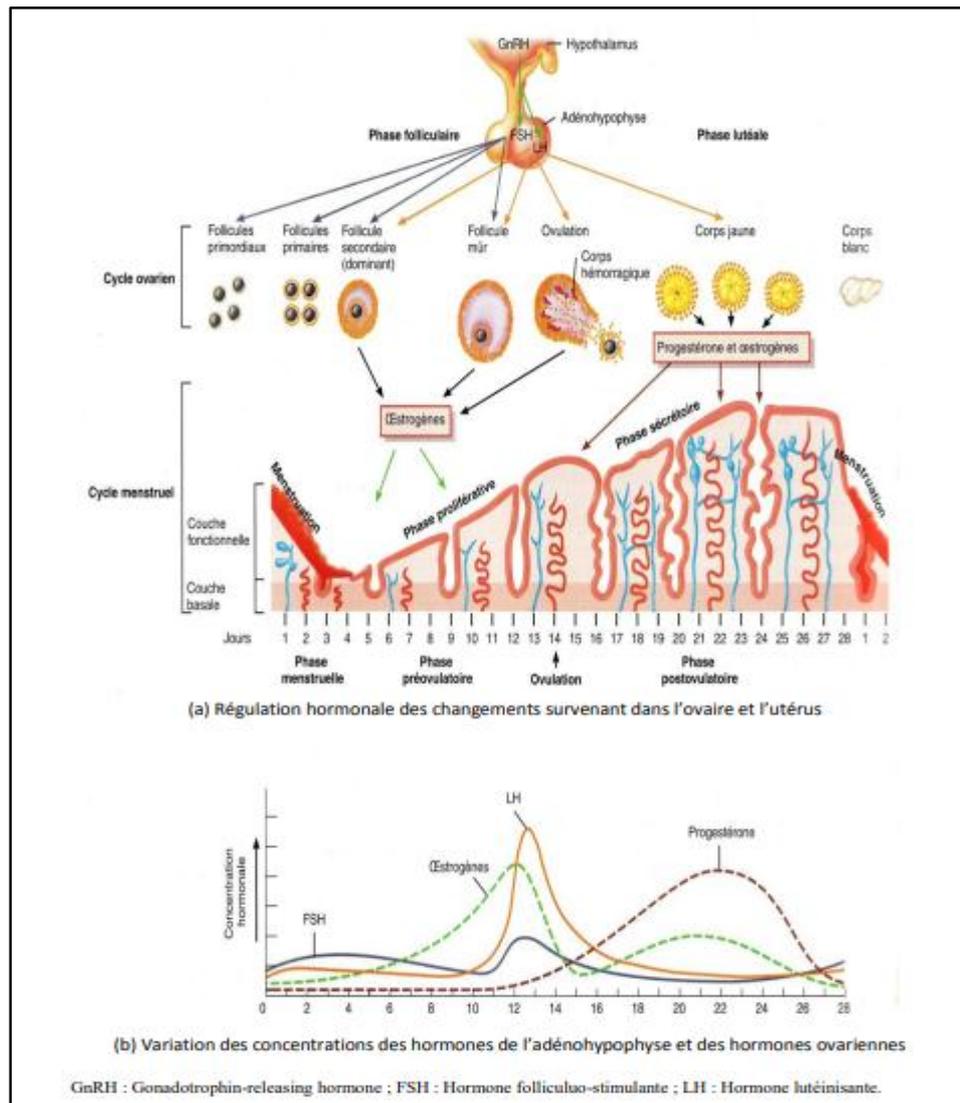


Figure 1: Cycle de reproduction chez la femme (Tortora et Derrickson, 2016)

II. Les troubles menstruels

2.1 Le syndrome prémenstruel (SPM)

Le syndrome prémenstruel (SPM) est un trouble cyclique qui regroupe plusieurs manifestations physiques et émotionnelles (Tortora et Derrickson, 2016), qui surviennent chez les femmes pendant la phase lutéale, c'est-à-dire la période qui suit l'ovulation et précède les menstruations.

Les symptômes les plus courants du syndrome prémenstruel (SPM) sont :

Symptômes physiques :

- Douleurs abdominales et crampes.
- Sensibilité et douleur au niveau des seins.
- Ballonnements, gonflement ou prise de poids.

- Maux de tête ou migraines.
- Fatigue et faiblesse.
- Insomnie ou sommeil excessif.
- Acné ou autres problèmes de peau.
- Diminution de la libido.

Symptômes émotionnels :

- Changements d'humeur, tels que l'irritabilité, l'anxiété, la dépression ou la colère.
- Changements dans les habitudes alimentaires ou dans l'appétit.
- Problèmes de concentration ou de mémoire.

Ces symptômes peuvent affecter la qualité de vie des femmes et varient en intensité et en durée (Zaafraane et al., 2007; Haenggi-Bally, 2007).

2.1.1. Physiopathologie

Le SPM peut résulter d'une augmentation de la perméabilité capillaire, qui cause un œdème tissulaire interstitiel dans plusieurs parties du corps, y compris les seins, l'abdomen et le cerveau (Courbiere, 2016).

2.1.2. Les causes du syndrome prémenstruel

Les causes du symptôme prémenstruel sont mentionnées dans le tableau suivant (Tableau 1).

Tableau 1: Les causes du symptôme prémenstruel (Comeau, 2000)

Facteurs hormonaux	<ul style="list-style-type: none"> . Excès d'œstrogènes. . Manque de progestérone. . Changement dans le rapport œstrogènes-progestérone . Perturbation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien . Excès de prolactine. . Sécrétion anormale de testostérone, de gonadotrophines, de corticostéroïdes. . Métabolisme anormal des prostaglandines. . Diminution de la production d'endorphines.
---------------------------	--

Facteurs nutritionnels	<ul style="list-style-type: none"> . Carence en vitamine B6. . Carence en magnésium. . Excès de sucres raffinés, de gras, de caféine et d'alcool.
Facteurs biochimiques	<ul style="list-style-type: none"> . Diminution de la sérotonine (neurotransmetteur).
Facteurs métaboliques	<ul style="list-style-type: none"> . Hypoglycémie. . Dysfonction thyroïdienne.
Facteurs génétiques	<ul style="list-style-type: none"> . Hérité.

2.2. Définition de la dysménorrhée

Les dysménorrhées sont des douleurs menstruelles qui peuvent être des crampes ou une douleur sourde et constante. Elles peuvent être accompagnées de symptômes tels que des céphalées, des nausées, une constipation ou une diarrhée. Chez certaines femmes, les douleurs sont suffisamment graves pour perturber les activités quotidiennes et entraîner l'absence de l'école ou du travail. De plus, la sensibilité à la douleur associée à la dysménorrhée peut augmenter le risque de douleurs chroniques à l'avenir (Pinkerton, 2023).

2.2.1 L'étiologie de la dysménorrhée

La dysménorrhée peut être divisée en deux types: essentielle ou organique, et primaire ou secondaire. La dysménorrhée essentielle est une pathologie spécifique caractérisée par une physiopathologie originale où l'hypersécrétion de prostaglandines endométriales joue un rôle majeur (Graesslin et al., 2004). D'un autre côté, la dysménorrhée secondaire est principalement causée par des affections gynécologiques sous-jacentes telles que l'endométriose, l'adénomyose, les myomes ou les polypes endométriaux. Cependant, d'autres facteurs tels qu'une intolérance à un dispositif intra-utérin ou une infection pelvienne chronique peuvent également en être la cause.

Une dysménorrhée primaire est presque toujours essentielle, tandis qu'une dysménorrhée secondaire est généralement organique (**Blondel, 2014**).

2.2.2. La physiopathologie

En ce qui concerne la dysménorrhée essentielle, la douleur pendant les règles est due à l'hypoxie tissulaire causée par l'hyper contractilité du myomètre et la vasoconstriction de ses artéioles. Les prostaglandines, l'arginine vasopressine et les leucotriènes sont trois familles d'agents utérotoniques et vasoconstricteurs impliqués dans cette pathologie, les prostaglandines jouant un rôle majeur dans 80 à 90% des cas (**Adham, 2007**). L'hypoxie tissulaire libère des substances nociceptives qui vont agir au niveau des terminaisons nerveuses (**Blondel, 2014**).

Les prostaglandines (PG) ont une action directe algogène sur les fibres nerveuses sensibles, même si leur seuil de sensibilité aux stimuli nociceptifs est diminué. L'excès de production de PG utérines lors de la desquamation de l'endomètre est principalement responsable de la pathogenèse d'une dysménorrhée primaire. Cette surproduction induit des contractions utérines importantes qui provoquent une douleur ischémique. Les phospholipides de l'endomètre sont convertis en PG (PGE₂, PGF₂ α , thromboxane A₂ et prostacyclin (PGI₂)) après l'intervention de plusieurs enzymes spécifiques (**Mach et al., 2021**).

Au cours du cycle menstruel, l'endomètre synthétise des quantités variables de prostaglandines (PG). La diminution des taux de progestérone à la fin de la phase lutéale provoque la libération de phospholipases A₂ qui permettent de produire de plus grandes quantités d'acide arachidonique, entraînant ainsi une augmentation de la production de PG. Les deux types de PG impliqués dans la pathogenèse de la dysménorrhée primaire sont PGE₂ et PGF₂. Alors que la PGE₂ peut entraîner une contraction ou une relaxation du myomètre, la PGF₂ provoque toujours une vasoconstriction importante des vaisseaux sanguins utérins ainsi que des contractions du myomètre. En outre, la PGF₂ α abaisse le seuil de perception de la douleur en sensibilisant les terminaisons nerveuses (**Mach et al., 2021**). (**Figure 2**)

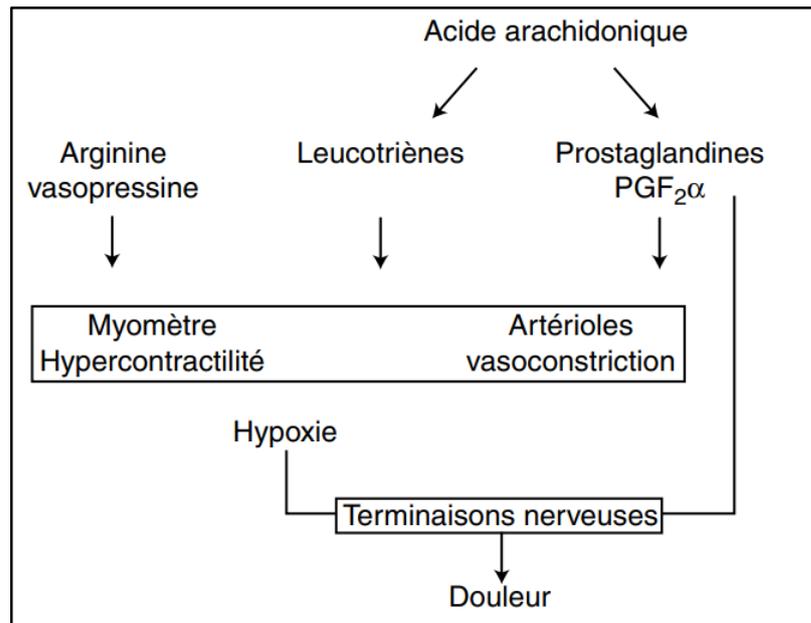


Figure 2: Physiopathologie (Graesslin et al., 2004)

2.3. Le traitement

Antalgiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (qui inhibent la synthèse de prostaglandine en inhibant l'activité de la cyclooxygénase): Afin de soulager ponctuellement la douleur des règles (Nicolas, 2010).

La thermothérapie (L'application d'une source de chaleur) : est une méthode traditionnelle de traitement à domicile pour la dysménorrhée (Proctor et Farquhar, 2006).

La phytothérapie : Certaines plantes présentent un effet anti-inflammatoire et spasmolytique, mais ont également une action sur le mécanisme même de production des PG comme : le gattilier, L'armoise (Mach et al., 2021).

CHAPITRE 2

**La Phytothérapie et
ses Applications dans
la Gestion des
Troubles Menstruels**

Introduction :

La médecine traditionnelle a utilisé les propriétés des plantes médicinales depuis des millénaires. La phytothérapie consiste en l'utilisation de préparations à base de plantes pour traiter ou prévenir les maladies (**Colalto, 2017**). Selon l'OMS, jusqu'à 80 % de la population mondiale compte sur la médecine traditionnelle pour ses soins de santé (**Fintelmann et Weiss, 2004**).

La phytothérapie offre une approche holistique et naturelle pour atténuer les douleurs menstruelles, en capitalisant sur les vertus thérapeutiques des plantes et de leurs composés actifs (**Muthu et al, 2006**).

Les produits à base de plantes sont souvent utilisés comme alternative à la thérapie pharmacologique. Pour des affections gynécologiques telles que le syndrome prémenstruel et la dysménorrhée, de nombreuses femmes optent pour des remèdes à base de plantes afin d'atténuer ces symptômes (**Kenda et al, 2021**).

1. La phytothérapie

1.1. Définition de la phytothérapie

Le terme "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Chabrier, 2010**). Elle incarne l'art de la guérison par l'utilisation des plantes (**BEYRET, 2013**). Ainsi, elle peut être caractérisée comme une discipline allopathique visant à prévenir et traiter des problèmes fonctionnels et/ou pathologiques spécifiques au moyen de végétaux, de leurs composants ou de préparations à base de plantes (**Wichtl et Anton, 2003**).

I-2- Types de phytothérapie

On peut catégoriser la phytothérapie en deux types distincts :

I-2-1- La phytothérapie traditionnelle (classique)

La phytothérapie traditionnelle représente une forme de traitement substitutif qui vise à atténuer les manifestations symptomatiques d'une affection. Ses origines peuvent parfois être anciennes et elle repose sur l'utilisation des plantes conformément aux vertus découvertes par l'expérience. Les indications concernées sont les médicaments de première intention spécifiques à un avis pharmaceutique. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (**Radjah, 2020**).

I-2-2- La phytothérapie clinique (moderne)

C'est une approche médicale qui requiert une prise en compte globale du patient et de son environnement pour définir le traitement, ainsi qu'une évaluation clinique exhaustive. De nos jours, la phytothérapie repose sur les avancées scientifiques et les études des extraits actifs des plantes. Une fois ces composants identifiés, ils sont normalisés. Cette méthodologie mène à la création de phytomédicaments et, conformément à la réglementation nationale, leur mise sur le marché nécessite une autorisation. C'est ce qu'on appelle la pharmacognosie ou la biologie pharmaceutique (Monnier, 2002).

Pour progresser d'une phytothérapie traditionnelle sans contrôle vers une approche moderne, il est indispensable de mener des études approfondies et de s'appuyer sur des données scientifiques approuvées, tout en faisant intervenir des personnes agréées (Monnier, 2002).

I-3- Avantages de phytothérapie

La phytothérapie présente plusieurs avantages importants. Bien que la médecine moderne ait progressé, les plantes ont longtemps été utilisées pour traiter diverses affections. Aujourd'hui, avec la diminution de l'efficacité des antibiotiques face aux infections résistantes, les traitements à base de plantes regagnent en importance. La phytothérapie s'associe souvent aux traitements traditionnels et gagne en popularité dans l'Occident pour les maladies chroniques comme l'asthme et l'arthrite. En outre, étant mieux tolérée par l'organisme et évitant les effets secondaires courants des médicaments chimiques, elle peut potentiellement réduire les hospitalisations liées à ces effets indésirables, qui affectent 10 à 20% des cas (Iserin, 2001).

1.4. Limites et risque de la phytothérapie

1.4.1. Toxicité intrinsèque des plantes

L'utilisation normale des plantes médicinales peut entraîner des effets secondaires indésirables. Dans certains cas, cela peut même causer des intoxications. Parfois, des substances non végétales contaminent les plantes ou les produits à base de plantes, présentant ainsi des risques pour la santé (Christophe, 2014).

1.4.1.1. Effets indésirables

Les effets indésirables induits par les plantes médicinales sont rares.

En 2013, Posadzki et al. ont analysé 50 revues systématiques portant sur 50 plantes médicinales distinctes pour évaluer leurs effets indésirables. La plupart de ces plantes ont été associées à des effets indésirables mineurs à modérés. Ces effets comprennent des réactions allergiques, des réactions cutanées comme la photosensibilisation, ainsi que des atteintes à divers organes tels que le tractus gastro-intestinal, le foie, les reins, le cœur et le système nerveux central (**Posadzki et al, 2013**).

1.4.2. Risque d'interactions entre plantes médicinales et médicaments

Contrairement aux médicaments synthétiques, les plantes médicinales contiennent plusieurs principes actifs, augmentant le risque potentiel d'interactions avec d'autres médicaments. Les interactions entre plantes et médicaments peuvent être plus fréquentes et moins comprises que les interactions entre médicaments seuls. Des cas et des études ont signalé diverses interactions, même si la causalité n'est pas toujours claire. Ce risque est plus élevé chez les personnes âgées prenant plusieurs médicaments. Les interactions peuvent être de nature pharmacocinétique (affectant l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion) ou pharmacodynamique (influençant les effets pharmacologiques) (**Hussain, 2011**).

1.5. Indications de la phytothérapie

Les extraits de plantes peuvent être utilisés comme médicaments traditionnels pour des problèmes majeurs. En phytothérapie, les plantes médicinales traitent des affections moins graves et sont de plus en plus liées au bien-être. Les domaines de la phytothérapie incluent des troubles digestifs légers, des problèmes hépatiques modérés, des désordres intestinaux mineurs, des problèmes veineux, cholestérol élevé, états grippaux, troubles du sommeil, stress, fatigue, douleurs articulaires légères, troubles urinaires, et d'autres soucis féminins (les douleur menstruelles, le syndrome prémenstruel, cycles irréguliers) (**Botineau, 2011**).

2. Les plantes médicinales

2.1. Définition

Les plantes médicinales sont des espèces végétales qui possèdent des propriétés thérapeutiques. Ces traitements naturels à base de plantes peuvent souvent être plus économiques, efficaces et sûrs que de nombreux médicaments, car ils ont moins d'effets secondaires, une plante médicinale peut être sous différentes formes telles qu'un arbre, un buisson, un champignon, un légume, une racine ou une algue(**BoustaL et Ennabili, 2011**).

D'après la définition de la Pharmacopée Française : Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent au moins une partie qui a des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Limonier, 2018**).

L'appellation de plante médicinale est pertinente dans le domaine pharmaceutique, car une grande proportion des médicaments actuellement utilisés sont dérivés de plantes, que ce soit par la reproduction de la molécule active "naturelle" à travers la semi-synthèse, ou par son extraction. Il n'est donc pas surprenant que plus d'un tiers des médicaments allopathiques couramment utilisés soient originaires de plantes médicinales (**Berthoud et al, 2016**).

2.2. Éléments actifs des plantes médicinales

La majorité des espèces végétales présentes à travers le monde possèdent des propriétés thérapeutiques grâce à la présence de principes actifs agissant directement sur le corps. Elles sont utilisées à la fois dans la médecine conventionnelle et la phytothérapie, offrant des avantages souvent absents dans les médicaments traditionnels (**Iserin, 2001**).

2.2.1. Les principes actifs

Le principe actif représente une molécule présente dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale, et il est utilisé dans le processus de synthèse des médicaments (**Herbinet, 2004**), ces molécules présentent un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal (**Pelt, 1980**).

2.2.2. Métabolites secondaires

Les plantes contiennent des métabolites primaires (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), qui sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, elles produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont des métabolites secondaires. Les métabolites secondaires peuvent être perçus comme des éléments indirectement essentiels à la survie des plantes, et qui participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, insectes nocifs, variation de la température...) (**Manchado et Cheynier, 2006**).

Cette fonction physiologique est importante, non seulement en raison de leur rôle dans la plante, mais elle constitue une source substantielle de molécules exploitables par

l'homme dans des différents domaines tels que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al., 2005).

Parmi les métabolites secondaires produits par les plantes, on peut citer :les flavonoïdes ,les tanins, les saponosides,les coumarines, les alcaloïdes, les terpènes.

2.3. Formes d'utilisation des plantes médicinales

En phytothérapie, les plantes médicinales peuvent être utilisées en vrac ou sous forme de préparations galéniques(Lacoste, 2021).

2.3.1. Plantes en vrac

Les plantes sous forme de vrac, qu'elles soient fraîches ou sèches, sont utilisées pour créer des infusions (Lacoste, 2021) . Les différentes méthodes pour préparer ces infusions sont expliquées dans le tableau ci-dessous (Tableau 2).

Tableau 2: Modes d'obtention des tisanes.

Type de procédé	Mode opératoire
Infusion	verser de l'eau bouillante sur les plantes au moment de l'ébullition, puis à couvrir et laisser infuser (10 minutes à 1 heure selon la plante).
Décoction	faire bouillir de l'eau avec les plantes pendant 10 minutes à une demi-heure, selon les plantes utilisées.

Macération	laisser les plantes tremper dans un liquide (eau, alcool, huile, miel, vinaigre, etc.) pendant au moins 15 jours. Les préparations résultantes sont un peu plus complexes mais ont une durée de conservation plus longue, assurant une disponibilité constante.
------------	---

2.3.2. Formes galéniques

En phytothérapie, différentes formes galéniques sont utilisées, notamment les poudres, les extraits, les teintures, les alcoolatures, les alcoolats, les macérats glycinés et les suspensions intégrales de plantes fraîches (**Christophe, 2014**). Les différentes formes galéniques de phytothérapie sont présentées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3**).

Tableau 3: Les différentes formes galéniques de phytothérapie (Limonier, 2018)

Présentation	Formes galéniques
Formes solides	<ul style="list-style-type: none"> ● gélules ● comprimés
Formes liquides	<ul style="list-style-type: none"> ● Extraits fluides ● Teintures, alcoolatures, alcoolats ● Teinture mère ● SIPF (Suspensions Intégrales de Plantes Fraîches) ● Macérats glycinés ● Digestes huileux et huiles infusées ● Sirops, eau distillée, élixirs floraux ● Huiles essentielles

Formes destinées à l'usage externe	<ul style="list-style-type: none">● Pommades● Liniments● Gel● Décoction, tisane● Huile essentielle
------------------------------------	--

- Les poudres proviennent de plantes séchées et sont utilisées pour créer des teintures, des gélules ou des comprimés.
- Les extraits végétaux comprennent des préparations liquides (extraits fluides et teintures), semi-solides (extraits mous, fermes et oléorésines) ou solides (extraits secs) obtenus à partir de plantes sèches, principalement en utilisant de l'éthanol ou un mélange d'eau et d'éthanol.
- Les teintures sont obtenues en dissolvant des plantes sèches dans de l'éthanol, tandis que les alcoolatures (ou teintures mères) sont élaborées en utilisant de l'éthanol sur des plantes fraîches.
- Les alcoolats sont produits en distillant de l'éthanol avec des substances aromatiques.
- Les macérats glycinés sont fabriqués à partir de tissus végétaux frais broyés tels que les bourgeons, les jeunes pousses et les racines fines, qui sont ensuite macérés dans un mélange d'eau, d'éthanol et de glycérine.
- Les suspensions intégrales de plantes fraîches sont créées en congelant les plantes dans de l'azote liquide moins de 24 heures après la récolte. Ensuite, les plantes sont finement broyées et mises en suspension dans de l'éthanol à 30 °C. Cette méthode permet de préserver tous les principes actifs des plantes (**Christophe, 2014**).

2.4. Les plantes médicinales utilisées pour traiter les douleurs menstruelles

Certaines plantes présentent un effet anti-inflammatoire et spasmolytique, mais ont également une action sur le mécanisme même de production des prostaglandines (**Ferey, 2017**).

Voici quelques plantes dont les propriétés thérapeutiques sont utilisées pour apaiser les douleurs menstruelles ou traiter les inconforts associés aux règles :

- Le gattilier (*Vitex agnus castus. L*) est une plante peu connue, traditionnellement utilisée par les herboristes pour diverses affections et agit en tant que régulateur

hormonal. Sa propriété lutéotrope lui confère une efficacité dans le soulagement des symptômes associés au cycle menstruel (**Claire, 2018**).

- L'armoise (*Artemisia vulgaris*, sommités fleuries) est recommandée dans les troubles du cycle menstruel, en particulier en raison de sa teneur en phytostérols qui agissent sur la régulation des récepteurs aux œstrogènes (**Mach et al, 2021**).
- L'onagre (*Oenothera biennis*) est une plante bisannuelle, originaire d'Amérique du Nord et appartenant à la famille des Onagraceae, est particulièrement prisée en médecine naturelle pour son efficacité accrue dans le traitement des mastoses, du syndrome prémenstruel et des problèmes liés à une hyperprolactinémie (**Schnebelen, 2006**).
- La racine de gingembre est une épice ancienne, agit comme un agent anti-inflammatoire grâce à ses composés actifs, le Gingérol et les Gingerol, qui régulent les enzymes cyclo-oxygénase et lipoxygénase. Cette régulation induit une réduction similaire à l'acide méfénamique de l'intensité de la dysménorrhée, avec des effets anti-prostaglandines (**Shirvani et al, 2014**).
- La sauge (*Salvia officinalis*, L) est une plante qui présente des caractéristiques antioxydantes, analgésiques et anti-inflammatoires grâce à ses composés polyphénoliques tels que l'acide rosmarinique et caféique, ainsi que des vitamines B et des terpènes. Son extrait est utile pour réduire l'impact du syndrome prémenstruel, agissant sur les aspects physiques et émotionnels (**Abd Nezhad et al, 2018**).
- La bourrache (*Borago officinalis*, L) est une plante originaire du Proche-Orient, appartenant à la famille des Boraginaceae, est reconnue pour son action inhibitrice sur les hormones FSH-LH ainsi que sa capacité à réguler les niveaux d'œstrogènes, de progestérone et d'androgènes gonadiques. Dotée de propriétés antiallergiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et antiseptiques, elle apporte un bénéfice particulièrement appréciable pour atténuer la dysménorrhée et soulager les symptômes du syndrome prémenstruel (SPM) (**Hedayat et Lapraz, 2009**).

Trois de ces plantes citées : le gattilier, la bourrache et l'onagre font l'objet d'étude dans notre recherche.

3. Les plantes étudiées

3.1. *Vitex agnus castus*. L

3.1.1. Généralités

Vitex agnus castus L. appartient au genre *Vitex* qui est le plus grand genre de la famille des *Verbenaceae* comprenant 250 espèces réparties dans le monde entier (**Sheng-Hong et al, 2002**). L'espèce *Vitex agnus-castus* L. (VAC), initialement classée phylogénétiquement dans la famille des *Verbenaceae* mais maintenant est placée dans la famille des *Lamiacées* (**Chantaranothai, 2011**). l'une de ces espèces utilisées en médecine est *V. agnus castus* Linn. (**Rani et Sharma, 2013**).

3.1.2. Composition chimique

Vitex agnus-castus L est principalement constitué de terpènes (y compris l'huile essentielle, les iridoïdes et les diterpènes) ainsi que de composés phénoliques tels que les phénols, les flavonoïdes et les tanins, accompagnés d'autres composés présents en moindre quantité (**Tracy et Kingston, 2007**), des études ont également signalé la présence d'acide linoléique dans ce fruit, qui a été identifié comme un composé ayant des propriétés œstrogéniques (**Masateru ONO et al , 2011**) (tableau 4).

Tableau 4: Les principaux constituants chimiques de *Vitex agnus-castus*.

Famille de constituants	Constituants individuels
Iridoïde	Agnuside (0,6 %), eurostoside, aucuboside (Kuruüzüm-Uz et al, 2003; Claire, 2018)
Flavonoïdes	<p>1) Non glycosylés : lutéoline, 6-hydroxykaempférol, isorhamnétine</p> <p>2) Non glycosylés polyméthoxylés : casticine (0,02–2,0 %) 5- hydroxy-3,4',6,7-tétraméthoxyflavone, pendulétine, chrysosplénol D</p> <p>3) Glycosylés : glucosyl-7-lutéoline, C-glucosyl-6-apigénol, C-glycosyl-8-apigénol, homoorientine, isoorientine (lutéoline 6-C-glycoside), chrysosplénétine, cynaroside</p> <p>(Hirobe et al, 1997; Hajdú et al, 2007; Aissaoui H et al, 2016).</p>

Diterpènes	Rotundifurane (0,04–0,3 %), clérodadiénols, vitexilactone (Hoberg E et al, 1999)(Hajdú Z et al, 2007).
Huile essentielle (0,8–1,8 %)	Sabinène (1,64–44,1 %), 1,8-cinéole (8,4–15,2 %), α -pinène (1–23 %), β -caryophyllène (2,1–5,0 %) et trans- β -farnésène (5,0–11,7 %), p-cymène, limonène (Maleset al, 1998)(Stojkovic et al, 2011)(Habbab et al., 2016).
Divers	Acides gras, tanins, acides phénols (Tracy et Kingston, 2007).

3.1.3. Propriétés et utilisations

Vitex agnus-castus L, en raison de sa composition, pourrait être considéré comme une alternative à certains traitements (**Claire, 2018**). Des études pharmacologiques précédentes menées sur diverses espèces de *Vitex* ont révélé son efficacité pour le traitement de diverses affections. Cela a rendu le *Vitex* populaire dans les domaines de la phytochimie et de l'ethnobotanique (**Nyiligira et al., 2008**).

Cette plante ayant été utilisée à des fins médicinales grâce à ses baies de fruit et feuilles séchées. Plus précisément, la partie médicinale du *Vitex agnus-castus* est son fruit (**Daniele et al, 2005**).

Depuis de nombreuses années, on suggère que cette plante pourrait être efficace dans le traitement de certains troubles gynécologiques, notamment le syndrome prémenstruel (**Verkaik et al, 2017**).

3.1.3.1. Utilisations traditionnelles

Vitex a une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections, notamment la dépression, les maladies vénériennes, le paludisme, l'asthme, les allergies, les plaies, les problèmes dermatologiques, les morsures de serpent et les douleurs corporelles(**Nyiligira et al, 2008**). Depuis plus de 2500 ans, les fruits du gattilier ont été utilisés dans l'Égypte ancienne, la Grèce, l'Iran et Rome pour traiter divers problèmes gynécologiques. De plus, ils ont également été employés en raison de leur réputation de réduire la libido (**Roemheld- Hamm, 2005**).

3.1.3.2. Utilisations actuelles

V. agnus-castus est actuellement largement utilisé en médecine alternative et complémentaire pour traiter le syndrome prémenstruel (SPM) aux États-Unis (**Weisz et Knaapen, 2009**). Son efficacité et sa sécurité dans le soulagement des symptômes du SPM ont été validées par l'Agence européenne des médicaments et les autorités sanitaires allemandes (**Girman et al, 2003; Mari et al, 2015**). De plus, des essais contrôlés et randomisés récents ont corroboré ces bienfaits en démontrant que *V. agnus-castus* est efficace et bien toléré pour atténuer les symptômes du SPM, notamment les cycles menstruels anormaux, l'aménorrhée, la mastodynie, l'œdème et les maux de tête (**Lauritzen et al, 1997; Atmaca et al, 2003**).

V. agnus-castus n'est pas incorporé dans l'alimentation et son usage n'est pas conseillé pour les enfants, les femmes enceintes ou celles qui allaitent. Il est recommandé d'éviter l'utilisation de *V. agnus-castus* chez les patients prenant des hormones sexuelles exogènes, notamment les contraceptifs oraux, en raison de son possible impact sur la prolactine, pouvant contrevenir à l'efficacité des pilules contraceptives (**Tracy et Kingston, 2007**).

3.1.3.3. Propriétés pharmacologiques

L'Agneau-Chaste (*Vitex agnus-castus*) a plusieurs actions pharmacologiques : il agit en tant que sédatif et agoniste dopaminergique, ce qui inhibe la production de prolactine tout en ayant des propriétés α -sympatholytiques. Il modifie les fonctions endocriniennes, inhibant la production générale des hormones hypothalamiques et hypophysaires, réduisant la FSH gonadique et affectant l'absorption des œstrogènes. En outre, il diminue la testostérone sérique, favorisant la progestérone, tout en modifiant le rapport T4/T3 thyroïdien. À des doses différentes, il influence la prolactine et son métabolisme. Il agit également comme antispasmodique utérin et régulateur du cycle menstruel, possède des propriétés dermatologiques et anticancéreuses, et peut être utilisé pour traiter diverses affections telles que le syndrome prémenstruel, la mastodynie, les fibromes, le syndrome des ovaires polykystiques, l'hyperplasie de l'endomètre, la ménorragie et l'insomnie. (**Carmichael, 2007; Wuttke, 2003; Kanodia et Swarnamoni, 2008**).

3.1.3.3.1. Action hormonale

A. Action sur la prolactine

Des preuves variées suggèrent que *V. agnus-castus* inhibe la sécrétion de prolactine par l'hypophyse. Une étude randomisée, contrôlée par placebo a examiné l'effet de *V. agnus-castus* sur la réserve de prolactine hypophysaire élevée. 52 femmes présentant des anomalies de la phase lutéale dues à une hyperprolactinémie ont participé à l'étude. L'intervention consistait à prendre de *V. agnus-castus* par jour ou un placebo pendant 3 mois. Les résultats ont montré que le groupe prenant *V. agnus-castus* a présenté une réduction significative de la libération de prolactine par rapport au groupe placebo après 3 mois (**Milewicz et al, 1993**).

B. Action sur FSH et LH

Il existe peu d'études humaines sur l'impact direct de *V. agnus-castus* sur les hormones lutéinisante (LH) et folliculo-stimulante (FSH) (**Tracy et Kingston, 2007**), et les recherches cliniques menées pour étudier les effets de *V. agnus-castus* sur les taux de FSH et de LH n'ont pas réussi à trouver de relation significative entre ces deux éléments (**Milewicz et al, 1993**).

C. Action oestrogénique et progestative

L'extrait méthanolique de fruits de *V. agnus-castus* démontre des effets significatifs, notamment grâce à ses composants actifs tels que l'acide linoléique et l'apigénine. Par ailleurs, des études sur des rats ovariectomisés ont également révélé que l'extrait éthanolique de fruits améliore l'apprentissage et la mémoire (**Niroumand et al, 2018**).

V. agnus-castus a démontré une amélioration de certains processus de vieillissement dans le système reproducteur des souris femelles. En raison de ses propriétés anti-âge observées, *Vitex* pourrait être pertinent pour atténuer certains problèmes liés au vieillissement, tels que le stress oxydatif, le déséquilibre des hormones LH et FSH, ainsi que l'atrophie de l'endomètre (**Ahangarpour et al, 2016**).

3.1.3.3.2. Effets sur le syndrome prémenstruel et dysménorrhée

Plusieurs études ont évalué l'effet de *V. agnus-castus* sur le syndrome prémenstruel (SPM), une étude avec 1634 patientes a montré que l'extrait de *V. agnus-castus* réduisait les symptômes du SPM chez 93 % des patientes (**Loch et al, 2000**). Des essais ont confirmé l'efficacité de *V. agnus-castus* à 20 mg sur les symptômes liés au SPM (**Berger et al, 2000**). Une autre étude a montré que l'extrait de *V. agnus-castus* réduisait les symptômes physiques et psychologiques du SPM par rapport au placebo (**Huddleston et Jackson, 2001**). Des effets

similaires ont été observés dans des études sur les maux de tête, l'irritabilité et les fringales (Ma L et al, 2010; Zamani, 2012).

Une étude comparant la fluoxétine (un inhibiteur de recapture de la sérotonine) à l'extrait de *Vitex agnus castus* a montré que les deux étaient efficaces pour le trouble dysphorique prémenstruel (TDPM). Les pourcentages de réponse étaient similaires pour les deux traitements, mais la fluoxétine était plus efficace pour les symptômes psychologiques, tandis que l'extrait de *Vitex* atténuait les symptômes physiques (Atmaca et al, 2003).

3.1.3.3.3. Effets sur la mastalgie

Une étude comparant *V. agnus-castus* à la bromocriptine pour la mastalgie cyclique et l'hyperprolactinémie légère a révélé une réduction significative des niveaux de prolactine dans les deux groupes après un traitement de 3 mois . Aucun effet indésirable n'a été observé avec *V. agnus-castus*, tandis que 12,5% des patients sous bromocriptine ont présenté des nausées et des vomissements. Les résultats indiquent que *V. agnus-castus* agit de manière similaire à la bromocriptine en réduisant la prolactine et en atténuant les douleurs mammaires, avec une meilleure tolérance et aucun effet indésirable (Kilicdag et al, 2004).

3.1.3.3.4. Effets sur les troubles de la fertilité

Dans une étude de 3 mois sur 93 femmes ayant des problèmes de fécondité, le mélange à base de plantes, contenant *V. agnus-castus*, a montré une amélioration significative des paramètres de fertilité par rapport au placebo. La progestérone mi-lutéale a augmenté, les températures basales de la phase lutéale ont été normalisées et 26 % des femmes du groupe ayant pris le mélange à base de *vitex agnus-castus* sont devenues enceintes, comparé à 10 % dans le groupe placebo (Westphal et al, 2006).

3.2 .*Oenothera biennis* (Oenotheraceae ou Onagraceae)

3.2.1. Généralité

Oenothera biennis (*Oenothera* L.) est une plante de la famille des Onagracées, avec environ 145 espèces dans le genre *Oenothera* L. Elle pousse dans les zones climatiques tempérées et tropicales d'Amérique du Nord et du Sud. Certaines espèces se sont adaptées à l'Europe, où environ 70 espèces sont présentes. La plus répandue est *Oenothera biennis*, qui possède la meilleure activité biologique étudiée. Des recherches sont en cours pour comprendre la composition chimique de la plante et son lien avec ses propriétés bénéfiques

pour traiter diverses maladies. Ces recherches se concentrent principalement sur les extraits des différentes parties de la plante (feuilles, tiges et graines) (Timoszuk et al., 2018).

3.2.2. Principaux constituants actifs

Oenothera biennis est élevée pour ses graines, ses feuilles, ses fleurs, et même ses racines charnues et rougeâtres. Pour produire de l'huile, les graines sont utilisées.

La graine présente une composition diversifiée, comprenant 15 % de protéines, 24 % d'huile, 40 % de fibres (cellulose et lignine), des phytostérols tels que le stigmastérol et le bêta-sitostérol, ainsi que des lectines. De plus, l'analyse minérale révèle une concentration notable en calcium. L'huile extraite à froid à partir des graines révèle une composition riche et variée en acides gras. On y retrouve environ 7 à 10 % d'acide palmitique, de 1,5 à 3,5 % d'acide stéarique, de 6 à 11 % d'acide oléique, de 65 à 80 % d'acide linoléique, et enfin de 8 à 14 % d'acide gamma-linolénique (Schnebelen, 2006).

Tableau 5: Les principaux constituants de la graine d'*Oenothera biennis* (Ghedira et al., 2011)

Famille de constituants	Constituants chimiques
-------------------------	------------------------

<p>Huile : 14–25 % (obtenue par pression à froid des graines séchées)</p>	<p>Acides gras essentiels Acide palmitique : 4–10 % Acide stéarique : 1–4 % Acide oléique : 5–12 % Acide arachidonique : 0,3 % Acide gadoléique : 0,1 % Acides gras oméga-6 Acide cis-linoléique : 65–85 % Acide cis-gammalinoléique : 7–14 %</p>
<p>Protéines : 15 %</p>	
<p>(Phyto)stérols</p>	<p>Cholestérol, brassicastérol, stigmastérol, bêtasitostérol (85 %)</p>
<p>Flavonoïdes</p>	<p>Catéchol, épicatechol</p>
<p>Esters d'acides triterpéniques</p>	<p>Acide bétulinique, acide oléanique</p>
<p>Polyphénols</p>	<p>Acide gallique, gallate d'épicatechol</p>
<p>Tanins hydrolysables</p>	<p>Oenothéine</p>
<p>Autres constituants</p>	<p>Mucilages, sucres Cellulose, lignine Lectines Résine Calcium Tocophérol</p>

3.2.3. Propriétés pharmacologiques

L'huile d'*Oenothera biennis* (HO) présente des propriétés anti-inflammatoires grâce à ses esters d'acides triterpéniques. Ces esters agissent en capturant les radicaux libres et en inhibant la cyclo-oxygénase (**Knorr et Hamburger, 2004; Zaugg et al., 2006**). Cet effet anti-inflammatoire se manifeste également par voie orale : les patients qui consomment de

l'HO constatent une amélioration des lésions cutanées et une augmentation de l'acide dihomogamma linoléique, qui est un précurseur de la prostaglandine E1 (PGE1) (Yoshimoto et al., 1999). De plus, lorsqu'elle est utilisée en application externe sous forme d'émulsion huile/eau, *Oenothera biennis* a démontré des effets bénéfiques pour l'eczéma atopique (Matsuo et al., 1996).

Lorsque l'acide gamma-linolénique, présent dans l'huile d'*Oenothera biennis*, est administré aux rats mâles, cela entraîne une augmentation des niveaux d'immunoglobulines IgG et IgE, qui sont des composants importants du système immunitaire (Dirks J, 1998). L'acide gamma-linolénique provenant de cette huile renforce le fonctionnement du système immunitaire en influençant des éléments tels que l'interféron gamma et une protéine chimiotactique appelée protéine-1 des monocytes (Ziboh, 1997).

L'huile d'*Oenothera biennis* a montré des effets anticancéreux chez les rats en inhibant la formation de papillomes, des excroissances cutanées associées au cancer (Ramesh et Das, 1998). Chez les souris, une alimentation contenant cette huile a ralenti la croissance de la plupart des adénocarcinomes mammaires. Ces résultats suggèrent que prendre cette huile de manière préventive pourrait être bénéfique contre certains types de cancer (Munoz et al., 1999)

3.2.4. Effets Thérapeutiques de l'Huile d'*Oenothera biennis* et de l'Acide Gamma-linolénique sur le syndrome Prémenstruel et la Régulation Hormonale chez les Femmes

Certaines plantes présentent un effet anti-inflammatoire et spasmolytique, mais ont également une action sur le mécanisme même de production des PG. Parmi ces plantes les graines d'*Oenothera biennis* qui subissent un processus d'extraction par pression à froid pour produire une huile riche en oméga-6 et en acides gras, notamment l'acide gamma-linolénique, reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires. Cette huile contribue à réguler diverses fonctions hormonales et est précieuse pour atténuer les crampes abdominales et les ballonnements résultant de la rétention d'eau (Mach et al., 2021)

Plusieurs recherches cliniques issues d'une revue de quatre études (dont trois avec un modèle de croisement) ont examiné les effets de l'huile extraite de la plante *Oenothera biennis* sur le syndrome prémenstruel (SPM). Certaines de ces études ont révélé des améliorations des symptômes du SPM suite à l'utilisation de cette huile. Par exemple, une

étude a montré une réduction de 60% des symptômes du SPM chez les femmes prenant cette huile, comparativement à 40% chez celles du groupe placebo. Une autre étude a également indiqué que l'huile pouvait atténuer des symptômes tels que l'irritabilité, la dépression et les douleurs mammaires (**WHO, 2002**).

L'huile d'onagre est souvent vantée pour ses avantages pour la santé féminine, en raison de sa richesse en acide gamma-linoléique (AGL), un oméga-6. Les études montrent des résultats variés, mais en général, l'huile d'onagre semble améliorer les symptômes du syndrome prémenstruel (SPM). Des essais de trois mois avec 1,5 g/j ont réduit la sévérité des symptômes du SPM par rapport au placebo. Des durées d'utilisation de six à douze mois, parfois combinées avec de la vitamine E, ont également montré des bénéfices. L'huile d'onagre pourrait être particulièrement efficace contre la mastalgie cyclique. Une carence en AGL peut rendre les tissus mammaires plus sensibles aux hormones féminines, provoquant douleurs et tension. Une étude a comparé l'efficacité de 500 mg d'huile d'*Oenothera biennis* deux fois par jour à celle du danazol, un médicament pour réduire les douleurs mammaires, montrant des résultats similaires. Les effets secondaires étaient moins fréquents avec l'huile d'onagre qu'avec le danazol (**Novokowsky, 2020**).

3.3. Borago officinalis L:

3.3.1. Généralités

Borago officinalis, également connue sous le nom de starflower, est une plante annuelle appartenant à la famille des Boraginacées. Elle est originaire des régions méditerranéennes (**Asadi-Samani et al, 2014**). La famille des Boraginacées comprend environ 100 genres et regroupe 2000 espèces d'arbustes, d'arbres, de plantes herbacées et de lianes. Ces plantes sont réparties dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées sur les cinq continents. Elles sont prisées pour leur utilisation comme plantes ornementales et en raison de leurs propriétés médicinales(**Evans, 2009**).

3.3.2. Principaux constituants actifs

Borago officinalis renferme environ 11 % de mucilage, lorsqu'il est hydrolysé, il produit le glucose, le galactose et l'arabinose. D'autres constituants de cette plante comprennent l'allantoïne, des tanins (pouvant aller jusqu'à 3 %), de l'acide silicique, ainsi que des acides et du nitrate de potassium (**Smet, 1993**).

L'extraction des graines est réalisée par pression à froid, produisant une huile qui représente de 13 % à 33 % du contenu. Cette huile est principalement constituée de glycérides d'acides gras insaturés. Plus précisément, elle contient une proportion significative d'acide oléique (17 % à 19 %), classé parmi les acides gras oméga-9, ainsi que d'acide linoléique (37 % à 39 %). L'huile contient également des acides gras saturés, tels que l'acide palmitique (9 % à 12 %) et l'acide stéarique (3 % à 4 %) (**Smet, 1993; Rachel et al., 2010; Schnebelen, 2006**).

L'huile de graines de *Borago officinalis* est l'une des sources végétales les plus riches en acides gras oméga-6, sous la forme de l'acide gamma-linolénique (GLA), avec une proportion élevée allant de 30 % à 40 %. L'acide GLA est fréquemment utilisé comme complément alimentaire et en prescription pharmaceutique pour diverses affections, dont les maladies cardiaques, le diabète, l'anémie, les douleurs menstruelles et en tant qu'antipyrétique (**Yaghmour, 2021; Dolores et al., 2016**).

L'huile extraite des graines de *Borago officinalis* renferme également des éléments secondaires qui jouent un rôle significatif. Parmi eux, on peut citer les tocophérols, l'acide phénolique, le δ -bornésitol, les stérols, les alcaloïdes de pyrrolizidine, les flavonoïdes de l'acide rosmarinus, les anthocyanines, les saponines, et les terpénoïdes insaturés. En effet, les tocophérols présentent également des propriétés antioxydantes, et les espèces de bourrache se distinguent par leurs niveaux élevés de δ -tocophérols. De plus, les composés phénoliques sont également présents dans les graines oléagineuses, et de nombreuses études ont démontré leurs qualités antioxydantes (**Yaghmour, 2021**).

3.3.4. Propriétés pharmacologiques

L'utilisation médicinale traditionnelle de *Borago officinalis* a été diverse. Les feuilles ont été transformées en infusions pour traiter des problèmes tels que la fièvre, la toux, les maux de gorge et même comme diurétique. Elles étaient utilisées sous forme de cataplasme pour apaiser l'inflammation et l'enflure, et d'expectorant. De plus, elles étaient utilisées pour soulager la dépression (**Shahidi, 2006**).

Actuellement, l'huile de *Borago officinalis* est mise en avant pour ses multiples bienfaits. Elle a été utilisée pour abaisser la pression sanguine, inhiber l'agrégation plaquettaire et améliorer le psoriasis. Elle est également reconnue pour améliorer l'eczéma

atopique et soulager la séborrhée infantile. Ses propriétés s'étendent même au contrôle de la douleur liée à l'arthrite. **(Kamyar, 2019)**

L'huile de *Borago officinalis* se distingue dans le traitement du syndrome prémenstruel et se révèle spécifique pour les phénomènes allergiques, ainsi que pour les problèmes cutanés et capillaires tels que les cheveux et les ongles. Elle joue un rôle essentiel dans la préservation de l'élasticité de l'épiderme, la réduction des rides et la lutte contre la déshydratation cutanée. Elle peut être transformée en solution oculaire à des fins de traitement. **(Schnebelen, 2006; Smet, 1993).**

3.3.5. Effets Thérapeutiques de l'Huile de *Borago officinalis* et de l'Acide Gamma-linolénique sur le cycle menstruel et la Régulation Hormonale chez les Femmes

Les crampes menstruelles représentent l'un des problèmes les plus fréquents que les femmes rencontrent, touchant en effet plus de 50% des femmes ayant leurs règles. Ces crampes peuvent aggraver par la consommation d'aliments riches en acide arachidonique. Cette substance grasse est utilisée par notre corps pour générer les prostaglandines de la série deux PGE2, qui ont des propriétés pro-inflammatoires et spasmodiques. Dans ce cas, ces prostaglandines peuvent engendrer des contractions utérines responsables des crampes menstruelles **(Hudson, 2006).**

Les suppléments les plus bénéfiques pour atténuer les crampes menstruelles sont ceux qui favorisent la production de prostaglandines antispasmodiques, notamment la série PGE1 et la série PGE3. Parmi ces suppléments, on peut citer l'huile de *Borago officinalis*, qui renferme des acides gras tels que l'acide linoléique et l'acide gamma-linolénique. Ces acides gras contribuent à la relaxation des muscles en stimulant la synthèse de ces prostaglandines (**Hudson, 2006**).

Pendant le cycle menstruel, il se produit une libération d'acides gras oméga-6, en particulier de l'acide arachidonique. Par la suite, cela conduit à une augmentation de la prostaglandine E2 (PGE2), ce qui provoque des contractions utérines engendrant un manque d'oxygène dans les muscles de l'utérus et entraînant ainsi des douleurs ultérieures. Les acides gras oméga-3 tels que l'EPA et le DHA entrent en compétition avec les acides gras oméga-6. Ils favorisent la production des séries PGE-1 et PGE-3, ce qui peut contribuer à atténuer les contractions utérines et potentiellement réduire la douleur **(Hudson, 2006).**

L'huile de *Borago officinalis*, en raison de sa richesse en acides gras LA et GLA, présente une approche positive pour influencer de manière bénéfique la production de prostaglandines. De plus, elle agit en inhibant les hormones FSH-LH et en maintenant un équilibre des niveaux d'œstrogènes, de progestérone et d'androgènes gonadiques. En outre, elle possède des propriétés antiallergiques et antioxydantes. Ces caractéristiques confèrent un avantage significatif pour atténuer les douleurs menstruelles (dysménorrhée) et soulager les symptômes du syndrome prémenstruel (SPM) (**Shahidi, 2006; Hedayat et Lapraz, 2019**).

MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes

La présente étude a pour objectif d'explorer les propriétés phytochimiques ainsi que les activités biologiques y compris la capacité antimicrobienne, l'effet anti-inflammatoire et la toxicité *in vivo* de trois plantes médicinales sélectionnées. Le travail pratique s'est déroulé durant la période allant du mois d'Avril au mois de Juillet 2023, au niveau des laboratoires suivants :

- Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour effectuer le screening phytochimique.
- Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine pour mener les tests de l'activité anti inflammatoire et antibactérienne.
- Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour évaluer l'activité antifongique.
- Animalerie (Biologie Animale), Campus Chaabat Rsas de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour effectuer les études de toxicité.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les graines de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* ont été sélectionnées. Ces plantes ont été retenues en raison de leurs bienfaits pour la santé féminine et de leurs utilisations traditionnelles.

Les échantillons de graines de *Vitex agnus-castus* et *Oenothera biennis* ont été acquis au mois d'Avril auprès de fournisseurs spécialisés dans l'herboristerie traditionnelle. En ce qui concerne *Borago officinalis*, elle a été récoltée à l'état frais à partir de campus de l'Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine, au mois de Mai. Suite à cette récolte, la plante a été séchée, préservée à l'ombre et à une température ambiante pendant 7 jours, puis stockée dans son état séché, à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Les trois plantes ont été écrasées en vue de leur utilisation dans notre étude (**Figure 3**).



(*Vitex agnus-castus*) (*Oenothera biennis*) (*Borago officinalis*)

Figure 3: Broyage des échantillons de plantes.

1.2. Les animaux

Les animaux utilisés pour l'évaluation de la toxicité aiguë des extraits *in vivo* sont des souris femelles de souche *Swiss Albinos* (**Figure 4**). Elles ont un poids initial compris entre 19 g et 33 g et ont été élevées dans l'animalerie du département de Biologie Animale de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'université frères Mentouri Constantine 1.

Les souris sont logées dans des cages en plastique ayant un couvercle en acier inoxydable où chaque cage regroupe 3 souris. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture « type d'aliment standard, fournie par l'Office National des Animaux du Bétail de Ain M'Lila (ONAB) ».

Avant leur utilisation, les souris subissent une période d'adaptation de deux semaines au niveau de l'animalerie. La litière utilisée est de la sciure renouvelée 3 fois par semaine pour garder le bon conditionnement hygiénique des souris.



Figure 4: Les souris femelles Swiss Albinos dans les cages .

1.3. Les souches microbiennes

Deux souches bactériennes ont été utilisées ; gram positif (*Staphylococcus aureus*) et gram négatif (*Escherichia coli*) fournies par le Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine.

Quatre souches fongiques ont été utilisées dans cette étude, composées de trois souches de moisissures : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium sp.*, et d'une souche de levure : *Candida albicans*, fournies par le laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

2.1.1. Préparation des extraits pour le screening phytochimique

- **Extraction par macération**

Deux procédés d'extraction ont été employés, à savoir l'extraction aqueuse et l'extraction hydro-méthanolique.

Pour l'extrait aqueux, 30 g de la poudre de chaque plante ont été mélangés avec de l'eau distillée et introduits dans un erlenmeyer, sous agitation continue pendant 24hrs.

Pour l'extrait hydro-méthanolique 30 g de poudre de chaque plante ont été mélangés avec 100 ml d'un mélange de solvant méthanol-eau (80:20; V/V) puis introduits dans un erlenmeyer.

- L'extraction est réalisée à température ambiante, à l'abri de la lumière, et avec agitation pendant une période de 24 heures afin de permettre une extraction optimale des composés solubles dans l'eau et le solvant.
- Le mélange a été soumis à une étape de filtration à l'aide d'un entonnoir et un papier filtre pour éliminer les particules solides et obtenir l'extrait clair.
- L'extrait filtré a été recueilli dans un récipient propre et étiqueté.

2.1.2. Préparation des extraits pour les testes *in vitro* et *in vivo*

2.1.2.1. Préparation des extraits hydro méthanoliques

Parmi les différentes techniques d'extraction, nous avons utilisé l'extraction par macération hydro- méthanolique 80%.

La préparation des extraits hydro-méthanolique pour chaque plante sont mentionnées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 6**).

Tableau 6: Préparation des extraits hydro-méthanolique pour chaque plante.

<p>Préparation d'extrait hydro-méthanolique de <i>Vitex agnus-castus</i></p>	<p>Une quantité de 100 g de poudre de la plante a été mise dans un bécher d'un litre, avec l'ajout de 500 ml d'un mélange de solvant méthanol-eau (80:20; V/V).</p>	
<p>Préparation d'extrait hydro-méthanolique d'<i>Oenothera biennis</i></p>	<p>Une quantité de 60g de poudre de la plante a été mise dans un bécher d'un litre, avec l'ajout de 500 ml d'un mélange de solvant méthanol-eau (80:20; V/V).</p>	
<p>Préparation d'extrait hydro-méthanolique de <i>Borago officinalis</i></p>	<p>60 g de poudre de la plante et 500 ml d'un mélange de solvant méthanol-eau (80:20; V/V) sont introduits dans le bécher de 1 litre.</p>	

L'extraction est réalisée à température ambiante, à l'abri de la lumière, et avec agitation pendant une période de 24 heures afin de permettre une extraction optimale des composés solubles dans le solvant.

Ensuite, l'étape suivante consiste en une filtration à l'aide d'un entonnoir et d'un papier filtre pour éliminer les particules solides et obtenir l'extrait clair.

2.1.2.2. Évaporation et Séchage des Extraits Hydro-Méthanoliques

Les extraits hydro-méthanoliques issus de chaque macération ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi R-210 à une température de 40°C pour éliminer les résidus de solvant. Une fois les extraits bruts secs obtenus par le processus d'évaporation ils ont été soigneusement raclés pour obtenir une substance concentrée. Ensuite, ils sont conservés dans un réfrigérateur à une température de 4 °C, à l'abri de la lumière, jusqu'à son utilisation.

2.2. Analyses phytochimiques de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

2.2.1. Analyse qualitative par le screening phytochimique

Le screening phytochimique est une série de tests simples sur les substances naturelles à base de plantes. Ce criblage permet de détecter la présence de produits appartenant à différentes classes de composés physiologiquement actifs appelés métabolites secondaires. Ce sont des tests préliminaires colorimétriques, de solubilité et de précipitations en vue de mettre en évidence la présence des grands groupes de métabolites secondaires. Dans ce travail, le screening phytochimique a été réalisé selon le protocole de **Cavé (1993)**.

2.2.1.1. Recherche des flavonoïdes

Dans un tube à essai, on mélange 2 ml de chaque extrait avec 0,5 ml d'HCL concentré et 0,5 g de tournure de magnésium. L'apparition d'une coloration rose/rouge au bout de 3 minutes révèle la présence des flavonoïdes.

2.2.1.2. Recherche des tanins

On peut détecter la présence de tanins en ajoutant quelques gouttes de FeCl₃ (1 %) à 1 ml de chaque extrait. Lorsqu'une coloration bleu-noire apparaît, cela indique la présence de

Matériel et méthodes

tanins galliques, tandis qu'une coloration verte/bleue témoigne de la présence de tanins catéchiques.

2.2.1.3. Recherche des alcaloïdes

On prépare un mélange de 5 ml de chaque extrait avec 1 ml d'une solution diluée d'H₂SO₄ (1/2). Deux tubes distincts sont préparés en utilisant deux réactifs différents : l'un est le réactif de Mayer et l'autre est le réactif de Wagner. Si une turbidité ou un précipité se forme après 15 minutes, indique la présence d'alcaloïdes.

2.2.1.4. Recherche des coumarines

Pour détecter la présence de coumarines, une quantité de 1 ml de chaque extrait est mélangée avec quelques gouttes d'eau distillée dans un tube à essai. Ensuite, un papier imbibé de NaOH dilué à 10 % est placé sur le dessus du tube qui est ensuite porté à ébullition. Si une fluorescence jaune apparaît sous une révélation UV à une longueur d'onde de 366 nm, cela indique la présence de coumarines.

2.2.1.5. Recherche des triterpènes

La détection des triterpènes a été réalisée en évaporant 5 ml des extraits, puis en les dissolvant dans un mélange d'anhydride acétique et de chloroforme (5/5 ; V/V). Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sont ajoutées. L'émergence d'une coloration verte indique la présence d'hétérosides stéroïdiques, tandis qu'une couleur verte violette révèle la présence des triterpènes.

2.2.1.6. Recherche des saponosides (test de la mousse)

Pour identifier les saponosides, 2 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 10 ml d'eau distillée. Le mélange a été porté à ébullition pendant 30 minutes. 10 tubes ont été préparés selon le tableau ci-dessous (**Tableau 7**).

Tableau 7: Volumes d'eau et d'extraits utilisés pour le test des saponosides.

Extrait (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L'eau (ml)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

Tous les tubes sont agités avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. nous mesurons la hauteur de la mousse durable dans le 10^{ème} tube.

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif.

2.2.1.7. Recherche des composés réducteurs

On a placé 1 ml de chaque extrait dans un tube, auquel on a ajouté 1 ml d'eau distillée. Ensuite, vingt gouttes de la liqueur de Fehling ont été introduites, et le mélange a été chauffé. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

2.3. Les activités biologiques

2.3.1. L'activité anti-inflammatoire de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

- **Principe de la réaction**

L'activité Anti-inflammatoire *in-vitro* est déterminée par la méthode de **Kandikattu K, (2013)** avec de légères modifications. Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits. Lorsque les extraits sont présents, ils empêchent cette dégradation. Cette dénaturation des protéines est liée aux maladies inflammatoires, et les extraits pourraient aider à éviter ce processus néfaste.

- **Préparation des extraits (solution mère) :**

Nous avons dissous 16 milligrammes d'extraits dans 1 ml d'eau distillée .

- **Préparation de la solution BSA 0,2 % :**

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de H₂O.

- **Préparation des Échantillons :**

Dans cette procédure expérimentale, trois tubes de réaction et un contrôle négatif sont préparés, chacun recevant 1 ml de solution mère. En parallèle, une série de tubes de dilution est préparée avec 0,5 ml d'eau distillée dans chacun. Ensuite, 0,5 ml du contenu de chaque tube de réaction initial sont transférés dans les tubes de dilution correspondants, y compris le contrôle négatif. Par la suite, 0,5 ml de BSA (Albumine Sérum Bovin) sont ajoutés à chaque tube de la série de dilution et au contrôle négatif, suivis de l'ajout d'eau distillée pour compléter le volume de chaque tube à 1 ml (**Figure 5**). Trois tubes du contrôle positif sont préparés individuellement.

Matériel et méthodes

Dans chaque tube, 0,5 ml de BSA (Albumine Sérum Bovin) est ajouté. Ensuite, 0,5 ml d'eau distillée est également introduit dans chaque tube (**Figure 6**).

Incubation à 37  C pendant 15 min, puis dans un bain marie à 72 C pendant 5 min. Après refroidissement, la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve .

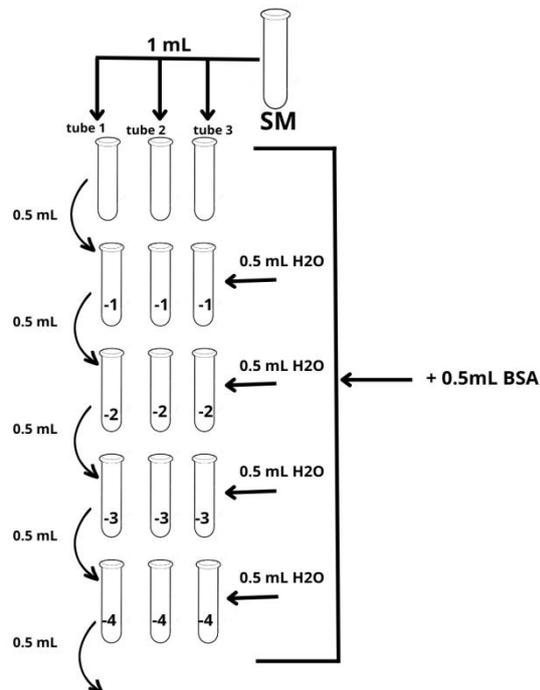


Figure 5: Etapes de préparation des échantillons .

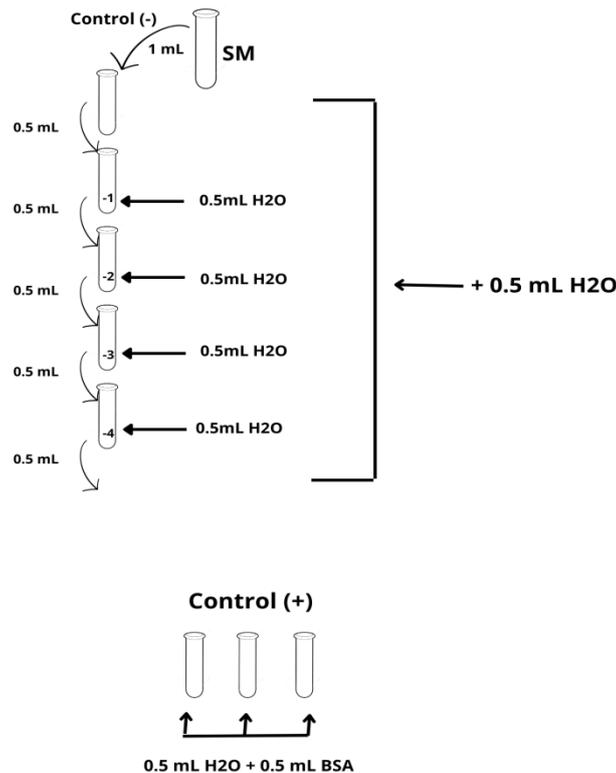


Figure 6: Étapes de préparation de blanc .

2.3.2. Activité antimicrobienne

2.3.2.1. Activité antifongique de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

L'Utilisation des plantes ou leurs extraits pourrait être une excellente solution pour résoudre les problèmes de résistance et de toxicité des antifongiques. Ainsi, l'objectif de cette recherche est d'apporter une contribution à l'étude des propriétés antifongiques des extraits méthanoliques provenant du *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*.

L'activité antifongique de divers extraits méthanoliques de *vitex*, *Borago* et l'*Oenothera* est étudiée sur diverses souches de champignons levuriformes et filamenteux.

- **Le principe**

Le principe consiste à déposer un disque stérile de 6 mm de diamètre imprégné d'une quantité bien définie des extraits à tester, à la surface d'une gélose coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec les moisissures et levures testées. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone claire autour du disque, appelée: zone d'inhibition (Alloun, 2019).

- **Les étapes de préparation**

Préparation du milieu de culture : Nous faisons fondre le milieu de culture Sabouraud dans un bain-marie à 95°C. Ensuite, nous versons ce milieu dans des boîtes de Petri et laissons-le tout refroidir et solidifier sur la paille. Nous subdivisons la boîte de Petri en trois sections distinctes, attribuant ainsi une section à chaque extrait .

Stérilisation du matériel : Nous stérilisons les tubes à essai à sec dans le four pasteur et les disques de papier Whatman de 6 mm dans un autoclave.

Préparation des extraits : Nous avons dissous 100 mg d'extraits de chaque plante dans 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO).

Préparation de la suspension fongique : À partir d'une culture de levures âgée de 48 heures, nous réalisons des suspensions troubles en prélevant 3 à 4 colonies bien isolées et identiques. Ces colonies sont déposées dans 5 ml d'eau physiologique stérile, puis agitées au vortex. Une première lecture de la concentration de la suspension est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre en évaluant la transmittance, laquelle devrait se situer entre 0,14 et 0,16 à une longueur d'onde de 620 nm. Les valeurs comprises dans les intervalles cités ci-dessus correspondent à une concentration optimale de 107-108 germes/ml .

Si une des valeurs trouvées à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, on l'ajuste soit en ajoutant de l'eau physiologique (à 9% de NaCl) si elle est inférieure à la valeur minimale, ou en ajoutant des colonies si elle est supérieure à la valeur maximale. A chaque fois une nouvelle lecture de transmittance est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées.

Quatre souches fongiques ont été utilisées dans cette étude, se composant de trois souches de moisissures : *Aspergillus Niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium sp.* et d'une souche de levure : *Candida albicans*.

Ensemencement et dépôt des disques: Nous avons étalé les suspensions fongiques à la surface de la gélose Sabouraud en utilisant des écouvillons. À l'aide d'une micropipette et de cônes stériles, on prélève 10 µl des extraits. On dépose chaque quantité prélevée sur le disque préalablement posé à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la géloseensemencée, on laisse diffuser pendant 30 minutes. Enfin, on incube à 25°C pendant 48 heures.

- **Lecture des résultats :**

-Zones claires autour du disque : présence d'une activité inhibitrice.

-Absence de zones claires autour du disque : pas d'effet inhibiteur (Alloun, 2019).

2.3.2.2. L'activité antibactérienne de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

Méthode de diffusion sur milieu solide

- **Principe**

Ce procédé est exécuté conformément au protocole formulé par Biondi et al., (1993). Le principe de ce test réside dans la diffusion des agents antibactériens à diverses concentrations en milieu solide. Après une période spécifiée durant laquelle les composés antibactériens interagissent avec la souche bactérienne, l'effet du produit antibactérien se manifeste sous la forme d'une zone d'inhibition qui émerge autour du disque. Selon le diamètre de cette zone d'inhibition, l'interprétation de la réaction de la souche bactérienne permet de la classer comme sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Préparation du milieu de culture

Nous avons employé le Muller-Hinton comme milieu de culture. Pour ce faire, la gélose a été portée à ébullition jusqu'à ce qu'elle se dissolve intégralement dans un bain-marie. Ensuite, nous avons versé le milieu de culture ainsi obtenu dans les boîtes de Pétri, où il a été laissé à refroidir.

Stérilisation du matériel

Les tubes à essai que nous avons employés pour la préparation des solutions bactériennes ont été initialement stérilisés à sec dans un four Pasteur. De la même manière, les disques de papier Wattman d'un diamètre de 6 mm et la gélose nutritive ont également été soumis à la stérilisation en utilisant un autoclave.

Préparation des dilutions des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

Matériel et méthodes

Nous avons dissous 100 mg d'extraits de chaque plante dans 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO) . Nous procédons à une série de dilutions en utilisant trois tubes, chacun contenant 500 microlitres de DMSO. Dans chaque tube, nous ajoutons ensuite 500 microlitres pour réaliser les dilutions .

Préparation de l'inoculum

Nous avons cultivé les souches bactériennes dans des milieux nutritifs et les avons incubées à une température de 37 °C pendant 24 heures. Nous avons veillé à ce que leur densité atteigne l'équivalent de 0,5 de l'échelle de McFarland. L'ajustement de l'inoculum a été réalisé en ajoutant de la culture en cas de faible densité, ou de l'eau physiologique stérile en cas de densité excessive .

Ensemencement et dépôt des disques

Nous avons étalé les suspensions bactériennes à la surface de la gélose Muller-Hinton en utilisant des écouvillons. Les disques qui contenaient les extraits (10 µl) ont été placés délicatement sur la surface de la gélose qui avait été préalablement inoculée, en utilisant des pinces stériles. De manière similaire, nous avons utilisé des disques imprégnés de témoins positifs pour réaliser des antibiogrammes, afin de les comparer avec les résultats des extraits testés et les disques imprégnés de diméthyle sulfoxyde (DMSO), qui constitue notre témoin négatif. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 heures à une température de 37 °C. Cette expérience a été répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

Lecture

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions autour des disques.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (**Ponce et al., 2003**):

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

2.4. Évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë des extraits

La toxicité aiguë se réfère à la réaction toxique provoquée par une seule dose importante d'une substance administrée. Dans le cadre de notre étude, nous avons employé les extraits hydro-méthanoliques (80%) de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* pour évaluer cette forme de toxicité.

- **Les animaux**

Pour cette phase d'évaluation de la toxicité aiguë des extraits, nous avons employé un groupe des souris *Swiss albinos* femelles, âgés de 8-10 semaines, et ayant un poids corporel compris entre 19-33 g, L'élevage des animaux a eu lieu au niveau de l'animalerie de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

Toutes les souris sont traitées et manipulées en conformité avec les directives énoncées dans le guide de l'OCDE 423.

Les animaux ont été répartis en plusieurs lots et conservés dans des cages avec copeaux et d'une porte étiquette où sont mentionnés le nom du lot.

Les souris sont soumises pendant 7 jours à une période d'adaptation avant chaque expérimentation où elles ont un accès libre de la nourriture et de l'eau du robinet à volonté. L'alimentation des souris dans cette expérimentation se présente sous forme de croquettes contenant les éléments suivants : 14 % d'humidité, 49,5 % de glucides, 14 % de protéines brutes, 3,5 % de lipides, 5 % de cendres et 1 % de complexe minéral-vitaminique.

2.4.1. Etude de la toxicité aiguë des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* chez les souris (tests précliniques)

La toxicité aiguë des extraits provenant des trois plantes étudiées a été évaluée sur huit souris femelles non gestantes et nullipares.

- **Mode opératoire**

Le protocole consiste à suivre les étapes suivantes

A. Répartition des souris en lots

Matériel et méthodes

Les souris ont été réparties en trois groupes distincts dans trois lots. Elles sont pesées et marquées juste avant l'administration des extraits. En utilisant leur poids à jeun pour calculer la quantité d'extrait à administrer. Chaque groupe a reçu une dose unique de l'extrait par voie orale.

B. Préparation des doses pour chaque extrait

La concentration est en fonction du poids des animaux, du volume à injecter et de la dose. Les concentrations des trois extraits sont préparées extemporanément et les extraits sont dilués dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%) respectivement en fonction de la concentration désirée. (**Figure 7**).

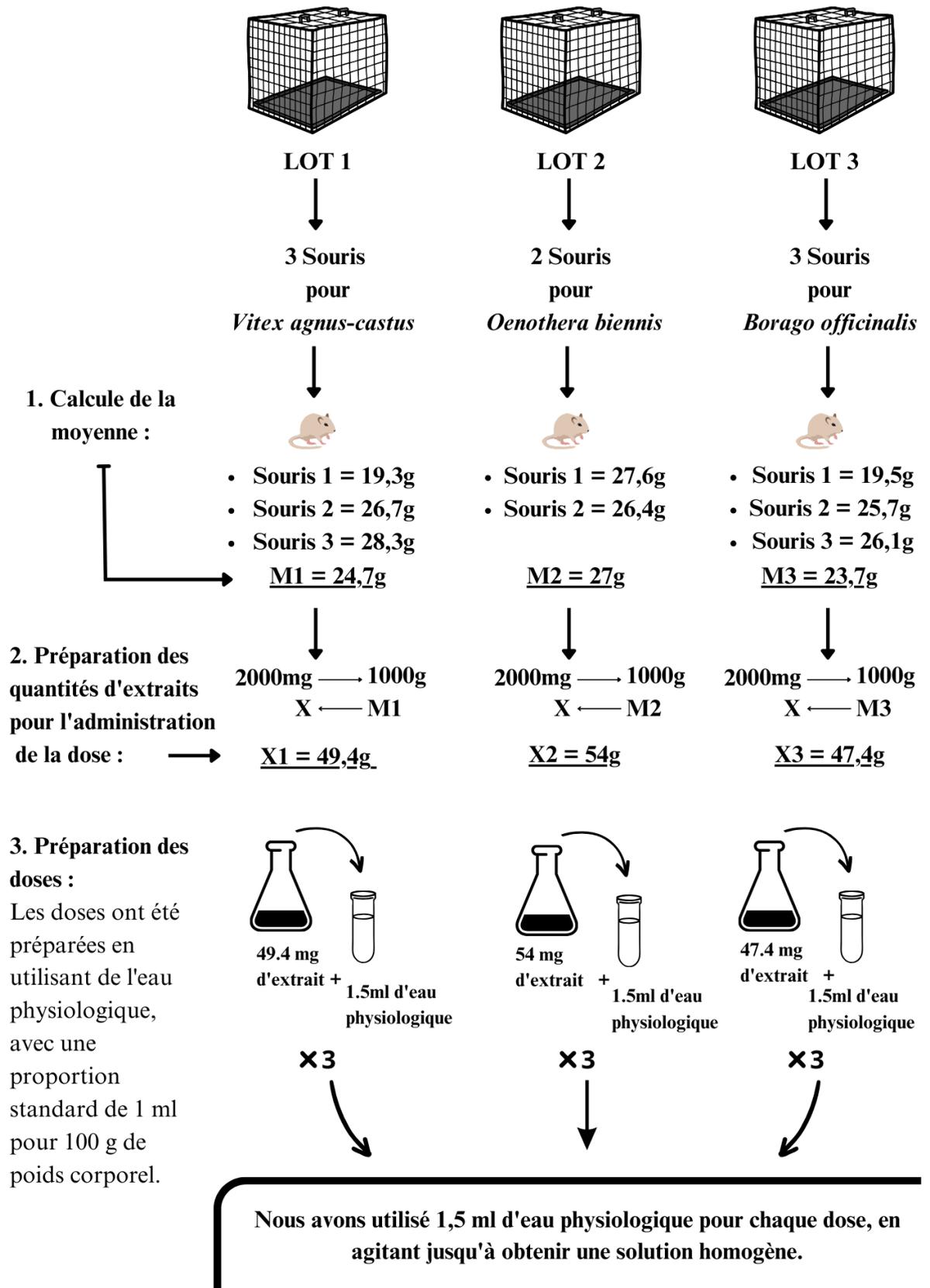


Figure 7: Préparation des doses pour la toxicité

C. Administration des extraits

Les souris ont été soumises à un jeûne de 16 heures avant le début de l'expérience, tout en ayant accès à l'eau. L'administration des substances testées a été réalisée par voie orale après un jeûne de 3 à 4 heures, pendant lequel les souris n'avaient pas accès à l'eau (**Figure 8**).



Figure 8: Administration des doses par voie orale

D. Étude observationnelle

Selon le protocole de (**Saleem et al., 2017**), pendant la période de suivi, les souris ont fait l'objet d'une surveillance attentive pendant les 48 premières heures après l'administration des extraits, et ensuite une fois par jour pendant 14 jours. Au cours de cette période, différents signes de toxicité, tels que les tremblements, la somnolence, les douleurs, la modification de la peau, convulsions, sédation, la masse, le toilettage, la respiration, l'aspect des selles, la mobilité ainsi que le décès, ont été soigneusement relevés et enregistrés . (**Tableau 8**).

Tableau 8: Etude de la toxicité aiguë des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

Extraits	- Hydro méthanolique 80%
Doses (mg/kg p.c)	- 2000 mg/kg
Voie d'administration	- Orale
Paramètres déterminés chez les souris	- Signes de toxicité - Mort
Analyses	- Biochimiques - Histologiques

Après le 14^{ème} jour, les comportements des souris ont été enregistrés et des analyses biochimiques et histologiques ont été également réalisées.

2.4.2. Analyses biochimiques

L'analyse biochimique a été investiguée à la fin de la période d'expérimentation. Les échantillons de sang ont été recueillis dans des tubes d'héparine puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. Le sérum est récupéré puis conservé au froid (4 °C) en vue des analyses biochimiques (**Figure 9**).

Les paramètres biochimiques plasmatiques : glycémie, urée, créatinine, cholestérol totale et triglycérides ont été mesurés.

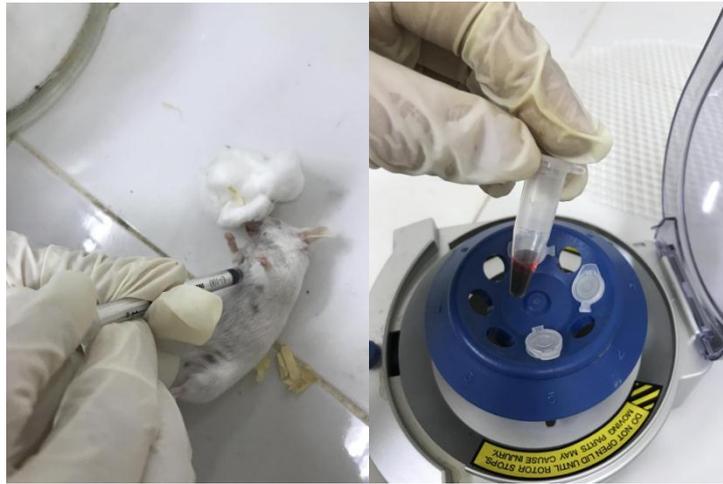


Figure 9: Le prélèvement des échantillons de sang.

2.4.3. Étude histologique

La dissection est effectuée au niveau de l'animalerie de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 (**Figure 10**), et les organes prélevés (foie, reins et poumons) issus de chaque extrait ont été immédiatement fixés dans une solution de formol à 10 % pendant une durée de 24 heures (**Figure 11**).

Ensuite, ces organes fixés ont été utilisés pour réaliser des analyses histologiques approfondies.

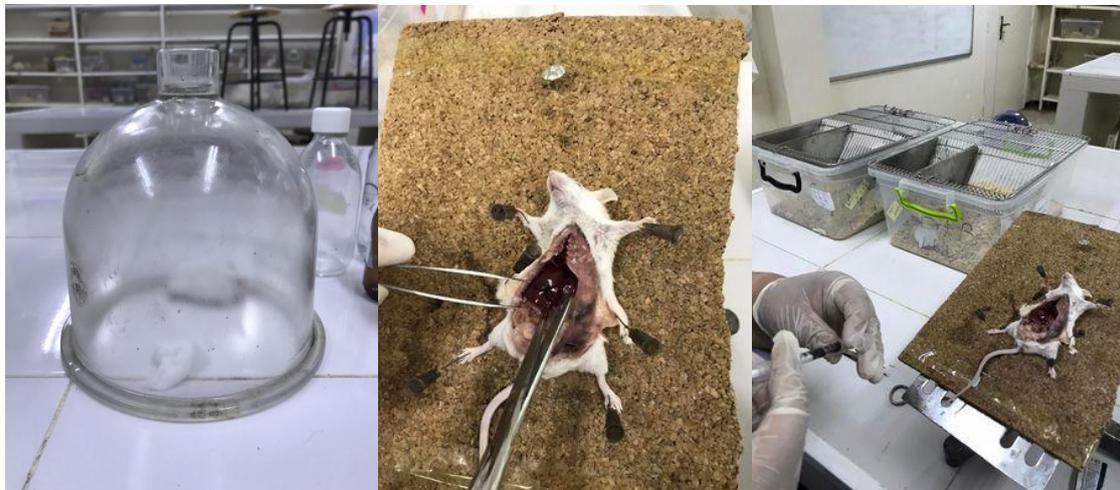


Figure 10: La dissection des souris.



Figure 11: Les organes des souris

Les coupes histologiques ont été réalisées au sein de laboratoire d'analyse médicale NIHA à Annaba, à l'aide d'un microtome. Le diamètre des coupes est de 0,4 μm .

L'éosine et l'hématoxyline sont utilisés pour la coloration. La coloration permet de reconnaître les différents tissus et structures (coloration topographique) mais aussi leur nature (coloration histochimique). Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains avec un solvant organique) en immergeant les lames dans des bains d'alcool à degré décroissant (100° - 90° - 70°) pour être à la fin immergée dans de l'eau distillée.

RESULTATS ET DISCUSSION

3. Résultats et discussion

Dans cette section, nous présentons les résultats et leur interprétation issus du screening phytochimique des extraits de *Vitex agnus castus L.*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*, ainsi que des tests *in vitro* et *in vivo* visant à évaluer leurs effets antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires, et leur toxicité. Enfin, nous discuterons de l'importance de ces résultats et de leurs implications pour la recherche médicale et la santé humaine.

1. Rendement d'extraction

Les résultats obtenus des rendements d'extraction par macération hydro-méthanolique 80% varient en fonction de chaque plante.

Le volume d'extrait obtenu suite à la filtration est le suivant

Le *Vitex agnus castus L* donne un volume de 320 ml, *Oenothera biennis* donne un volume de 350 ml, et *Borago officinalis* donne également un volume de 350 ml.

En ce qui concerne la quantité d'extrait sec obtenue après évaporation on observe que pour le *Vitex agnus castus L.*, on obtient 6,21 g, *Oenothera biennis* fournit 8,95 g et *Borago officinalis* donne 8,6 g.

Le rendement en extrait peut varier au sein de la même espèce en fonction de l'origine, de la période de récolte de la plante, de la méthode d'extraction ainsi que des conditions sous lesquelles cette dernière a été effectuée (Lee et al., 2003; Dai et Mumper, 2010; Bouhaddouda, 2016).

2. Analyses phytochimiques

2.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter la présence de certains types de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée des plantes par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Parmi les nombreux groupes de composés dans les plantes, nous avons principalement examiné les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les coumarines, les triterpènes et les composés réducteurs.

Résultats et discussion

Les résultats du Screening phytochimique des extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sont regroupés dans les tableaux suivants. **Tableau (9) (10) (11)**

Tableau 9: Résultats du Screening phytochimique d'extrait de vitex agnus castus L .

Métabolites Secondaires	Solution aqueuse		Solution Méthanolique	
Les flavonoïdes	+		+++	
Les tannins	++		++	
Les Coumarins	—		+	
Les alcaloïdes	réactif mayer	réactif wagner	réactif mayer	réactif wagner
	+++	+++	+	+
Triterpène	+++		+++	
Saponoside	4 cm		1 cm	
Composé réducteur	++		++	

— : absence ;

+ : présence ;

++ : moyennement présent ;

+++ : fortement présent

Tableau 10: Résultats du Screening phytochimique d'extrait Borago officinalis .

Métabolites Secondaires	Solution aqueuse		Solution Méthanolique	
Les flavonoïdes	+		+	
Les tannins	++		++	
Les Coumarins	+		—	
Les alcaloïdes	réactif mayer	réactif wagner	réactif mayer	réactif wagner
	+	+	+	+
Triterpène	—		—	
Saponoside	< 0,5 cm		< 0,5cm	
Composé réducteur	+++		+++	

Tableau 11: Résultats du Screening phytochimique d'extrait d' Oenothera biennis .

Métabolite Secondaire	Solution aqueuse	Solution Méthanolique
Les flavonoïdes	++	+++

Résultats et discussion

Les tannins	++		++	
Les Coumarins	+		+	
Les alcaloïdes	réactif mayer	réactif wagner	réactif mayer	réactif wagner
	+	++	+	++
Triterpène	++		++	
Saponoside	4 cm		/	
Composé réducteur	++		++	

L'analyse phytochimique des extraits aqueux et hydro-méthanoliques préparés à partir des grains de *V. agnus castus L*, *Borago officinalis* et *Oenothera biennis* a révélé la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires. Ces résultats démontrent une grande variété relative de ces composés dans les extraits étudiés.

Les résultats du screening phytochimique de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sont mis en évidence les observations suivantes:

1. Les résultats du screening phytochimique de *V. agnus castus L*

L'extrait hydro-méthanolique présentait une concentration significativement plus élevée de flavonoïdes par rapport à l'extrait aqueux. Les tanins galliques ainsi que les composés réducteurs étaient présents dans les deux extraits. Cependant, les coumarines sont détectées exclusivement dans l'extrait hydro-méthanolique, tandis qu'elles sont absentes dans l'extrait aqueux. Les alcaloïdes sont plus abondants dans l'extrait aqueux que dans l'extrait hydro-méthanolique. Par ailleurs, les triterpènes sont détectés dans l'extrait hydro-

méthanolique, et la présence d'hétérosides stéroïdiques dans l'extrait aqueux. Les saponosides étaient fortement présents dans l'extrait aqueux, se manifestant par la formation d'une mousse de 4 cm. En revanche, leur présence était moins prononcée dans l'extrait hydro-méthanolique, provoquant une mousse de 1 cm.

2. Les résultats de screening phytochimique de *Borago officinalis*

L'extrait de la plante met en évidence la présence de flavonoïdes, de tanins galliques, de composés réducteurs et d'alcaloïdes à la fois dans l'extrait hydro-méthanolique et l'extrait aqueux. Les coumarines sont spécifiquement détectées dans l'extrait aqueux, tandis qu'elles sont absentes de l'extrait hydro-méthanolique. En revanche, les triterpènes et les saponosides ne sont présents ni dans l'extrait aqueux ni dans l'extrait hydro-méthanolique.

3. Les résultats de screening phytochimique d'*Oenothera biennis*

L'extrait de la plante a révélé une concentration de flavonoïdes significativement supérieure, avec une concentration légèrement plus élevée dans l'extrait hydro-méthanolique par rapport à l'extrait aqueux.

Les tanins galliques, les composés réducteurs, les coumarines ainsi que les alcaloïdes sont présents dans les deux extraits, à la fois hydro-méthanolique et aqueux, de la plante. De plus, l'extrait hydro-méthanolique indique également la présence de triterpènes, tandis que l'extrait aqueux montre la présence d'hétérosides stéroïdiques. Par ailleurs, on observe une abondance de saponosides dans l'extrait aqueux, avec une formation de mousse dans le tube dépassant les 4 cm d'hauteur, tandis qu'ils sont absents de l'extrait hydro-méthanolique.

Discussion

D'après les résultats obtenus on peut conclure que la méthode de macération hydro-méthanolique et aqueux soit la plus efficace pour extraire les polyphénols totaux, les tanins, les alcaloïdes et les composés réducteurs des trois espèces *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*.

Ces résultats indiquent la richesse de ces extraits en composés chimiques actifs connus par leurs diverses activités biologiques, et la capacité potentielle de traiter plusieurs maladies (**Curini et al., 2006; Guil-Guerrero et al., 2006**).

En tenant compte des observations de **Paris et Moyse (1965)** sur les saponines, les phénols, il nous semble que les différents composés retrouvés dans ces plantes pourraient justifier l'utilisation de ces dernières par les tradipraticiens et/utilisateurs comme drogue végétale.

1. Le *Vitex agnus castus*.L, renferme divers composants tels que des acides phénoliques et leurs dérivés, des flavonoïdes, des tanins, des iridoïdes ainsi qu'une huile essentielle (**Sarac et al., 2015**). On trouve également dans cette plante des alcaloïdes, des glucosides ainsi que des acides gras, des acides aminés et des traces de progestérone, notamment l'hydroxyprogestérone (**Antolic et Males, 1997; Du Mee, 1993**). Ces composés sont présents à des concentrations variables dans les différentes parties de la plante.

Globalement, les familles de composés chimiques détectées pour le *Vitex* dans notre étude confirment les conclusions des recherches menées par **Ganapaty et al, Daniele et al, (2005)** et **Christoffel et al, (2002)**. De plus, nos résultats concordent avec les études antérieures réalisées par **Kasonia et al, (1991)** et **Okombe et al, (2010)**, qui ont également noté la présence de ces composés dans le *Vitex*. Ils sont en outre en accord avec les travaux de **Ajiwe et al, (1998)** et **Taiwo et al, (1999)** portant sur cette plante.

Le *Vitex agnus castus*, suite à de nombreuses études, présente une composition précisément définie, comprenant des composants démontrant une activité pharmacologique significative

(**Claire, 2018**) notamment les iridoïdes présents dans diverses parties de la plante. Ces derniers possèdent des propriétés antispasmodiques et anti-inflammatoires, agissant spécifiquement sur les récepteurs de la progestérone (**Allais, 2008; Bruneton, 2009; Hu et al., 2007**) Cette plante est reconnue depuis longtemps pour son efficacité dans le traitement de divers troubles gynécologiques, particulièrement le syndrome prémenstruel, les troubles menstruels, les problèmes liés à la ménopause, ainsi que ses propriétés hormonales. Il possède également des caractéristiques chimiopréventives, immunomodulatrices, cytotoxiques, tumorales, antimutagènes, insectifuges, larvicides, favorisant la cicatrisation des fractures, ostéogéniques, antinociceptives, opioïdergiques, antiépileptiques, préventives contre la maladie du foie gras non alcoolique, le stress oxydatif et des activités anti-

inflammatoires ce qui en fait un élément prometteur dans le domaine de la santé (**Niroumand et al, 2018**).

2. Pour ce qui est de *Borago officinalis*, les études de **Soroshzadeh et al. (2008)** en Iran, ainsi que celles de **Chaouche Afif (2015)** en Algérie, ont également mis en évidence la présence de tanins, d'alcaloïdes et de flavonoïdes dans la Bourrache. Ces résultats sont en accord avec ceux notés lors de notre étude.

Les recherches convergent vers la présence d'alcaloïdes, de tanins, de glucides, de flavonoïdes et d'acides organiques dans la bourrache, ce qui confirme nos propres résultats. En médecine populaire, cette plante est connue pour de nombreuses vertus thérapeutiques: expectorante, tonique, galactagogue, agissant aussi contre la toux, la fièvre et la dépression (**Barnes et al., 2007**). Par ailleurs, **Gilani et al. (2007)** ont révélé que cette plante médicinale possède un éventuel effet pharmacologique représenté par une activité spasmolytique importante, qui peut s'exercer au niveau des appareils cardiovasculaire, respiratoire et gastro-intestinale via un mécanisme antagoniste avec les ions de calcium. Cette multitude d'effets s'explique essentiellement par la richesse de cette plante en divers composés, en particulier en acide gras (**Gupta et Singh, 2010**).

La famille des *Boraginaceae* est l'une des ressources les plus connues des acides gras. Plusieurs études ont été menées sur la combinaison d'acides gras disponibles dans l'huile de graines d'espèces de *Boraginaceae*. La quantité d'acide linoléique, ALA, GLA, SDA et l'acide érucique est d'une importance particulière à l'intérieur de cette famille (**Velasco et Goffman, 1999; Eskin, 2008**). Ces composants confèrent à la bourrache des propriétés anti-inflammatoires en régulant la production de prostaglandines pro-inflammatoires et en stabilisant les membranes cellulaires, favorisant ainsi leur souplesse. En outre, ils apportent un soulagement appréciable pour les douleurs menstruelles et jouent un rôle efficace dans l'équilibre hormonal (**Duraffourd et Lapraz, 2002; Lapraz et al., 2017**).

3. Par l'évaluation des extraits méthanoliques d'*Oenothera biennis*, les conclusions de **Timoszuk et al, (2018)** appuient nos propres résultats. Ces extraits se distinguent par leur richesse en composés phénoliques, acides et flavonoïdes, en particulier les acides galliques. Ils renferment également des stérols, des triterpènes et des glucides. L'huile extraite des graines, représentant environ 20% de la plante, se distingue par sa richesse en acides linoléique et γ -linoléique, ainsi que par son contenu élevé en acides gras, protéines,

Résultats et discussion

glucides, acides aminés et vitamines. Cette huile d'onagre se caractérise par ses bienfaits spécifiques chez les femmes, montrant une plus grande efficacité dans les cas de mastoses, de syndrome prémenstruel et de troubles associés à une hyperprolactinémie, attribuée à l'acide gamma-linolénique (Arnal-Schnebelen, 2006).

Ces conclusions renforcent nos propres observations, confirmant ainsi l'importance nutritionnelle et thérapeutique de l'onagre.

3. Les activités biologiques

3.1. L'activité antibactérienne

Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de plantes

L'étude qualitative du pouvoir antibactérien des différents extraits de *Vitex agnus castus. L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis L* est évaluée sur des souches bactériennes Gram positives et Gram négatives à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. Le tableau montre l'effet antibactérien avec les diamètres d'inhibition des extraits des plantes étudiées.

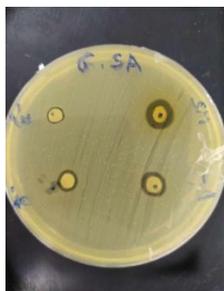
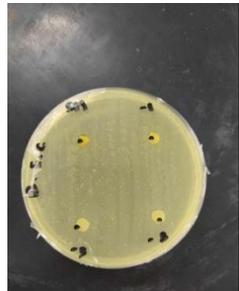
Tableau 12: Diamètre d'inhibition des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les différentes souches bactériennes

Les extraits	Concentration	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 35556
<i>Vitex agnus-castus</i>	SM	10 mm \pm 0,1	14 mm \pm 0,0
	1/2	9 mm \pm 0,2	12 mm \pm 0,0
	1/4	/	10 mm \pm 0,0
	1/8	/	9 mm \pm 0,3
<i>Oenothera biennis</i>	SM	13.5 mm \pm 0.2	9.5 mm \pm 0,2
	1/2	12 mm \pm 0.0	6 mm \pm 0,1
	1/4	9.5 mm \pm 0.0	/
	1/8	7 mm \pm 0.1	/

Résultats et discussion

<i>Borago officinalis</i>	SM	/	11.5 mm ±0,0
	1/2	/	10 mm ±0,0
	1/4	/	9.5 mm ±0,0
	1/8	/	6 mm ±0,6
Témoin +	-	21 mm	24 mm
Témoin -	-	/	/

Tableau 13: Résultats de la lecture pour les différentes concentrations des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les différentes souches bactériennes.

	Extrait de biais <i>Vitex agnus-castus</i>	Extrait de <i>Oenothera biennis</i>	Extrait de <i>Borago officinalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 35556			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			

SM : solution mère (-1) : 1/2 (-2) : 1/4 (-3) : 1/8

D'après (Ponce et al., 2003), les résultats présentés dans le Tableau montrent que les différents extraits ont des activités antibactériennes de degrés variables contre les deux souches bactériennes mises en expérimentation. L'activité inhibitrice des extraits a été identifiée dans une large gamme de concentrations.

Résultats et discussion

L'extrait de *Vitex agnus-castus* a été évalué à différentes concentrations (SM, ½, ¼, ⅛) contre *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). À la concentration la plus élevée (SM), l'extrait a montré une zone d'inhibition de 10 mm pour *E. coli* et de 14 mm pour *S. aureus*.

À la concentration la plus élevée, l'extrait d'*Oenothera biennis* a montré une zone d'inhibition de 13.5 contre *E. coli*, et une zone inhibition de 10,5 mm contre *S. aureus*.

L'extrait de *Borago officinalis* n'a montré aucune activité contre *E. coli*, mais a montré une zone d'inhibition de 12,5 mm contre *S. aureus* à la concentration la plus élevée.

Ces résultats suggèrent que les extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* ont une activité antibactérienne, bien que leur efficacité varie en fonction de la concentration et de la bactérie ciblée. Les témoins positifs ont montré que les bactéries étaient sensibles aux antibiotiques utilisés, tandis que les témoins négatifs ont confirmé que le DMSO n'avait pas d'effet antibactérien.

Les résultats de notre étude sont en corrélation avec ceux de l'étude menée par **(Ratz-Lyko et al., 2014)**, qui portait sur l'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de gâteaux de graines d'*Oenothera biennis*, *Borago officinalis* et *Nigella sativa*. Leurs résultats ont également confirmé l'activité antibactérienne significative des extraits de *Borago officinalis* et d'*Oenothera biennis* contre les quatre souches bactériennes testées. Plus spécifiquement, l'extrait de *Borago officinalis* s'est révélé particulièrement efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, tandis que l'extrait d'onagre a montré une forte activité contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans une autre étude menée par **(Yaghmour et al., 2021)**, l'efficacité antibactérienne des extraits de graines et de feuilles de bourrache a été examinée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif, ainsi qu'*Escherichia coli*, une bactérie à Gram négatif. Les résultats ont révélé que les extraits de graines et de feuilles de *Borago officinalis* étaient actifs contre *S. aureus*, présentant un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm pour l'huile de graines. En revanche, aucun effet n'a été observé contre *E. coli*, ce qui suggère une résistance de cette bactérie aux extraits de graines. Cette variation de sensibilité entre les deux types de bactéries pourrait être attribuée aux différences dans la structure de leurs parois cellulaires.

Selon les recherches menées par (Niroumand et al., 2018) pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des graines de *vitex agnus castus*, il a été constaté que cette huile possédait des propriétés antibactériennes contre *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* dans une méthode de diffusion sur disque. *S. aureus* était l'organisme le plus sensible, et le caryophyllène oxyde a été identifié comme le constituant le plus important de l'huile essentielle.

3.2. Activité antifongique

Les mesures de l'activité inhibitrice ont été effectuées par la méthode des disques. Donc les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont pour but de mettre en évidence l'action des trois extraits sur les souches fongiques testées.

A cet effet, une échelle de mesure de l'activité antifongique a été mise par (Ponce et al., 2003), répartissant les diamètres des zones d'inhibition en 04 classes:

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

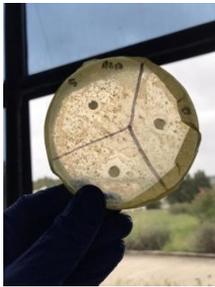
Etude qualitative des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*

Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition par les trois extraits en utilisant la méthode de disques sont regroupés dans (tableau 14).

Tableau 14: Diamètre d'inhibition des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les différentes souches fongiques.

	<i>Penicillium sp</i>	<i>Aspergillus Niger</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>V agnus-castus</i>	/	14 mm ± 0,2	12 mm ± 0,1	/

Résultats et discussion

<i>Oenothera biennis</i>	/	15 mm ± 0,4	9 mm ± 0,1	/
<i>Borago officinalis</i>	/	16 mm ± 0,00	10 mm ± 0,1	/
Résultats				

Au vu des résultats résumés dans le (tableau14), on constate des variations significatives dans les diamètres des zones inhibitrices en réponse aux extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*. Plus précisément, pour *Candida albicans*, les zones inhibitrices mesurent 12 mm pour *Vitex*, 9 mm pour *Oenothera biennis* et 10 mm pour *Borago officinalis*. Concernant *Aspergillus Niger*, les zones inhibitrices sont de 14 mm pour le vitex, 16 mm pour l'onagre et 15 mm pour la bourrache, indiquant une activité antifongique modérée à forte. En revanche, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium sp* ne manifestent pas de zones inhibitrices significatives en réponse à ces extraits.

Ces chiffres illustrent qu'*Oenothera biennis* et *Borago officinalis* exercent un pouvoir inhibiteur notable sur la souche *Aspergillus Niger*, révélant ainsi une activité antifongique plus marquée (très sensible), suivie par le *vitex*. De même, sur la souche *Candida albicans*, on observe une activité antifongique sensible. Les diamètres des zones inhibitrices reflètent donc la capacité relative des extraits à entraver la croissance des souches fongiques testées, laissant supposer l'existence de variations dans leur composition chimique ou dans leur efficacité face à ces souches spécifiques. Cette disparité en termes d'activité antifongique pourrait être attribuée à la présence de composés spécifiques dans chaque extrait.

L'absence de zones inhibitrices pour *Fusarium oxysporum* et *Penicillium sp* suggère, quant à elle, que ces souches fongiques sont moins sensibles ou résistantes aux composés contenus dans les extraits de vitex, onagret bourrache, du moins dans les concentrations testées.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Eidi et al., 2014), qui ont réalisé une étude comparative de l'activité antifongique de la bourrache (*Borago officinalis*) et des feuilles de *Camellia sinensis* (thé vert) contre diverses souches d'*Aspergillus* et de *Candida*. Les effets antifongiques des extraits ont été déterminés par des méthodes de diffusion du disque. Leurs résultats ont montré que l'extrait de *Borago officinalis* a présenté l'activité antifongique la plus élevée contre *A. niger* avec un diamètre de zone d'inhibition de 5 mm et l'effet le plus faible contre *C. krusei*, *C. dubliniensis*, *A. fumigatus* et *A. flavus*. Cette étude suggère que *Borago officinalis* est une source précieuse de composés médicinaux utiles qui peuvent aider à éviter les effets secondaires des antifongiques.

Dans une autre étude menée par (Barbakadze et al., 2023), cette recherche explore les activités antimicrobiennes des biopolymères extraits de six plantes de la famille des *Boraginacées*. La meilleure activité parmi tous les biopolymères testés a été trouvée pour le biopolymère des tiges de *Borago officinalis* contre *Trichoderma viride*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopie* et *Candida albicans*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,37 mg/mL.

Au cours d'une recherche conduite par (Ambrin et al., 2020), les activités antimicrobiennes de différents échantillons extraits de solvant de *Ziziphus mauritiana* var. *spontanea* et *Oenothera biennis* ont été étudiées contre différents microbes. Il est à noter que l'extrait éthanolique d'*Oenothera biennis* a révélé une activité antifongique maximale contre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*.

Selon les recherches menées par (Maltaş et al., 2010) pour l'évaluation des antioxydants et l'activité antimicrobienne de *Vitex agnus-castus* L., il a été constaté que la zone d'inhibition a été mesurée à 11 mm pour *Candida albicans* à une concentration de 100 mg/ml.

Nos études sont cohérentes avec celles menées par (Bakr et al., 2020), qui ont évalué l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Vitex agnus-castus* à l'aide d'un test de diffusion sur gélose. Les résultats ont révélé que cette huile essentielle avait un effet particulièrement efficace contre *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*, avec une zone d'inhibition de 18 mm pour *C. albicans*. Ces découvertes suggèrent que l'huile essentielle de *Vitex agnus-castus* possède une activité anti-candida puissante, ce qui en fait un candidat prometteur pour l'inclusion dans des formulations pharmaceutiques.

Cette étude avait pour objectif de déterminer les propriétés biologiques (composants phytochimiques, activité antioxydante et activité antifongique) de l'huile essentielle (HE) de

Vitex agnus-castus d'origine iranienne. L'activité antifongique a été évaluée contre *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilose*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, les espèces de *Penicillium* et les espèces d'*Alternaria*. L'HE obtenue a montré une activité antifongique significative, avec une sensibilité plus élevée d'*Aspergillus niger* par rapport aux autres souches fongiques. (Katirae et al., 2015).

Les résultats suggèrent que *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration des variétés, des nutraceutiques, des produits bio-pharmaceutiques et des additifs alimentaires en tant qu'antioxydants naturels rentables. Ce sont des plantes médicinales traditionnellement utilisées pour le traitement de plusieurs problèmes de santé et de symptômes, tels que les problèmes prémenstruels, la dysménorrhée spasmodique, certaines conditions liées à la ménopause, l'insuffisance lactationnelle et l'acné.

3.3. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

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

La dénaturation des protéines est bien documentée parmi les causes de l'inflammation et la capacité à inhiber cette dénaturation est l'un des mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Barros et al., 2008; Bagad et al., 2011).

Pour évaluer l'efficacité anti-inflammatoire des plantes étudiées, nous avons utilisé la méthode qui implique l'utilisation de la protéine BSA (Bovine Sérum Albumine).

Les résultats sont représentés dans la figure 12 ci-dessous.

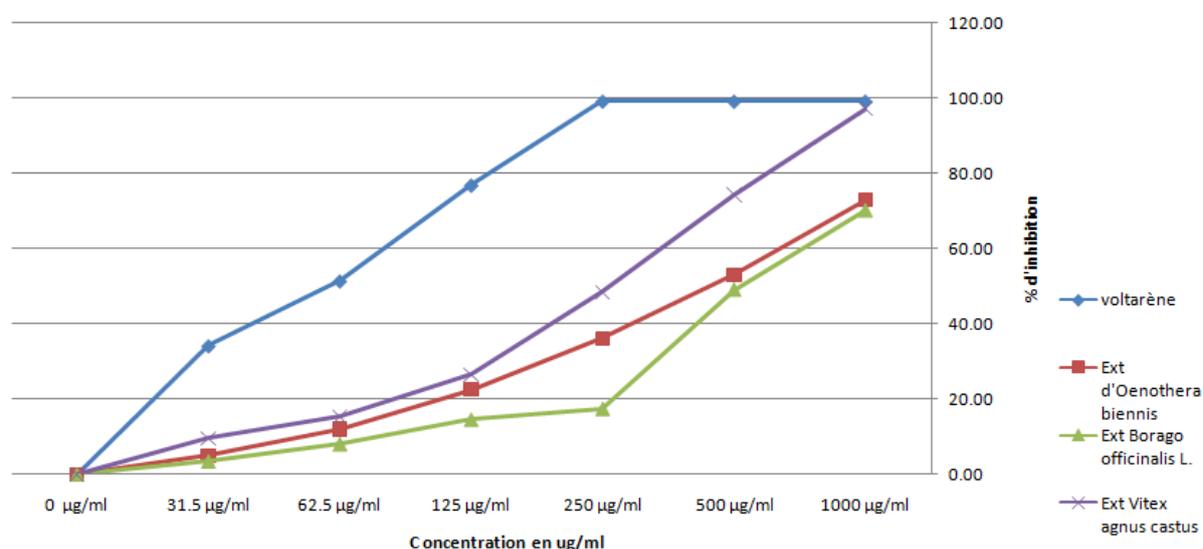


Figure 12: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA

La figure 12 représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations en extraits. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le voltarène, considérée dans ce test comme molécule de référence.

D'après les résultats, il semble qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage de la dénaturation de BSA par le voltarène et par les trois extraits hydro méthanolique des plantes étudiées.

Nos résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA pour les trois extraits était inférieur à celui du voltarène pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 250 ug/ml, le voltarène a relevé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de 99.23 ± 0.41 %. Concernant les trois extraits hydro méthanolique des plantes étudiées, pour une concentration 1000 ug/ml, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA est de 96.99 ± 1.16 % pour l'extrait de *Vitex agnus castus* et 70.11 ± 1.08 % pour l'extrait de *Borago officinalis* L. et 72.81 ± 1.18 % pour l'extrait *Oenothera biennis*.

Il a été rapporté que certains anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que le diclofénac, l'acide salicylique, phenylbutazone et l'indométacine ne se limitent pas à inhiber la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires. Ils présentent également un effet protecteur contre la dénaturation thermique des protéines à un pH physiologique compris entre 6,2 et 6,5 (Ramalingam et al., 2010; Sangeetha et al., 2011). La dénaturation des protéines est un processus dû à l'altération des liaisons hydrogène, hydrophobes, électrostatiques et disulfures, qui conduit à la perte de leurs structures secondaires et tertiaires. La plupart de ces protéines perdent leurs fonctions biologiques, et induisent la production d'auto-antigènes provoquant plusieurs dysfonctionnements auto-immunes dont des maladies rhumatismales et inflammatoires (Mouffouk et al., 2020).

Selon les résultats obtenus, on constate que les extraits de *Vitex agnus castus*. L, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* L sont capables de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'effet inhibiteur sur la dénaturation de BSA est peut être attribué à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les protéines.

L'huile d'onagre (HO) présente des propriétés anti-inflammatoires grâce à ses esters d'acides triterpéniques. Ces esters agissent en capturant les radicaux libres et en inhibant la cyclo-oxygénase (Knorr et Hamburger, 2004; Zaugg et al., 2006). Cet effet anti-inflammatoire se manifeste également par voie orale : les patients qui consomment de l'HO constatent une amélioration des lésions cutanées et une augmentation de l'acide dihomogamma linoléique, qui est un précurseur de la prostaglandine E1 (PGE1) (Yoshimoto-Furuie K et al., 1999).

D'après les recherches réalisées par (Niroumand et al., 2018), il semble que que les composés identifiés dans l'extrait méthanolique de *Vitex agnus-castus* ont un potentiel anti-inflammatoire, et en particulier, la casticine montre une efficacité prometteuse pour réduire l'inflammation pulmonaire en inhibant divers processus inflammatoires, tels que l'infiltration de cellules immunitaires et la libération de cytokines pro-inflammatoires.

4. Etude *in vivo* de la toxicité des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* chez les souris (tests précliniques)

Nous utilisons l'étude de la toxicité aiguë pour déterminer la dose capable de provoquer la mort des souris selon des critères spécifiques. Cette analyse nous permet de calculer la DL50, qui correspond à la quantité de substance provoquant le décès de la moitié des individus d'une même espèce soumise à l'expérience, dans une période généralement courte, allant d'au moins sept jours à un maximum de quatorze jours ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est-à-dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin.

4.1. Comportement et signes de toxicité

Le tableau 15 illustre les différents comportements observés après une administration orale d'une dose de 2000 mg/kg des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* chez les souris.

Les comportements des souris traitées sont enregistrés pendant les 14 jours de traitement par les extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*. Les résultats n'indiquent aucun signe de toxicité, aucun comportement anormal, ni de mortalité sont observés à cette concentration (2000 mg/kg).

Tableau 15: Comportements des souris contrôles et traitées par 2000 mg/kg des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* chez les souris.

C : Contrôle ; Str : Souris traitées ; N : normale ; A ; Absent ; M : mort ; Vivant

	30min		4h		24h		48h		7 j		14 jrs	
Observation	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
		tr		tr		tr		tr		tr		Tr
Poids	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Consommation aliment	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Respiration	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Tremblements	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Douleurs	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Convulsions	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Changement de la peau	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Somnolence	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Sédation	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Coma	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Vivant/mort	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V

4.2. Changement du poids

Le tableau 16 présente les données relatives au poids corporel des souris contrôles, qui reçoivent de l'eau physiologique, ainsi que des souris traitées avec les extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*. D'après nos résultats, nous remarquons aucun changement significatif dans le poids des souris.

Tableau 16: Effet des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur le poids des souris dans le test de la toxicité aiguë.

	Poids corporels (g)		
Groupe	1 er jour	7ème jour	14eme jour
Contrôle	24,00 ± 1,00	28,00 ± 1,73	26,00 ± 2,00

Résultats et discussion

<i>Vitex agnus-castus</i> (2000 mg/ kg)	24,76 ± 1,02	23,53 ± 1,41	27,00 ± 1,09
<i>Borago officinalis</i> (2000 mg / kg)	23,76 ± 1,56	30,23 ± 1,87	31,95 ± 2,54
<i>Oenothera biennis</i> (2000mg/ kg)	27, 00 ± 1,12	29,70 ± 0,58	32,03 ± 1,98

4.3. Analyses biochimiques

4.3.1. Effet des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les fonctions rénales

Le tableau 17 affiche le taux de la glycémie , la créatinine et de l'urée des souris après un traitement par 2000 mg/kg des extraits hydro-méthanolique des grains de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*. D'après les résultats, on note qu'aucune variation significative n'a été observée dans les concentrations de glucose à jeun, de créatinine, et de l'urée dans le sérum des souris traitées par des extraits hydro-méthanolique des grains de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*.

Tableau 17: Effet des extraits des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur la fonction rénale des souris traitées (2000mg/kg).

Paramètre	Unité	Contrôle	<i>Vitex agnus-castus</i> (2000mg/Kg)	<i>Borago officinalis</i> (2000mg/Kg)	<i>Oenothera biennis</i> (2000mg/Kg)
Glucose	g/L	0,9	0,85	0,89	0,9
Créatinine	mg/L	2,4	2,1	1,9	1,8
Urée	g/L	0,50	0,46	0,43	0,41

4.3.2. Effet des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur le bilan lipidique

Le tableau 18 affiche les résultats du bilan lipidique, deux paramètres ont été estimés : les triglycérides et le cholestérol total. Il ressort de nos résultats qu'il n'y a aucun changement significatif dans les paramètres lipidiques après un traitement par les trois extraits.

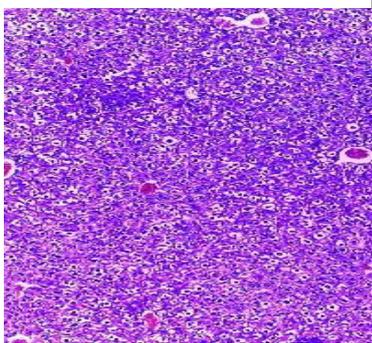
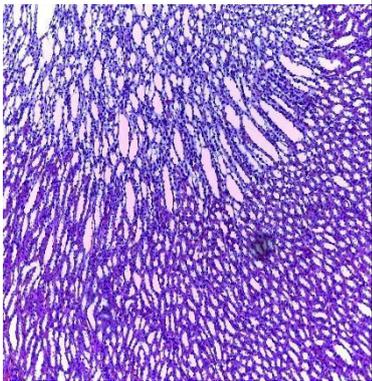
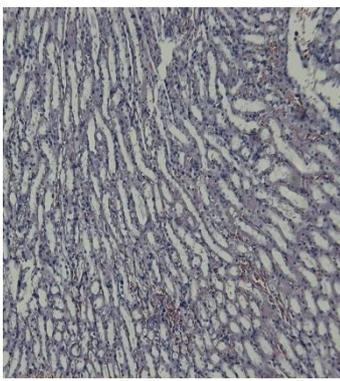
Tableau 18: Effet des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les paramètres lipidiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.

Paramètre	Unité	Contrôle	<i>Vitex agnus-castus</i> (2000 mg/Kg)	<i>Borago officinalis</i> (2000 mg/Kg)	<i>Oenothera biennis</i> (2000mg/Kg)
Triglycérides	g/L	1,26	1,08	1,12	0,93
Cholestérol total	g/L	1,16	1,03	1,05	0,89

4.3.3. Effet des extraits de *Vitex agnus-castus*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur les organes

Les résultats obtenus des coupes histologiques des organes (foie, reins et poumon) après un traitement par les extraits de *Vitex agnus-castus* (**Tableau 19**), *Oenothera biennis* (**Tableau 20**) et *Borago officinalis* (**Tableau 21**) et les souris contrôle, sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau 19: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait de *Vitex agnus-castus* et le témoin (GX100)

Organes	Témoin	Extrait de <i>Vitex agnus-castus</i>	Observation et interprétation
Foie			Aucune toxicité observée
Rein			Aucune toxicité observée

Résultats et discussion

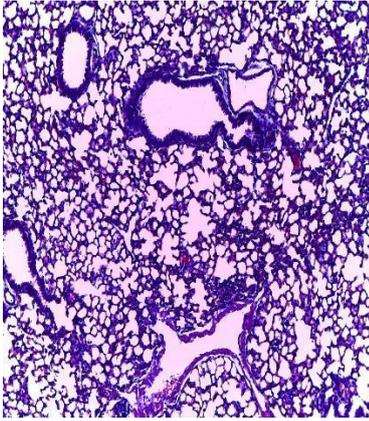
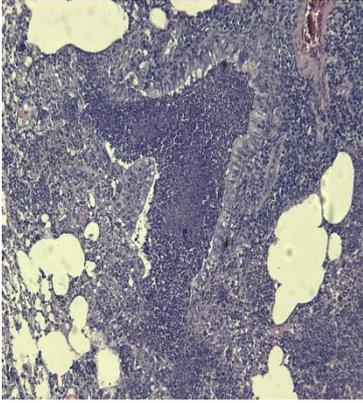
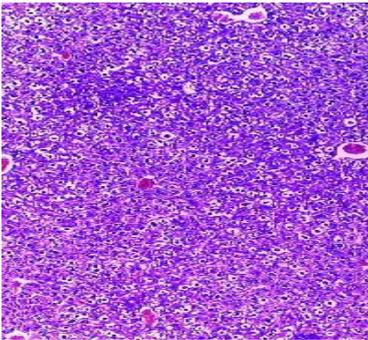
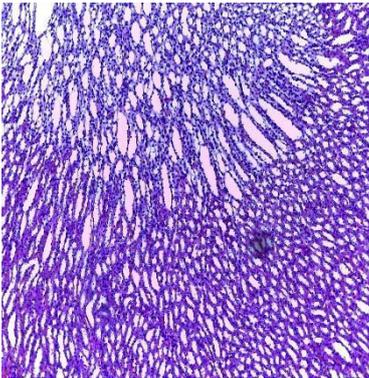
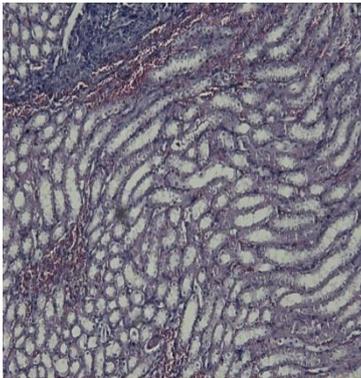
Poumon			Aucune toxicité observée
--------	---	--	--------------------------

Tableau 20: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait d'*Oenothera biennis* et le témoin (GX10)

Organes	Témoin	Extrait d' <i>Oenothera biennis</i>	Observation et interprétation
Foie			Aucune toxicité observée
Rien			Aucune toxicité observée

Résultats et discussion

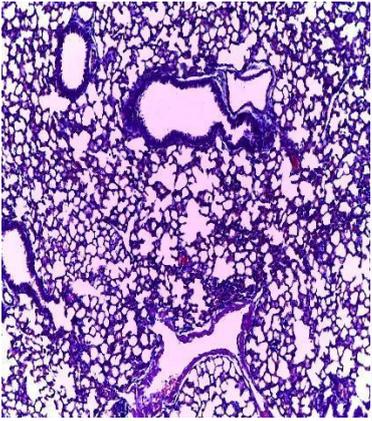
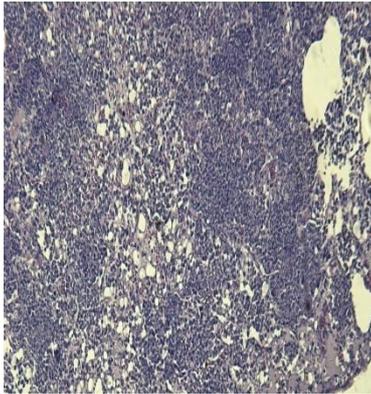
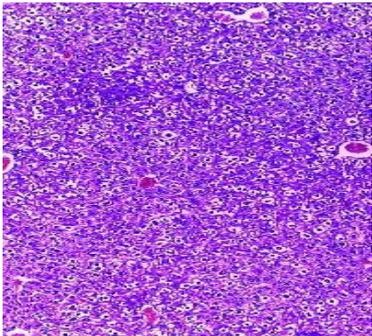
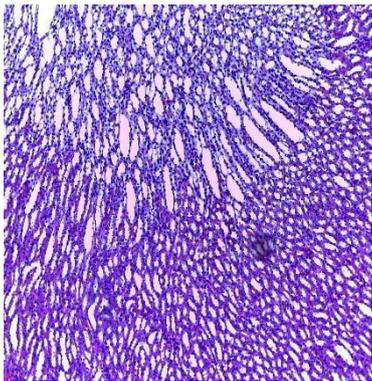
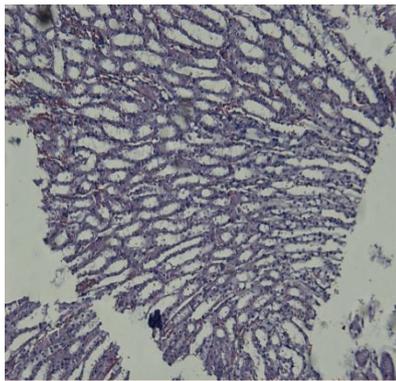
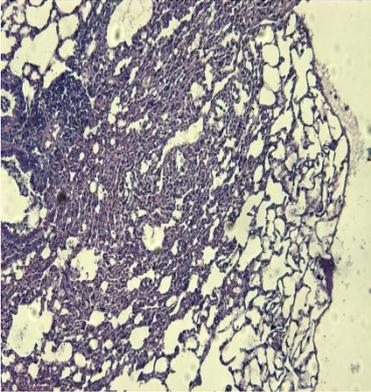
Poumon			Aucune toxicité observée
--------	---	--	--------------------------

Tableau 21: Coupes histologiques des organes après un traitement par Extrait de *Borago officinalis* et le témoin (GX100)

Organes	Témoin	Extrait de <i>Borago officinalis</i>	Observation et interprétation
Foie			A : Congestion dans les sinusoides
Rien			Aucune toxicité observée

Poumon			Aucune toxicité observée
--------	---	--	--------------------------

Discussion

La toxicité se définit comme étant l'ensemble des effets néfastes provoquant des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, suite à l'administration d'une substance à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées (**Hodgson, 2004**).

La toxicité d'une substance se reflète généralement sur le foie, le rein et parfois sur les poumons, en induisant des dégénérescences cellulaires et des nécroses, qui se traduisent par l'hypotrophie ou l'hypertrophie de ces organes. Pour cette raison, le présent travail consiste à déterminer l'effet toxique des plantes sur les souris. Suite à l'administration orale des extraits, nous avons conduit une analyse approfondie comprenant l'étude histologique et l'analyse biochimique de ces organes.

Le foie est un organe vital qui joue un rôle central dans la biotransformation des médicaments, et son fonctionnement normal est évalué par divers enzymes de biomarqueurs sériques (**Olorunnisola et al., 2012**).

On sait que le foie est l'organe principal du métabolisme du glycogène. La diminution de glycogène dans le foie est un résultat commun d'insuffisance hépatique après des lésions du foie causées par des composés toxiques. Cette insuffisance hépatique peut provoquer une augmentation de l'insuline dans le sang, et une réduction consécutive de la teneur en sucre dans le sang. ce qui est cohérent avec le taux de glucose et du glycogène dans le foie (**Wu et al., 2005**). Dans notre étude, la stabilité du taux de glucose sanguin suggère que les extraits

de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* ne semblent pas influencer la synthèse, le stockage ou la dégradation du glycogène dans le foie.

Il est bien connu aussi que le foie est l'organe clé dans la synthèse et l'excrétion du cholestérol. A cet effet tout type d'obstruction dans le foie, soit intra ou extra-hépatique, va provoquer une augmentation du taux du cholestérol total dans le plasma (**Havel, 1969**). L'administration orale des extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* n'a pas induit de modification au niveau des taux de cholestérol et de triglycérides. Ces résultats suggèrent l'absence d'effet de ces extraits sur le foie.

L'observation microscopique, des coupes histologiques hépatiques des souris, traitées avec divers extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*, a révélé un état normal, sans aucun signe de modification hépatique. et l'analyse plus approfondie de ces coupes histologiques n'a montré aucune désorganisation architecturale ou un quelconque infiltrat lymphocytaire aux niveaux de la veine centro-lobulaire ou de l'espace porte (absence de signe d'inflammation).

Ces constatations confirment que l'administration de ces extraits n'a eu aucun impact nuisible sur la structure ou la fonction hépatique des souris.

Les reins sont un organe vital très vulnérable aux composés toxiques en raison du volume élevé de sang qui circule. Ils sont chargés de filtrer divers types de toxines, susceptibles de s'accumuler dans les tubules rénaux (**Akindede et al., 2014**). L'urée et la créatinine sont considérés comme des biomarqueurs sensibles des lésions rénales. Un biomarqueur rénal élevé est généralement une indication d'une insuffisance rénale. Cela concerne également les enzymes de la fonction hépatique, puisque le foie et les reins sont les principaux sites d'élimination des substances dans l'organisme (**Gowda et al., 2010**). Les résultats après l'administration orale des extraits ont démontré qu'il n'y avait aucun changement dans les taux de créatinine et d'urée. Cela indique que les extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* n'ont pas d'effet sur la fonction rénale.

Les résultats de l'observation microscopique et de l'analyse des coupes histologiques rénales des souris traitées avec les différents extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*, ont démontré une architecture rénale conforme à la normale. Aucune anomalie ou différence significative n'a été observée par rapport au groupe témoin. Ces constatations indiquent que l'administration des extraits n'a pas provoqué de changements visibles dans la structure des reins.

L'examen microscopique et l'analyse histologique des coupes pulmonaires de souris traitées avec les extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* n'ont révélé aucune anomalie ou différence significative par rapport au groupe témoin. Ces observations indiquent que l'administration des extraits n'a pas induit de changements discernables dans la structure pulmonaire.

L'analyse histologique du foie, des reins et des poumons a confirmé l'absence d'anomalies hépatiques, rénales ou pulmonaires chez les souris. Ces résultats attestent de l'absence de toxicité subaiguë à cette dose de l'extrait de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis*.

Les conclusions de notre étude confirment les constatations rapportées par Ghedira et Goetz., 2011, indiquent que *Oenothera biennis* ne présente pas de toxicité à un niveau tel qu'il serait possible d'atteindre la DL50 chez l'animal. Cela suggère que *Oenothera biennis* ne présente pas de risques toxiques majeurs dans les conditions de notre étude.

D'après Tasset-Cuevas et al. (2013), l'huile de graines de *Borago officinalis* s'est avérée non toxique, avec un taux de survie moyen de 80 %. De même, le GLA a démontré une non-toxicité à des concentrations entraînant un taux de survie de 99 %.

Une étude suggère que *V. agnus castus L* n'a pas présenté des signes de toxicité. Au contraire, il semble avoir un effet protecteur en réduisant les dommages pulmonaires, l'œdème, l'inflammation et les marqueurs biochimiques (**Ibrahim et al., 2018**). De plus, deux autres études ne signalent aucun effet indésirable ni toxicité associés à *V. agnus castus L* (**Kilicdag et al., 2004; Zamani et al., 2011**).

Cette étude vise à évaluer la toxicité subaiguë des extraits de *V. agnus castus L*, *Oenothera biennis* et *Borago officinalis* sur le foie, les reins et les poumons de souris. Les observations, les analyses biochimiques et les examens histologiques n'ont révélé aucune anomalie hépatique, rénale ou pulmonaire. Ces résultats confirment l'absence de toxicité subaiguë pour des doses de 2000 mg/kg, ce qui renforce la justification de leur utilisation traditionnelle et leur potentielle utilisation dans les bio médicaments

CONCLUSION

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales dans la gestion du cycle menstruel est une tradition ancestrale ancrée dans de nombreuses cultures à travers le monde, remontant à des siècles. Ces plantes, riches en composés phytochimiques, offrent une alternative naturelle aux approches pharmacologiques pour atténuer les désagréments liés aux menstruations. Leurs propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et régulatrices hormonales ont été largement étudiées, suscitant un intérêt croissant. Ceci s'explique en partie par le fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, tandis que les préoccupations liées aux effets secondaires des médicaments poussent les consommateurs à rechercher des solutions plus douces pour leur corps.

Dans cette optique, l'objectif de cette étude était de caractériser phytochimiquement et d'évaluer les activités biologiques et la toxicité de trois plantes médicinales spécifiques, à savoir *Vitex agnus castus* L, *Borago officinalis* L et *Oenothera biennis*. Le criblage phytochimique des extraits de ces plantes a permis de mettre en évidence la diversité des composés chimiques présents, allant des flavonoïdes aux alcaloïdes, en passant par les tanins galliques, les composés réducteurs, les coumarines, les hétérosides stéroïdiques et les saponosides.

En ce qui concerne les activités biologiques, les extraits ont démontré une remarquable activité anti-inflammatoire, notamment l'extrait de *Vitex agnus castus*, qui a affiché un taux élevé d'inhibition de la dénaturation du BSA. De plus, ces extraits ont montré leur capacité à lutter contre certaines bactéries, telles qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ainsi qu'à présenter une activité antifongique contre *Candida albicans* et *Aspergillus Niger*.

Pour le test de la toxicité aiguë réalisé sur des souris femelles avec des doses de 2000 mg/kg des extraits de *Vitex agnus castus* L, *Borago officinalis* L et *Oenothera biennis*, n'a engendré aucune mortalité. Aucune variation dans la prise du poids des souris n'est constatée. De plus, les extraits n'ont provoqué aucune modification des paramètres biochimiques et aucune indication de toxicité n'a été relevée lors des analyses histologiques réalisées.

Ces découvertes ouvrent des perspectives prometteuses pour le développement des compléments alimentaires à base de ces plantes en vue d'atténuer les douleurs menstruelles.

Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de cette étude ne constitue qu'une étape préliminaire de la recherche. Par conséquent, il est souhaitable de poursuivre et d'approfondir cette recherche à travers des études plus détaillées sur plusieurs aspects notamment clinique.

LES REFERENCES

Les références

Abd Nezhad, R., Simbar, M., Sheikhan, Z., et al. (2018). *Salvia officinalis* Reduces the Severity of the Premenstrual Syndrome. *Complementary Medicine Research*. <https://doi.org/10.1159/000490104>.

Adham, S. (2007). La dysménorrhée chez l'adolescente, enquête de prévalence dans la région de Marrakech. Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté de médecine et de pharmacie, Marrakech.

Ahangarpour, A., Najimi, S. A., & Farbood, Y. (2016). Effects of *Vitex agnus-castus* fruit on sex hormones and antioxidant indices in a d-galactose-induced aging female mouse model. *Journal of the Chinese Medical Association*, 79(11), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2016.05.006>.

Aissaoui, H., Algabr, M., Mezhoud, S., et al. (2016). Chemical constituents of *Vitex agnus-castus* (Verbenaceae). *Pharma Chemica*, 8(10), 491–494.

Ajiwe, V. I. E., Okeke, C. A., Ogbuagu, J. O., et al., (1998). Characterization and applications of oils extracted from *Canarium schweinfurtii*, *Vitex doniana* and *Xylopia aethiopica* fruits/seeds. *Bioresource Technology*, 64, 249-252.

Akindele, A. J., Adeneye, A. A., Salau, O. S., et al., (2014). Dose and time-dependent sub-chronic toxicity study of hydroethanolic leaf extract of *Flabellaria paniculata* Cav. (Malpighiaceae) in rodents. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 78.

Allais, D. (2008). Le gattilier. *Actualités Pharmaceutiques*, 47(479), 49-52.3

Alloun, K. (2019). Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de *Crithmum maritimum* L., de *Melissa officinalis* L. et de *Thymus palleescens* de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym (Thèse de doctorat en sciences agronomiques, École Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger).

Ambrin, Ghulam Dastagir, Jehan Bakht, et al. (2020). Antimicrobial and Phytochemical Evaluation of *Ziziphus mauritiana* var. *Spontanea* Edgew. and *Oenothera biennis* L. *Pakistan Journal of Zoology*, 52(5), 1809-1815. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20190428160433>.

Antolic, A., & Males, Z. (1997). Quantitative analysis of the polyphenols and tannins of *Vitex agnus castus* L. *Acta Pharm Zagreb*, 47, 207-211.

Arnal-Schnebelen, B. (2006). Le(s) syndrome(s) prémenstruel(s), place de l'huile d'onagre et de l'huile de bourrache. *Phytothérapie*, 4(S1), hs8- hs13. <https://doi.org/10.1007/s10298-006-0128-z>.

Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The chemical composition, botanical characteristic, and biological activities of *Borago officinalis*: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(Supplement 1), S22-S28.

Atmaca, M., Kumru, S., Tezcan, E., et al. (2003). Fluoxetine versus *Vitex agnus-castus* extract in the treatment of premenstrual dysphoric disorder. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 18(3), 191-195.

Bagad, Y. M., Umalkar, A. R., Tatiya, A. U., et Surana, S. J. (2011). Investigation of antiinflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*, 4 :5, 1326-132.

Bakr, R. O., Zaghoul, S. S., Hassan, R. et al (2020). Antimicrobial activity of *Vitex agnus-castus* Essential Oil and Molecular Docking Study of Its Major Constituents. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1727368>.

Barbakadze, V., Merlani, M., Gogilashvili, L., et al (2023). Antimicrobial Activity of Catechol-Containing Biopolymer Poly[3-(3,4-dihydroxyphenyl)glyceric Acid] from Different Medicinal Plants of Boraginaceae Family. *Antibiotics*, 12, 285.

Barnes, J., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (2007). *Herbal Medicines: A guide for healthcare professionals* (2nd ed.). Pharmaceutical Press.

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

Benlebbad K. (2017). *La Puberté Précoce*.Thèse de doctorat en médecine. Université Abou Bak Belkaid– Tlemcen.

Berger, D., Schaffner, W., Schrader, E., et al. (2000). Efficacy of *Vitex agnus castus* L. Extract Ze 440 in patients with pre- menstrual syndrome (PMS). *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 264(3), 150-153.

Biondi D, Cianci P, Geraci C, et al.1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour Fragr J* ,8:331–337.

Blondel Vendé, P. (2014). *La dysménorrhée de l'adolescente : à propos d'une enquête descriptive auprès de 907 lycéennes de l'agglomération rouennaise*. Médecine humaine et pathologie.

Botineau, M. (2011). *Guide des plantes médicinales*. Paris : Belin. (Collection des guides des fous de nature).

Boustal, D., & Ennabili, A. (2011). *L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc* (298p).

- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales* (4ème édition). Éditions TEC et DOC, Lavoisier, 790-792.
- Carmichael, A. (2007). Can *Vitex agnus castus* be used for the treatment of mastalgia? What is the current evidence? *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5, 247–250.
- CAZAU-BEYRET, N. (2013). *Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie* (Thèse pour le diplôme d'État de docteur en pharmacie). Université Toulouse III Paul Sabatier.
- Chabbert Buffet, N., Djakoure, C., Christin Maitre, S., et al. (1998). Regulation of the Human Menstrual Cycle. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 19, 151-186.
- Chabrier, J.-Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*. Sciences pharmaceutiques.
- Chantaranothai, P. (2011). A Revision of the Genus *Vitex* (Lamiaceae) in Thailand. *Tropical Natural History*, 11(2), 91-118.
- Christoffel, V., Splengler, B., Jarry, H., et al., (2002). Selective estrogenic activity of extracts BN 1095 from *Vitex agnus-castus* fruits. *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 335(1), 137.
- Christophe, A. (2014). *Limites et risques de la phytothérapie* (Thèse pour le diplôme d'État de docteur en pharmacie). Université de Limoges.
- Clere, N. (2010). Les dysménorrhées, quel conseil à l'officine? *Actualités Pharmaceutiques*, 49(495), 40- 41. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(10\)70676-5](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(10)70676-5)
- Colalto, C. (2017). What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice. *Phytotherapy Research*, 32(3), 413–425. <https://doi.org/10.1002/ptr.5977>
- Comeau, D. (2000). Le syndrome prémenstruel : Mythe ou réalité ? *Le Médecin du Québec*, 35(9), septembre 2000.
- Courbière, B., & Carcopino, X. (2016). *Gynécologie Obstétrique*. VG édition.
- Curini, M., Epifano, F., Genovese, S., et al., (2006). Fatty acids profile and antiinflammatory activity of *Nonea setosa* R. et S. *Phytotherapy Research*, 20, 422-423.
- Czajkowska, M., Droszol-Cop, A., Naworska, B., et al. (2020). The impact of competitive sports on menstrual cycle and menstrual disorders, including premenstrual syndrome, premenstrual dysphoric disorder and hormonal imbalances. *Journal Name*, 91(9), 503–512.
- Daniele, C., Thompson Coon, J., Pittler, M. H., et al. (2005). *Vitex agnus castus*. *Drug Safety*, 28(4), 319–332. <https://doi.org/10.2165/00002018-200528040-00004>.
- Daniele, C., Thompson, C. J., Pittler, M. H., et al., (2005). *Vitex agnus castus*: A systematic review of adverse events. *Drug Safety*, 28(4), 319-332.

- De Smet, P. (1993). *Borago officinalis*. In *Adverse Effects of Herbal Drugs 2* (pp. 147-152). Springer.
- Dirks J, van Aswegen CH, du Plessis DJ (1998) Cytokine levels affected by gamma-linolenic acid. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 59(4): 273–7.
- Du Mee, C. (1993). *Aust. J. Med, Herb*, 5, 63-65.
- Duraffourd, C., & Lapraz, J. C. (2002). *Traité De Phytothérapie Clinique: Médecine Et Endobiogénie*. Masson.
- Eidi, S., & Ghodrati Azadi, H. (2014). Comparative Evaluation of the Antifungal Activity of Borage (*Borago officinalis*) and *Camellia sinensis* (Green tea) leaves against various *Aspergillus* and *Candida* strains. *TBAP*, 4(1), 29-36.
- Eskin, N. M. (2008). Borage and evening primrose oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 651-654.
- Evans, W.C. (2009). *Trease and Evans' Pharmacognosy* (16th ed.). Elsevier Health Sciences. [E-book].
- Ferey, D. (2017). *Conseils du pharmacien en homéopathie, phytothérapie, aromathérapie, nutrithérapie*, 88 fiches pratiques. Maloine.
- Fintelmann, V., & Weiss, R. F. (2004). *Manuel pratique de phytothérapie*. Vigot Editions.
- Ganapaty, S., & Vidyadhar, K. N. (2005). Phytoconstituents and biological activities of *Vitex*. *J. Nat. Remedies*, 5(2), 75-95.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Lejeune, R. (2011). *Oenothera biennis* (Oenotheraceae ou Onagraceae) : Onagre. *Phytothérapie*, 9(4), 238- 243. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0648-z>.
- Gilani, A. H., Bashir, S., & Khan, A. (2007). Pharmacological basis for the use of *Borago officinalis* in gastrointestinal, respiratory and cardiovascular disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 393–399.
- Girman, A., Lee, R., & Kligler, B. (2003). An integrative medicine approach to premenstrual syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 188(5), S56-S65.
- Gowda, S., Desai, P. B., Kulkarni, S. S., et al., (2010). Markers of renal function tests. *North American Journal of Medical Sciences*, 2(4), 170-173.
- Graesslin, O., Dedecker, F., Gabriel, R., et al. (2004). Dysménorrhées. *EMC - Gynécologie-Obstétrique*, 1(2), 55- 67. <https://doi.org/10.1016/j.emcgo.2004.02.003>.
- Guil-Guerrero, J. L., López-Martínez, J. C., Gómez-Mercado, F., et al., (2006). Gammalinolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 43-47.

Gupta, M., & Singh, S. (2010). *Borago officinalis* LINN. An important medicinal plant of Mediterranean region: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(1), 27-34.

Habbab, A., Sekkoum, K., Belboukhari, N., et al. (2016). Essential Oil Chemical Composition of *Vitex agnus-castus* L. from Southern-West Algeria and Its Antimicrobial Activity. *Current Bioactive Compounds*, 12(1), 51–60.
<https://doi.org/10.2174/1573407212666160330152633>.

Haenggi-Bally, D. (2007). Le syndrome prémenstruel. *Forum Med Suisse*, 7, 834-838.

Hajdú, Z., Hohmann, J., Forgo, P., et al. (2007). Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy Research*, 21(4), 391–394.

Havel, R. J. (1969). Pathogenesis, differentiation and management of hypertriglyceridemia. *Advances in Internal Medicine*, 15, 117-154.

Hedayat, K. M., & Lapraz, J.-C. (2019). Menstrual cycle disorders. In *The Theory of Endobiogeny* (pp. 89-122). doi:10.1016/b978-0-12-816964-3.00005-5.

Herbinet, C. (2004). Les compléments alimentaires en phytothérapie (Thèse d'exercice, Université Henri Poincaré, Nancy). http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2004_HERBINET_CAROLINE.pdf

Hirobe, C., Qiao, Z. S., Takeya, K., et al. (1997). Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry*, 46, 521–524.

Hoberg, E., Sticher, O., Orjala, J. E., et al. (1999). Diterpene aus *Agnicasti fructus* und ihre Analytik. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 20, 140–158.

Hodgson, E. A. (2004). *Textbook of Modern Toxicology* (3rd ed.). Wiley Interscience.

Hu, Y., Hou, T. T., Zhang, Q. Y., et al., (2007). Evaluation of the estrogenic activity of the constituents in the fruits of *Vitex rotundifolia* L. for the potential treatment of premenstrual syndrome. *Journal of Pharmacology*, 59, 1307-1312.

Huddleston, M., & Jackson, E. A. (2001). Is an extract of the fruit of *Agnus castus* (chaste tree or chasteberry) effective for prevention of symptoms of premenstrual syndrome (PMS)? *Journal of Family Practice*, 50(4), 298.

Hussain, S. (2011). Patient Counseling about Herbal-Drug Interactions. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(5S).

Ibrahim, S. R. M., Ahmed, N., Almalki, S et al., (2018). *Vitex agnus-castus* safeguards the lung against lipopolysaccharide- induced toxicity in mice. *Journal of Food Biochemistry*.

- Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins (2e édition). Larousse.
- Johannes, C. B., & Sybil L. Crawford. (1999). Menstrual Bleeding, Hormones, and the Menopausal Transition. 17(4).
- Kanodia, L., & Swarnamoni, D. (2008). A comparative study of analgesic property of whole plant and fruit extracts of *Fragaria vesca* in experimental animal models. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4, 35–38.
- Kasonia, K. K. M. S. (1991). Pharmacopée vétérinaire traditionnelle: Étude de VITEX THOMASII De Wild, Mémoire de D.E.S, Unilu, Lubumbashi.
- Katirae, F., Mahmoudi, R., Tahapour, K., et al. (2015). Biological Properties of Vitex agnus-castus Essential Oil (Phytochemical Component, Antioxidant and Antifungal Activity). *Biotech Health Sci.*, 2(2), e26797. <https://doi.org/10.17795/bhs-26797>.
- Kenda, M., Glavač, N. K., Nagy, M., et al. (2021). Herbal Products Used in Menopause and for Gynecological Disorders. *Molecules*, 26(24), 7421. <https://doi.org/10.3390/molecules26247421>.
- Kilicdag, E. B., Tarim, E., Bagis, T., Erkanli, S., et al. (2004). Fructus agni casti and bromocriptine for treatment of hyperprolactinemia and mastalgia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 85, 292-293.
- Knorr R, Hamburger M (2004) Quantitative analysis of antiinflammatory and radical scavenging triterpenoid esters in evening primrose oil. *J Agric Food Chem* 52(11): 3319–24.
- Kuruüzüm-Uz, A., Ströch, K., Demirezer, L. O., et al. (2003). Glucosides from Vitex agnus-castus. *Phytochemistry*, 63, 959–964.
- Lacombe, M. (2009). Le Lacombe : Précis d'anatomie et physiologie humaine (30e éd., p. 164). IFSI.
- Lacoste, S. (2021). D'ici ou d'ailleurs, les plantes qui guérissent. Édition Talantikit.
- Lansac, J., & Evrard, N. (2013). Le grand livre de la gynécologie. Eyrolles.
- Laurant-Berthoud, C., Mollet, C., Quémoun, A.-C., et al. (2016). Les savoirs traditionnels. In *Du bon usage des plantes médicinales: 57 plantes et leur meilleure forme galénique*. Saint-Julien-en-Genevois, Suisse : Editions Jouvence.
- Lauritzen, C., Reuter, H. D., Repges, R., et al. (1997). Treatment of premenstrual tension syndrome with Vitex agnus castus: Controlled, double-blind study versus pyridoxine. *Phytomedicine*, 4(3), 183-189.

Limonier, A.-S. (2018). La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. Sciences pharmaceutiques.

Loch, E. G., Selle, H., & Boblitz, N. (2000). Treatment of premenstrual syndrome with a phytopharmaceutical formulation containing *Vitex agnus castus*. *Journal of Women's Health & Gender-Based Medicine*, 9(3), 315-320.

Lozano-Baena, M.-D., Tasset, I., Muñoz-Serrano, A., et al. (2016). Cancer Prevention and Health Benefits of Traditionally Consumed *Borago officinalis* Plants.

Ma, L., Lin, S., Chen, R., et al. (2010). Evaluating therapeutic effect in symptoms of moderate- to- severe premenstrual syndrome with *Vitex agnus castus* (BNO 1095) in Chinese women. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 50(2), 189-193.

Mach, F., Marchandin, H., & Bichon, F. (2021). Les dysménorrhées, des troubles qui altèrent la qualité de vie. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), 42- 45. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2021.01.013>.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques, 192 p.

Males, Z., Blazević, N., & Antolić, A. (1998). The essential oil composition of *Vitex agnus-castus* f. *rosea* leaves and flowers. *Planta Medica*, 64, 286–287.

Maltaş, E., Uysal, A., Yıldız, S., et al. (2010). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Vitex agnus-castus* L. *PSP (Pharmaceutical Sciences & Research)*, 19(12b).

Mari, A., Montoro, P., D'Urso, G., et al. (2015). Metabolic profiling of *Vitex agnus castus* leaves, fruits and sprouts: Analysis by LC/ESI/(QqQ) MS and (HR) LC/ESI/(Orbitrap)/MSn. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 102, 215-221.

Marieb, E. N. (2008). *Biologie humaine : Principes d'anatomie et de physiologie* (8e éd.). Nouveaux Horizons.

Marieb, E. N., & Hoehn, K. (2019). *Anatomie et physiologie humaine* (11e éd.). Nouveaux Horizons.

Marieb, E., & Kaller, S. (2020). *Biologie humaine : Principe d'anatomie et de physiologie* (12e éd., p. 602). ERPI.

Masure, C. (2018). Le gattilier (*Vitex agnus castus* L.) : intérêt et utilisation dans le syndrome prémenstruel. *Sciences Pharmaceutiques*.

Matsuo N, Osada K, Kodama T, et al. (1996) Effects of gammalinolenic acid and its positional isomer pinolenic acid on immune parameters of brown-Norway rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 55(4): 223–9.

- Merviel, P., Cabry, R., Brzakowski, M., et al. (2011). Cycle menstruel. EMC - Gynécologie, 6(1), 1- 17. [https://doi.org/10.1016/S0246-1064\(11\)43083-8](https://doi.org/10.1016/S0246-1064(11)43083-8).
- Mihm, M., Gangooly, S., Muttukrishna, S., et al. (2011). The normal menstrual cycle in women. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 229-236.
- Milewicz, A., Gejdel, E., Swøren, H., et al. (1993). Vitex agnus castus-Extrakt zur Behandlung von Regeltempoanomalien infolge latenter Hyperprolaktinämie [Vitex agnus castus extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinaemia. Results of a randomized placebo-controlled double blind study.]. *Drug Research*, 43, 752–756.
- Monnier, C. (2002). *Les plantes médicinales, vertus et traditions* (p. 156). Privat.
- Mouffouk S., Mouffouk CH, Bensouici CH., et al.,(2020). In vitro cytotoxic effect, hemolytic and antioxidant activities of the Algerian species *Nonea vesicaria* Rchb. *Current Bioactive Compounds* 16(8).
- Munoz SE, Piegari M, Guzman CA, et al., (1999) Differential effects of dietary *Oenothera*, *Zizyphus mistol*, and corn oils, and essential fatty acid deficiency on the progression of a murine mammary gland adenocarcima. *Nutrition* 15(3): 208–12.
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., et al., (2006). Ethnobotanical survey of medicinal plants commonly used by Kani tribals in Tirunelveli hills of Western Ghats, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-43>.
- Naghdi, B. H., Soroshzadeh, A., Rezazadeh, S. A., et al., (2008). Evaluation of Phytochemical and Production Potential of Borage (*Borago officinalis* L.) During the Growth Cycle. *Journal of Medicinal Plants*, 7(4), 7-43.
- Niroumand, M. C., Heydarpour, F., & Farzaei, M. H. (2018). Effets pharmacologiques et thérapeutiques de *Vitex agnus-castus* L.: A review. *Revue de pharmacognosie*, 12(23).
- Novokowsky, C. (2020). Le SPM Approches naturelles et options de suppléments. *Naturopathic Currents*, 80, Article 5.
- Nyiligira, E., Viljoen, A. M., Van Heerden, F. R., et al. (2008). Phytochemistry and in vitro pharmacological activities of South African *Vitex* (Verbenaceae) species. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 680–685. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.004>.
- Olorunnisola, O. S., Bradley, G., & Afolayan, A. J. (2012). Acute and subchronic toxicity studies of methanolic extract of *Tulbaghia violacea* rhizomes in Wistar rats. *African Journal of Biotechnology*, 11(83), 14934-14940.
- Ono, M., Eguchi, K., Konoshita, M., Furusawa et al. (2011). A New Diterpenoid Glucoside and Two New Diterpenoids from the Fruit of *Vitex agnus-castus*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 59(3), 392–396. <https://doi.org/10.1248/cpb.59.392>.

- Paris, R., & Moyses, H. (1965). Matière médicale. Tome I. Masson et Cie éd.
- Pebret, F. (2003). Anatomie physiologie pharmacologie générale (6e éd., p. 215). Heure de France.
- Pelt, J.-M. (1980). Les drogues, leur histoire, et leur effet. Edition Doin.
- Pinkerton, J. V. (2023, janvier). Disménorrhée. Dans Le Manuel MSD pour les professionnels. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/gyn%3%A9cologie-et-obst%3%A9trique/troubles-menstruels/dysm%3%A9norrh%3%A9e>.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., et al. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7).
- Posadzki, P., Watson, L. K., & Ernst, E. (2013). Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews. *Clinical Medicine*, 13(1), 7–12.
- Rachel H. Foster, Gil Hardy., & Raid G. Alany. (2010). Borage oil in the treatment of atopic dermatitis. *Nutrition*, 26, 708–718.
- RADJAH, A. (2020). Valorisation et identification phytochimique des principes actifs de quelques plantes médicinales de la région de Biskra (Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat LMD, option : Valorisation et conservation des ressources naturelles). Université Mohamed Kheider - Biskra.
- Ramalingam R., Madhavi B.B., Nath A.R., et al., (2010). In vitro antidenaturation and antibacterial activities of *Zizyphus oenoplia*. *Der Pharmacia Lettre* 2 (1), 87-9.
- Rani, A., & Sharma, A. (2013). The genus *Vitex*: A review. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 188. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.120522>.
- Rapkin, A. J. (2003). A review of treatment of premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 28(Suppl 3), 39-53.
- Ratz-Lyko, A., Herman, A., Arct, J., et al., (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis*, and *Nigella sativa* seedcake extracts. *Food Science and Biotechnology*, 23(4), 1029-1036. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0140-2>
- Reed, B. G., & Carr, B. R. (2000). The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. PubMed. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>.
- Roemheld-Hamm, B. (2005). Chasteberry. *American Family Physician*, 72, 821-824.
- Saleem, U., Amin, S., Ahmad, B., et al. 2017. Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja* Roxb. roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicology reports*, 4(2017), 580-585.

- Sangeetha M , Kousalya M, Lavanya R, et al,. (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of Leaves of CleodendronInerme.RJPBCS Volume 2 (1): 822-827.
- Sarac, N., Ugur, A., & Sen, B. (2015). In vitro anti-mutagenic activity of Vitex agnus castus L. essential oils and ethanolic extracts. *Industrial Crops and Products*, 63, 100-103.
- Sarni-manchado, P., & Veronique, C. (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires. TEC et DOC, Paris, France, (p.398).
- Schaffler, A., & Menche, N. (2004). Anatomie Physiologie Biologie (2e éd., p. 391). MALOINE.
- Schwegler, J., & Lucius, R. (2013). Le corps humain : Anatomie et physiologie (p. 384). MALOINE.
- Shahidi, F. (Ed.). (2006). Nutraceutical and Specialty Lipids and their Co-Products (1st ed.).
- Sheng-Hong, L., Hong-Jie, Z., Sheng-Xiang, Q., et al. (2002). Vitexlactam A, a novel labdane diterpene lactam from the fruits of Vitex agnus-castus. *Tetrahedron Letters*, 43(29), 5131–5134.
- Sherwood, L. (2013). Physiologie humaine (2e éd., 6e tirage, p. 609). De Boeck.
- Shirvani, M. A., Motahari-Tabari, N., & Alipour, A. (2014). The effect of mefenamic acid and ginger on pain relief in primary dysmenorrhea: a randomized clinical trial. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 291(6), 1277–1281. <https://doi.org/10.1007/s00404-014-3548-2>.
- Stojkovic, D., Sokovic, M., & Glamoc̃lija, J. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Vitex agnus-castus L. fruits and leaves essential oils. *Food Chemistry*, 128, 1017–1022.
- Taiwo, O., Xu, H. X., & Lee, S. F. (1999). Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. *Phytotherapy Research*, 13(8), 675-679.
- Tasset-Cuevas, I., Fernández-Bedmar, Z., Lozano-Baena, M. D., et al,. (2013). Protective Effect of Borage Seed Oil and Gamma Linolenic Acid on DNA: In Vivo and In Vitro Studies. *PLoS ONE*, 8(2), e56986. doi:10.1371/journal.pone.0056986
- Timoszuk, M., Bielawska, K., & Skrzydlewska, E. (2018). Evening Primrose (*Oenothera biennis*) Biological Activity Dependent on Chemical Composition. *Antioxidants*, 7(8), 108.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2016). Manuel d'anatomie et de physiologie humaines (2e éd., pp. 646-665). DEBOECK supérieur.
- Tracy, T. S., & Kingston, R. L. (Eds.). (2007). Herbal Products. *Forensic Science and Medicine*. <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-383-7>.

Velasco, L., & Goffman, F. D. (1999). Chemotaxonomic significance of fatty acids and tocopherols in Boraginaceae. *Phytochemistry*, 52, 423-426.

Verkaik, S., Kamperman, A. M., van Westrhenen, R., et al. (2017). The treatment of premenstrual syndrome with preparations of *Vitex agnus castus* : a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 217(2), 150–166. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.02.028>.

Waugh, A., & Grant, A. (2014). *Ross and Wilson anatomy & physiology in health and illness* (12th edition). Churchill Livingstone Elsevier.

Weisz, G., & Knaapen, L. (2009). Diagnosing and treating premenstrual syndrome in five Western Nations. *Social Science & Medicine*, 68(8), 1498-1505.

Westphal, L. M., Polan, M. L., & Trant, A. S. (2006). Double-blind, placebo-controlled study of Fertility Blend: A nutritional supplement for improving fertility in women. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, 33(4), 205-208.

WHO (2002) Monographs on selected medicinal plants, vol. II. World Health Organization, Geneva, pp. 223.

Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* (2ème édition). TEC & DOC.

Widmaier, E. P., Raff, H., & Strang, K. T. (2013). *Physiologie humaine* (6e éd.). Chenelière Éducation.

Wu, H., Zhang, X., Li, X., Wu, Y., & Pei, F. (2005). Acute biochemical effects of La (NO₃)₃ on liver and kidney tissues by magic-angle spinning 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy and pattern recognition. *Analytical biochemistry*, 339(2), 242-248.

Wuttke, W., Jarry, H., Christoffel, B., et al. (2003). Chaste tree (*Vitex agnus-castus*) - pharmacology and clinical indications. *Phytomedicine*, 10, 348–357.

Yaghmour, R., Garajah, M., Kayali, I., et al. (2021). Antioxidant, Antimicrobial and Formulation of Borage (*Borago officinalis*) Seeds Oil and Leaves Extracts as Microemulsion. Volume 33, Issue 55A, Pages 136-148.

Yoshimoto-Furuie K, Yoshimoto K, Tanaka T, et al. (1999) Effects of oral supplementation with evening primrose oil for six weeks on plasma essential fatty acids and uremic skin symptoms in hemodialysis patients. *Nephron* 81(2): 151–9.

Zaafrane, F., Faleh, R., Melki, W., et al. (2007). Le syndrome prémenstruel : Revue générale. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 36(7), 642- 652. <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2007.01.007>

Les références

Zamani, M., Neghab, N., & Torabian, S. (2011). Therapeutic effect of *Vitex agnus castus* in patients with premenstrual syndrome. *Acta Med Iran*, 50, 101-106.

Zaugg J, Potterat O, Plescher A, et al. (2006) Quantitative analysis of anti-inflammatory and radical scavenging triterpenoid esters in evening primrose seeds. *J Agric Food Chem* 54(18): 6623–8.

Ziboh VA, Yun M, Hyde DM, Giri SN (1997) Gamma-linolenic acid-containing diet attenuates bleomycin-induced lung fibrosis in hamsters. *Lipids* 32(7): 759–67.

Résumé

Résumé

L'objectif principal de ce travail est l'étude phytochimique, biologique et toxicologique de trois extraits hydrométanolique : l'extrait de *Vitex agnus castus L*, l'extrait *Borago officinalis L* et l'extrait *Oenothera biennis*.

L'analyse phytochimique a révélé la présence de divers groupes de composés, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins galliques, des composés réducteurs, des coumarines, des hétérosides stéroïdiques et des saponosides. De plus, nous avons évalué les activités biologiques de ces extraits, notamment leur capacité anti-inflammatoire et anti-microbiennes. Les résultats ont montré des taux d'inhibition significatifs de la dénaturation du BSA, avec des pourcentages allant jusqu'à 96,99 % pour l'extrait de *Vitex agnus castus*, 70,11 % pour l'extrait de *Borago officinalis L* et 72,81 % pour l'extrait d'*Oenothera biennis*. Les activités antifongiques ont également été observées, avec des zones inhibitrices notables contre *Candida albicans* et *Aspergillus Niger*. En revanche, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium sp* n'ont pas montré de réponse significative à ces extraits. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'extrait de *Vitex agnus-castus* a présenté des zones d'inhibition de (10 mm) pour *Escherichia coli* et (14 mm) pour *Staphylococcus aureus* à la concentration la plus élevée. L'extrait d'*Oenothera biennis* a montré une zone d'inhibition de (13,5 mm) contre *E. coli* et (10,5) mm contre *S. aureus* à la concentration maximale, tandis que l'extrait de *Borago officinalis L* a manifesté une activité contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de (12,5 mm), bien que non active contre *E. coli*. Ensuite dans le but d'évaluer l'effet potentiel des extraits de *Vitex agnus castus L*, *Borago officinalis L* et *Oenothera biennis*, des analyses de toxicité *in vivo* ont été effectuées sur des souris femelles, administrées à une dose maximale de 2000 mg/kg. Ces études ont révélé l'absence de décès, de variations de poids significatives et d'altérations des paramètres biochimiques. De plus, l'observation histologique des organes testés a confirmé l'absence totale d'effet toxique lié à ces trois plantes. En effet, les résultats de nos travaux nous incitent à nous orienter davantage vers l'utilisation des plantes médicinales pour le développement d'un complément alimentaire pour la gestion des troubles menstruels.

Les mots clés : *Vitex agnus castus L* , *Borago officinalis L* , *Oenothera biennis* , activités antimicrobiennes , activités anti-inflammatoire

Abstract

The main objective of this work is the phytochemical, biological and toxicological study of three hydrometanolic extracts: *Vitex agnus castus L*, *Borago officinalis L* and *Oenothera biennis*.

Phytochemical analysis revealed the presence of various groups of compounds, including flavonoids, alkaloids, gall tannins, reducing compounds, coumarins, steroidal heterosides and saponosides. In addition, we evaluated the biological activities of these extracts, notably their anti-inflammatory and anti-microbial capacity. The results showed significant inhibition rates of BSA denaturation, with percentages of up to 96.99% for *Vitex agnus castus* extract, 70.11% for *Borago officinalis L* extract and 72.81% for *Oenothera biennis* extract. Antifungal activities were also observed, with notable inhibitory zones against *Candida albicans* and *Aspergillus Niger*. In terms of antibacterial activity, *Vitex agnus-castus* extract showed inhibition zones of (10 mm) for *Escherichia coli* and (14 mm) for *Staphylococcus aureus* at the highest concentration. *Oenothera biennis* extract showed a zone of inhibition of (13.5 mm) against *E. coli* and (10.5) mm against *S. aureus* at the highest concentration, while *Borago officinalis L* extract showed activity against *S. aureus* with a zone of inhibition of (12.5 mm), although not active against *E. coli*. In order to assess the potential effect of *Vitex agnus castus L*, *Borago officinalis L* and *Oenothera biennis* extracts, *in vivo* toxicity tests were carried out on female mice, administered at a maximum dose of 2000 mg/kg. These studies revealed no deaths, no significant weight changes and no alterations in biochemical parameters. Moreover, histological observation of the organs tested confirmed the total absence of toxic effects associated with these three plants. Indeed, the results of our work encourage us to focus more on the use of medicinal plants for the development of a dietary supplement for the management of menstrual disorders.

Key words: *Vitex agnus castus L* , *Borago officinalis L* , *Oenothera biennis* , antimicrobial activities , anti-inflammatory activities

الملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو الدراسة الكيميائية النباتية والبيولوجية والسمية لثلاثة مستخلصات هيدروميتانولية: مستخلص *Vitex agnus castus L*، مستخلص *Borago officinalis L* ومستخلص *Oenothera*

biennis

كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود مجموعات مختلفة من المركبات بما في ذلك flavonoïdes و alcaloïdes و tanins galliques و composés réducteurs و coumarines و hétérosides و saponosides و stéroïdiques . بالإضافة إلى ذلك، قمنا بتقييم الأنشطة البيولوجية لهذه المستخلصات، بما في ذلك خصائصها المضادة للالتهابات والمضادة للميكروبات. أظهرت النتائج معدلات تثبيط كبيرة لتمسخ BSA، بنسب تصل إلى 96.99% لمستخلص *Vitex agnus castus*، و 70.11% لمستخلص *Borago officinalis L* و 72.81% لمستخلص *Oenothera biennis*. كما لوحظت أنشطة مضادة للفطريات، مع وجود مناطق مثبطة ملحوظة ضد *Aspergillus Niger* و *Candida albicans*. في المقابل، لم يظهر *Fusarium oxysporum* و *Penicillium sp* استجابة كبيرة لهذه المستخلصات. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، أظهر مستخلص *Vitex agnus-castus* مناطق تثبيط (10 مم) للإشريكية القولونية و (14 مم) للمكورات العنقودية الذهبية بأعلى تركيز. أظهر مستخلص *Oenothera biennis* منطقة تثبيط (13.5 ملم) ضد *E. coli* و (10.5) ملم ضد

S. aureus عند أقصى تركيز، في حين أظهر مستخلص *Borago officinalis L* نشاطاً ضد *S. aureus* مع منطقة تثبيط (12.5 ملم)، على الرغم من عدم نشاطه ضد *E. coli*. ومن أجل تقييم الأثر المحتمل لمستخلصات *Vitex agnuscastus L* و *Borago officinalis L* و *Oenothera biennis*، أجريت اختبارات للسمية في الجسم الحي على إناث الفئران، أعطيت بجرعة قصوى قدرها 2000 ملغم/كغ. كشفت هذه الدراسات عن عدم وجود وفيات، ولا تغييرات كبيرة في الوزن ولا تغييرات في المعلمات الكيميائية الحيوية. علاوة على ذلك، أكدت المراقبة النسيجية للأعضاء التي تم اختبارها الغياب التام للتأثيرات السامة المرتبطة بهذه النباتات الثلاثة. في الواقع، تشجعنا نتائج عملنا على التحرك أكثر نحو استخدام النباتات الطبية لتطوير مكمل غذائي لإدارة اضطرابات الدورة الشهرية.

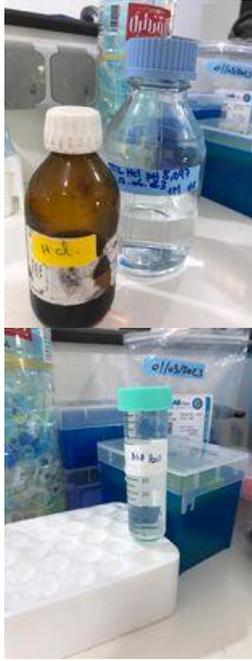
الكلمات الرئيسية: *Vitex agnus castus L*، *Borago officinalis L*، *Oenothera biennis*، الأنشطة

المضادة للميكروبات، الأنشطة المضادة للالتهابات.

ANNEXE

Annexe:

<p>Screening phytochimique</p>	<p>Nacl Fecl3 NaOH Chloroforme Anhydride acétique Hcl concentré</p>	
---	---	---

<p>Activité anti-inflammatoire</p>	<p>HCL BSA</p>	 <p>A photograph of a laboratory bench. In the foreground, there is a brown glass bottle with a white cap and a yellow label, and a clear plastic bottle with a blue cap. In the background, there are various laboratory supplies, including a white multi-well plate and a blue container.</p>
<p>Activité antimicrobienne</p>	<p>Gélose Mueller-Hinton (MHA) Milieu Sabouraud dextrose agar Gélose Nutritive Boîtes de pétries Solution Mc-Farland Ethanole <i>E. colie</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus Niger</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Penicillium sp</i></p>	 <p>A composite of three photographs related to microbiology. The top photo shows two bottles of agar media on a lab bench. The middle photo shows a hand pouring liquid from a bottle into a petri dish. The bottom photo shows a hand holding a petri dish with a red agar surface, with several other petri dishes containing different microbial cultures on a lab bench.</p>

<p>La toxicité</p>	<p>Formole Chloroforme Tubes hépraliné Tubes Eppendorf Flacons en verre</p>	
---------------------------	--	--