

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Frères Mentouri – Constantine



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

N° d'ordre :.....

Série :

THESE

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en Sciences
En Biochimie Option Pharmaco-chimie

Thème

Etude phytochimique et pharmacologique de deux plantes appartenant à la
famille des Astéraceae et Fabaceae.

Cas de : *Onopordum acanthium L.* et *Spartium junceum L.*

Présentée par : Mr. HABIBATNI Sofiane

Membres de jury :

Président: LALAOUI Korichi Professeur Université des Frères Mentour. Constantine 1

Directrice: ZAMA Djamila Professeur Université des Frères Mentouri. Constantine 1

Co-Directeur: BENAYACHE Samir Professeur Université des Frères Mentouri. Constantine 1

Examineurs: ZELAGUI Ammar Professeur Université Larbi BenMhidi. OEG

BOUDAH Abd El Nacer Professeur Ecole National Supérieure Biotechnologie

GHERAF Noureddine Professeur Larbi BenMhidi. OEG

Année universitaire 2017-2018

Remerciements

En premier lieu et avant tout je tiens à remercier ALLAH le tout puissant qui ma donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Une grande part de ma reconnaissance s'adresse à ma directrice de recherche, **M^{me} la Professeure. ZAMA Djamila**, département de biologie Université Mentouri. J'ai hautement apprécié la motivation de chercheur qu'elle a su m'inculquer ainsi que l'ingéniosité et la persévérance. Je suis très sensible à l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ma thèse et pour la grande autonomie qu'elle m'a accordée. J'espère être à la hauteur de sa confiance et de ses espérances...

Je tiens à remercier mon co-directeur de thèse Mr. le **Pr. BENAYACHE Samir**, qui a bien voulu m'encadrer et m'accueillir dans son laboratoire et dans son équipe pendant ce projet et de m'avoir donné la chance de réaliser un projet dans un domaine qui ne m'était pas vraiment familier et dans lequel j'ai beaucoup appris. Sans sa confiance et ses encouragements, le projet n'aurait jamais pu s'achever. Il s'est d'autant plus investi, qu'il m'a permis d'acquérir une expérience unique de recherche en phytochimie. De plus, le **Pr. BENAYACHE Samir** m'a soutenu durant tout ce projet par ses conseils et son optimisme. L'ambiance qu'il fait régner dans son laboratoire a de plus grandement contribué au maintien de ma motivation et au plaisir de travailler avec lui. Je vous remercie pour vos conseils et vos encouragements constants, qui m'ont permis de conduire cette recherche à son terme malgré certains moments de découragement.

Une partie de cette thèse a été réalisée au laboratoire de Scienze del Farmaco e Prodotti per la Salute Department, University of Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italy, dirigé par la **Pr. RITA DE Pasquale** et au laboratoire de valorisation des ressources naturelles et synthèse de substances bioactives, Université Mentouri Constantine, dirigé par le **Pr. BENAYACHE Samir** ainsi qu'au laboratoire de chimie des substances bioactives (CRBT. Constantine) en collaboration avec le Docteur chercheur **BENSOUICI Chawki**, que je tiens à le remercier pour sa contribution dans la réalisation de l'étude in vitro.

Je suis très honoré à remercier de la présence à mon jury de thèse :

Monsieur le Professeur Mr LALAOUI Korichi en sa qualité de président de jury, (Université des Frères Mentouri), J'ai le grand privilège que vous présidiez mon jury de soutenance de thèse. Je vous remercie pour l'importance que vous attachiez à mes travaux. Veuillez agréer l'expression de mon profond respect.

Monsieur le Professeur ZELAGUI Ammar (Université. Larbi BenMhidi. OMK), Je suis très ravi de votre présence au sein du jury. Je vous remercie pour les commentaires que vous tenterez d'avancer et qui me seront bénéfiques. Je vous exprime ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur GHERAF Noureddine Professeur (Larbi BenMhidi. OMK). C'est un grand honneur pour moi que vous soyez présent à ma soutenance de thèse. Votre possible intervention me sera d'une grande utilité. Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements et de mon respect.

Monsieur le Professeur BOUDAH Abd El Nacer Professeur Ecole National Supérieure Biotechnologie. Je vous remercie fortement d'avoir accepté de porter un jugement à mon travail scientifique. Je tiens personnellement à vous assurer de ma profonde gratitude.

Je ne serais pas arrivé jusque là sans l'aide de l'équipe de laboratoire de Scienze del Farmaco e Prodotti per la Salute en particulier, Pr. **RITA DE Pasquale, Natalizia Miceli, Maria Fernanda Taviano, Giovanna Ginestra, Luigina P. Buongiorno, Giuseppe Paterniti Mastrazzo, Salvatore arena, Paterniti Antonio, Carlo Bisignano, Francesco Cacciola, Margita Utczas, Luigi Mondello, Sirajudheen Anwar, Yucef Abu Samra Hanini**. Je les remercie pour la qualité de leurs conseils, pour leur disponibilité et pour leur investissement constant.

Cette recherche de longue durée n'aurait pu se faire sans l'appui financier de Scienze del Farmaco e Prodotti per la Salute Department, University of Messina, ni sans la bourse de coopération Algéro-Italienne. Tous ces donateurs m'ont permis d'acheminer cette recherche à l'abri des inquiétudes monétaires.

Dédicaces

Je dédie cette thèse :

A la mémoire des absents

Mon père, mon grand père et mes oncles paternels et maternels

Qui m'ont enseigné les valeurs de la vie

Et m'écoutent aujourd'hui

Dans le grand silence où ils reposent

Que la terre leur soit légère

Que leurs âmes soient parmi les élus

A ma mère, qui décréta l'enfance saison perpétuelle

Et empoigna le feu de ses doigts décidés

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que je ressens envers toi, Maman, vos conseils et bénédictions n'ont jamais fait défaut. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma très chère épouse qui a accepté la charge de nos enfants durant cette longue et difficile épreuve !!

Que vous dire, mes chers enfants, Amira, Yasser et Amani, vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir, me reconforter et m'encourager dans les moments de doute... Tous les mots ne suffiraient pas... Sans vous, rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour, ce modeste travail doit vous servir d'exemple pour réussir et faire mieux que votre maman; Je vous aime...

Egalement, je remercie ma famille, ma mère, mes grands-parents, mes frères Riadh, Issam, Houssam, mes sœurs ; Meriam, Samira et Mouna pour leur soutien.

À cette question tabou que vous ne pouviez vous empêcher de me poser « alors ta thèse, c'est pour quand ??? », et bien je vous réponds « je crois que ça y est ! »

En terminant, je souhaite démontrer ma plus sincère gratitude en particulier au **Professeur A-Hafid HAMIDECHI** (Université des Frères Mentouri. Constantine) pour l'étude Statistique, **Docteur Mostafa BENZAADA** (Université de Khenchela) pour ses conseils et ses correctifs nécessaires et à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet, à savoir !!!

Merci à tous

Aux chers qui nous ont quittés trop tôt pour assister à l'aboutissement de mon parcours qui lui procurait tant de fierté... Mon bien aimé père Ali qui avait souhaité vivre le grand jour, hélas la volonté de Dieu a été tout autre...

Liste des Figures

Figure 1.	Mécanisme d'action des AINS .	4
Figure 2.	Schéma d'une coupe transversale de moelle épinière représentant les différentes couches (I à X) ainsi que les fibres sensorielles en relation avec celles-ci	6
Figure 3.	Structures chimiques de quelques anti-inflammatoires stéroïdien.	8
Figure 4.	Structure chimique de certains AINS et noms commerciaux.	9
Figure 5.	Communication entre lymphocytes et macrophages et d'autres composants du système immunitaire.	11
Figure 6.	Les inducteurs de l'inflammation.	13
Figure 7.	Diapédèse leucocytaire et polynucléaires neutrophiles	14
Figure 8.	Diagramme général de la réaction inflammatoire.	17
Figure 9.	Balance radicaux libres/antioxydants.	18
Figure 10.	Les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (ROS et RNS) et leurs sources de facteurs endogènes et environnementaux.	21
Figure 11.	Régénération du tocophérol (vit. E) par l'acide ascorbique (vit. C)	24
Figure 12.	Formation d'une structure quinone stable.	25
Figure 13.	Structure de quelques antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol, acide ascorbique, α -Tocophérol, acide caféique et quercétine	26
Figure 14.	Peroxydation lipidique.	27
Figure 15.	Oxydation d'une base purine.	28
Figure 16.	La feuille et fleur de <i>O. acanthium</i> .	30
Figure 17.	Les tiges et fleurs de <i>S. junceum</i> .	33
Figure 18.	Protocole d'extraction du matériel végétal.	36
Figure 19.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait n-BuOH des feuilles d' <i>O. acanthium</i>	47
Figure 20.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait AcOEt des feuilles d' <i>O. acanthium</i>	47
Figure 21.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait CHCl ₃ des feuilles d' <i>O. acanthium</i>	48
Figure 22.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait BuOH des Tiges de <i>S. junceum</i>	48
Figure 23.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait AcOEt des Tiges de <i>S. junceum</i> .	49
Figure 24.	Chromatogramme d'HPLC de l'extrait CHCl ₃ des Tiges de <i>S. junceum</i>	49
Figure 25.	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	52
Figure 26.	Courbe d'étalonnage de Quercétine pour le dosage des Flavonoïdes totaux.	54
Figure 27.	Comparaison de la teneur en flavonoïdes des différentes parties des deux plantes étudiées « μ g EQ/mg ».	55
Figure 28.	Activité anti-radicalaire du DPPH : IC ₅₀ des extraits d' <i>O. acanthium</i> et de <i>S. junceum</i> .	56
Figure 29.	IC ₅₀ des extraits d' <i>O. acanthium</i> et <i>S. junceum</i> testés.	58
Figure 30.	Pouvoirs réducteurs des extraits d' <i>O. acanthium</i> et de BHT et BHA.	63
Figure 31.	Pouvoirs réducteurs des extraits de <i>S. junceum</i> et de BHA	63
Figure 32.	Test de la capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits des feuilles et des fleurs d' <i>O. acanthium</i> .	64
Figure 33.	Test de la capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits des fleurs et des tiges de <i>S. junceum</i> .	65
Figure 34.	Evolution de l'œdème des rats traités par la carragénine.	68

Figure 35. Activité antipyrétique de l'Aspirine (500mg/Kg) et de l'extrait d' *O. acanthium* à 100 et 300 mg/Kg comparée à celle contrôle négatif.

77

Liste des Tableaux

Tableau 1. Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire.	16
Tableau 2: Rendement des extractions	46
Tableau 3. Résultats des tests phytochimiques des extraits méthanoliques et butanoliques des feuilles d' <i>O. acanthium</i> et les tiges de <i>S. junceum</i> .	51
Tableau 4. Quantité des polyphénols dans les extraits.	52
Tableau 5. Activité de blanchissement du β -carotène par les extraits étudiés. Chaque valeur IC ₅₀ représente la moyenne \pm SD (n = 3).	60
Tableau 6. Effet anti-inflammatoire de l'extrait butanolique des feuilles d' <i>O. acanthium</i> sur l'œdème induit chez les rats par l'injection de la carragénine.	67
Tableau 7. Table d'Anova F pour l'activité anti-inflammatoire des quatre lots traités par la carragénine.	68
Tableau 8. Nombre des crampes abdominales (moyenne et écartype) induites chez les rats <i>wistar</i> par IP de l'acide acétique et le pourcentage d'inhibition des extraits butanolique des feuilles d' <i>O. acanthium</i> et des tiges de <i>S. junceum</i> .	72
Tableau 9. Table de Fisher de l'activité analgésique.	72
Tableau 10. Effet antipyrétique de l'extrait butanolique des feuilles d' <i>O. acanthium</i> sur l'hyperthermie induite chez les rats par injection de levure de bière.	77
Tableau 11. ANOVA de l'effet antipyrétique de l'extrait <i>O. acanthium</i> .	77

ABREVIATIONS

AAO:	Activité antioxydante
Abs:	Absorbance
ABTS:	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
ACF:	Adjuvant Complet de Freund
ADN:	Acide désoxyribonucléique
AINS:	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
APG:	Angiosperm Phylogeny Group
BuOH:	Butanol
BHA:	Buthylhydroxyanisol
BHT:	Buthylhydroxytoluène
CAT:	Catalase
CH₂Cl₂:	Dichlorométhane
COX:	Cyclo-oxygénase
cPGES :	Cytosolic PGE2 synthase
CRTH2 :	Chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on T helper 2 cells
CUPRAC:	Cupric reducing antioxidant capacity
CYP450:	Cytochromes p450
DP :	PGD2 receptor
Flr:	Fleures
FP :	PGF receptor
FRAP:	Ferric reducing antioxidant power
GAE:	Gallic Acide Equivalent
GI :	Gastrointestinal
GPx:	Glutathione peroxidase
GR:	Glutathion reductase
GSH:	Glutathion
GSSG:	Disulfure de Glutathion
GST:	GLutathion transferase
H-PGDS :	Hematopoietic PGD synthase
H₂O₂:	Peroxyde d'hydrogene
IC:	Concentration Inhibitrice
IL:	Interleukine
IP:	Intrapéritoniale
IP :	PGI2 recepteur
IFN:	Interféron
LDL:	Lipoprotéines de basse densité (Low Density Lipoprotein)
L-PGDS :	Lipocalin-type PGD synthase
LS :	Lactones sesquiterpéniques
MeOH:	Méthanol
mPGES :	Membrane-associated PGE2 synthase
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1
NADPH:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
O₂^{•-}:	Anion superoxyde.

PAL:	Phosphatase alcaline
PDA :	Détecteurs à barrettes de diodes (Photométrique Diode Array)
PG :	Prostaglandine
PGFS :	PGF synthase
PGIS :	PGI2 synthase
RLs	Radicaux libres
RNS:	Especies Reactives de l'azote
ROS:	Especies Reactives de l'oxygene
SD:	Déviatiion Standard
SSG:	Glutathion oxyde
SOD:	Superoxyde dismutase
TGO:	Oxaloacetate de Glutamate
TFC:	Phenol Total Content
tNSAIDs :	Traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs
TGFβ	Facteur de croissance transformant bêta
TP :	TX receptor
TxA2 :	Thromboxane A2
TXS :	Thromboxane synthase
QE :	Quercitine Equivalent

PUBLICATIONS :

1. Antioxidant and antibacterial activity of extract and phases from stems of *S junceum* growing in Algeria. Sofiane Habibatni, Natalizia Miceli, Giovanna Ginestra, Zineb Maamri, Carlo Bisignano, Francesco Cacciola, Margita Utczas, Luigi Mondello, Sirajudheen Anwar, Samir Benayache, Djamila Zama, Fadila Benayache, Maria Fernanda Taviano. International journal of phytomedicine. Vol 8, N° 1. 2016.

2. Evaluation of putative cytotoxic activity of crude extracts from *O acanthium* leaves and *S junceum* flowers against the U-373 glioblastoma cell line Yousef Abdel-Kareem Abusamra¹, Michele Scuruchi², Sofiane Habibatni^{3,4}, Zineb Maammeri⁴, Samir Benayache³, Angela D'Ascola², Angela Avenoso², Giuseppe Maurizio Campo² and Edoardo Spina¹. Pak. J. Pharm. Sci., Vol.28, No.4, July 2015, pp.1225-1232.

Sommaire

Introduction Générale	1
I. 1 Introduction	3
I. 2 Les antalgiques et les antipyrétiques	3
I. 2.1 Douleur et Traitement	5
I. 2.2 La fièvre et l'hyperthermie	9
I. 3 L'inflammation	12
I. 3.1 L'inflammation aiguë et chronique	12
I. 4 Stress oxydatif	17
I. 4.1 Les acteurs du Stress Oxydant	19
I. 4.2 Défenses antioxydantes	20
I. 4.2.1 Les antioxydants enzymatiques	21
I. 4.2.2 Les antioxydants non enzymatiques	23
I. 4.3 Cibles potentielles des ERO	26
I.5 Plantes étudiées	29
I.5.1 <i>Onopordum acanthium</i>	29
I.5.1.1 Description botanique et classification	29
I.5.1.2 Intérêt thérapeutique des astéracées	32
I.5.2 <i>Spartium junceum</i>	32
I.5.2.1 Description botanique et classification	32
I.5.2.2 Etudes phytochimiques antérieures	33
II. 1. Extraction et partitionnement	35
II.1.1 Matériel végétal	35
II.1.2 Analyse qualitative des extraits	37
II.1.2.1. Analyse qualitative par HPLC	37
II.1.2.2. Tests phytochimiques	37
II.1.3 Analyses quantitatives des extraits	39
II.1.3.1 Dosage des polyphénols totaux	39
II.1.3.2 Dosage des flavonoïdes	40
II.2 Essais biologiques <i>in-vivo</i>	40
II.2.1 Activité anti-inflammatoire « Œdème à la carragénine »	40
II.2.2 Activité analgésique	42
II.2.3 Activité antipyrétique	42
II.3 Activité antioxydante	43
II.3.1 Piégeage du radical libre DPPH	43
II.3.2 Test de réduction du radical cation ABTS⁺	43
II.3.3 Méthode de blanchissement de la β-carotène	44
II.3.4 Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	44
II.3.5. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	45
II.4 Analyse statistique	45

L'oxydation, si elle est nécessaire à la vie, peut aussi avoir un effet délétère : le stress oxydant métabolique peut porter atteinte aux structures cellulaires (membranes, ADN, protéines..). Le résultat de ces perturbations est un dysfonctionnement cellulaire menant notamment à des désordres inflammatoires (maladies neurodégénératives, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies cardio-vasculaires, les maladies respiratoires ainsi que dans le processus de vieillissement..). Afin de limiter les effets délétères des RLO, notre organisme synthétise ou fait appel à une source exogène ou endogène d'antioxydants (Phaniendra *et al.*, 2015).

Le malfonctionnement de la réponse inflammatoire engendre le développement et la naissance de plusieurs maladies chroniques communes, par exemple l'asthme, les maladies cardiovasculaires, le diabète et le cancer (Chen *et al.*, 2018). Ces maladies inflammatoires représentent un fardeau du point de vue des coûts de santé et de la souffrance humaine à la grandeur de la planète.

Les organismes vivants ont développé depuis quelques centaines de millions d'années une diversité moléculaire exceptionnelle illustrée par le nombre, toujours croissant, de métabolites secondaires (substances naturelles) isolés des plantes, organismes marins et microorganismes (Dias *et al.*, 2012). Cette diversité moléculaire et structurale est le plus souvent associée à une diversité d'activités biologiques. Les métabolites secondaires d'origines végétale et marine ou isolés de microorganismes représentent, encore aujourd'hui, une des principales sources des médicaments utilisés en chimiothérapie dans différents domaines thérapeutiques, antibiotiques antitumoraux, traitement des maladies cardiovasculaire, alzheimer (Cragg et Newman., 2013). Les molécules d'origine naturelle offrent des modèles aux chimistes à partir desquels de nouvelles molécules peuvent être synthétisées. Elles peuvent être aussi utilisées en tant que matières premières, précurseurs, dans la conception de structures originales aux applications potentielles multiples (Newman, 2016).

L'usage d'antioxydants de synthèse tels que le butylhydroxyanisole et le butylhydroxytoluène dans les secteurs d'agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique est suspectée à long terme d'effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes. D'un autre côté, l'usage de façon routinière des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) conduit à des effets souvent graves. Ces derniers peuvent engendrer des troubles gastro-intestinaux, rénaux et asthmatiques. Les plantes constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'études scientifiques rigoureuses pour leur éventuelle utilisation

comme alternative, particulièrement pour la protection contre la peroxydation lipidique et le traitement des maladies anti-inflammatoires (Bourkhiss *et al.*, 2011).

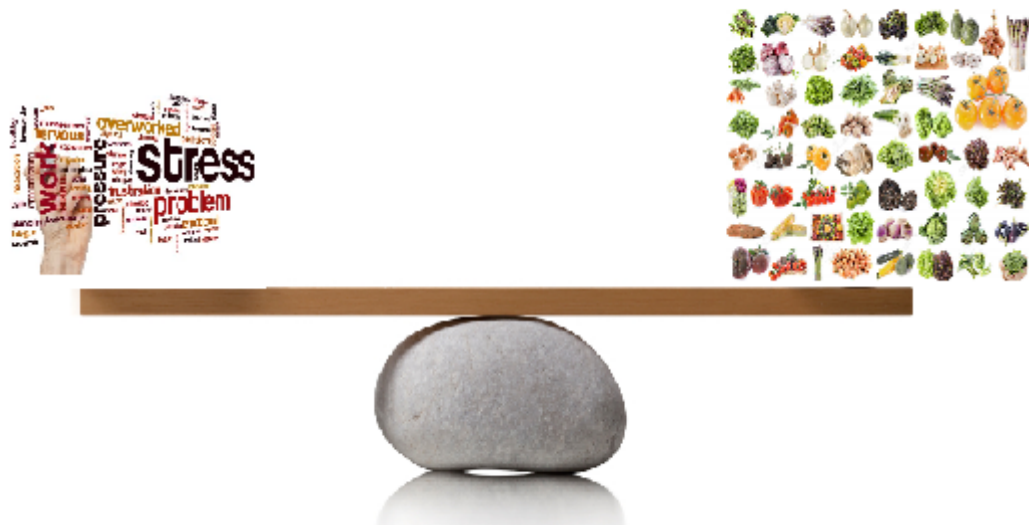
Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) libérées par l'organisme humain, au cours des diverses attaques sont éliminées ou piégées par des molécules douées de propriétés antioxydantes. Leurs rôles dépassent de loin celui de simples piègeurs ou de supprimeurs de radicaux libres, ils sont efficaces dans la prévention et/ ou dans le traitement des affections parasitaires et non parasitaires. On retrouve des antioxydants dans toutes les plantes, ils sont qualifiés de métabolites secondaires. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles, propriétés antibactériennes, analgésiques, vasodilatatrices, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, anti-thrombiques, anti-athérogéniques, anti-pyrétiques etc... (Deepak *et al.*, 2015).

C'est pourquoi, la poursuite de la recherche sur les plantes s'impose et la recherche des molécules naturelles, nouvelles, à fort potentiel pharmaceutique constitue une préoccupation primordiale des chercheurs. Dans cette optique, nous avons choisi deux plantes *Onopordum acanthium* et *Spartium Junceum*, ayant fait l'objet peu d'études phytochimiques et biologiques antérieures notamment en Algérie. Compte tenu de ces constatations relatives à l'importance de ces plantes sur le plan des ressources biologiques notamment leurs usages thérapeutiques, ces espèces ont retenu notre attention et ont donc été choisies comme matériel biologique.

Dans ce contexte, nous avons fixé les objectifs suivants : (1) Extraction et évaluation quantitative et qualitative des extraits organiques d'*O. acanthium* et *S. junceum*, (2) Evaluation de l'activité antioxydantes *in-vitro* des différents extraits des deux plantes, (3) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des feuilles d'*Onopordum acanthium*, activité analgésique des feuilles et des tiges d'*Onopordum acanthium* et de *Spartium junceum* respectivement et enfin, activité antipyrétique des feuilles d'*Onopordum. acanthium*.

Chapitre I

Revue bibliographique



I.1 Introduction

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte à l'aube de l'humanité. Les plantes sont riches en métabolites secondaires, entre autres les polyphénols et leurs dérivés substitués tels que les tanins. Ces métabolites sont doués de propriétés antioxydantes et participent largement dans l'élaboration de médicaments (Wachtel-Galor et Benzie., 2011).

L'inflammation est l'un des moyens qui permettent à l'organisme de régler ou de supprimer un problème. À court terme, elle nous aide à combattre le rhume ou la grippe ou nous protège contre les allergènes. Cependant, lorsque l'inflammation persiste à long terme, elle devient chronique, elle cesse d'être bénéfique et peut contribuer au développement de diverses maladies (Medzhitov, 2010).

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses de type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), ce sont des médicaments depuis très longtemps, puisque l'écorce de salix alba (le saule), contenant la salicine, était appréciée dans l'Antiquité pour ses propriétés antalgique et antipyrétique. A l'heure actuelle, les AINS demeurent une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale ou celui de l'automédication. On estime ainsi que plus de 30 millions de personnes prennent quotidiennement un AINS pour les soulager d'affections aussi diverses que les poussées inflammatoires rhumatismales, la symptomatologie douloureuse associée aux pathologies musculo-tendineuses, post-opératoires, migraineuses, ou aux dysménorrhées. Ils sont cependant considérés comme «une arme à double tranchant» puisque leurs effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (Bjarnason *et al.*, 2018).

I.2 Les antalgiques et les antipyrétiques

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont largement prescrits en raison de leur efficacité dans la prise en charge de la douleur, de la fièvre, de l'inflammation et des troubles rhumatismaux. Cependant, leur utilisation thérapeutique à long cours est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale (Blumenthal *et al.*, 2017) .

Les AINS possèdent la capacité à inhiber la synthèse des prostaglandines et de leurs dérivés, importantes entités chimiques impliquées dans la réponse inflammatoire et qui contribuent à la douleur et l'inflammation. Cette inhibition a pour origine le blocage des

diverses isoformes de cyclooxygénases (COX 1 et 2). L'activité thérapeutique des AINS notamment celle de l'acetaminophene et l'aspirine est indissociable des effets indésirables. Ces AINS perturbent l'homéostasie de certains tissus, dont la muqueuse gastro-intestinales entraînant des troubles digestifs (Jay et Byron., 2015). Des stratégies sont nécessaires pour développer de nouveaux inhibiteurs de COX qui maintiendraient les propriétés thérapeutiques des AINS sans en conserver les effets secondaires indésirables (Brune et Patrignani., 2015; Ricciotti et FitzGerald., 2011).

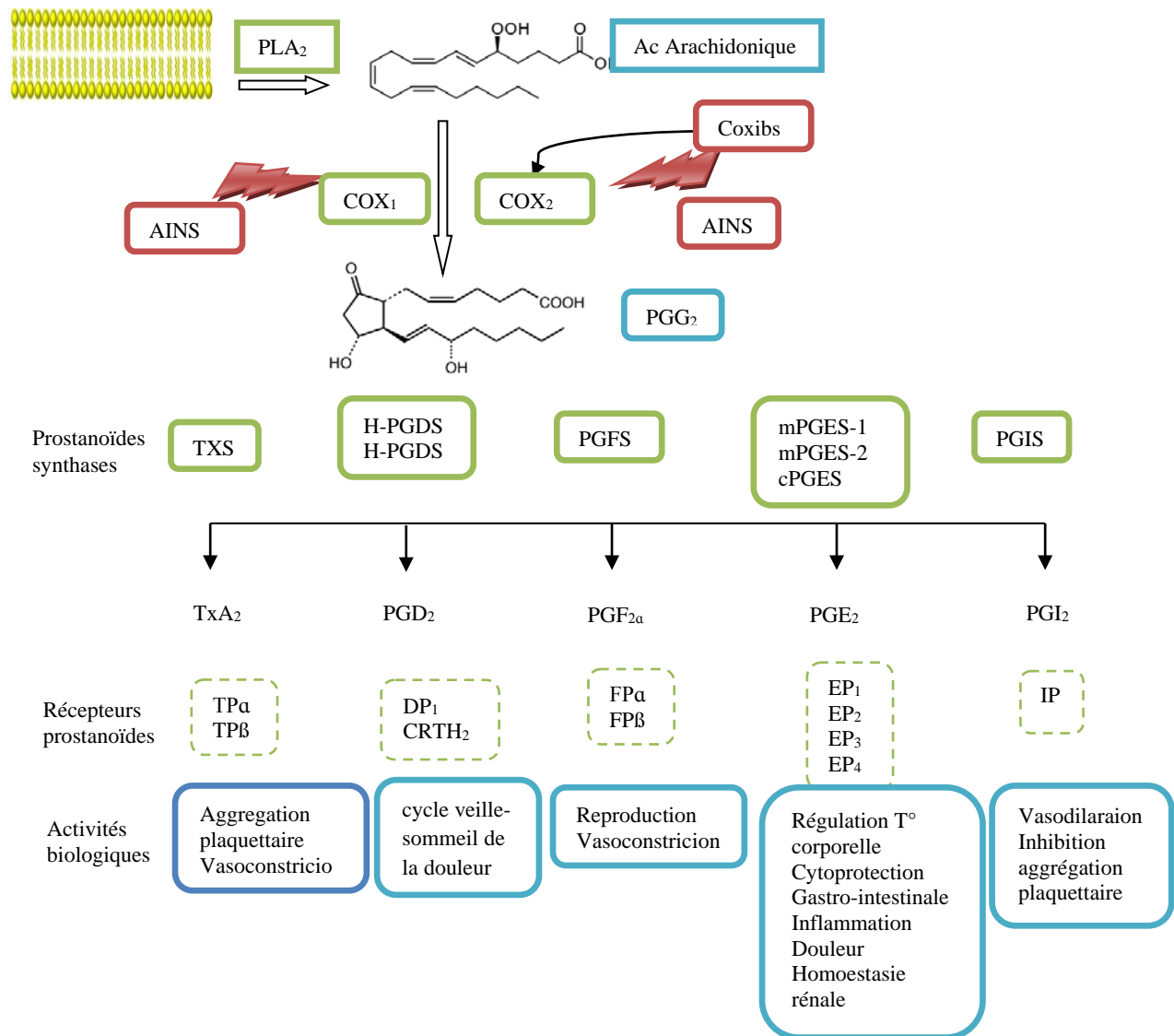


Figure 1. Mécanisme d'action des AINS (Brune et Patrignani., 2015).

I.2.1 Douleur et traitement

La recherche de nouveaux procédés dans le domaine de la douleur en particulier la douleur chronique est un problème d'actualité. Malgré les avancées dans le domaine médical, la

recherche de nouveaux antalgique plus efficace et induisant moins d'effets secondaires demeure une préoccupation majeure (Max et Stewart., 2008)

La douleur est une sensation désagréable et anormale ressentie par l'organisme dont le système nerveux détecte un stimulus nociceptif, elle correspond donc à un signal d'alarme de l'organisme pour traduire une agression extérieure qui met en cause son intégrité physique (Guichet, 2010).

Les antalgiques périphériques dont font partie les AINS, agissent sur les voies périphériques de la douleur. Les capteurs périphériques des stimuli nociceptifs ne sont pas des structures précisément identifiées sur le plan histologique. Ils sont constitués par les arborescences terminales des fibres C et A δ localisées dans la peau, les muscles striés squelettiques ainsi que dans la paroi des viscères. Ces neurones, dont les corps cellulaires sont localisés dans les ganglions spinaux, véhiculent les messages nociceptifs vers les premiers relais centraux localisés dans la corne postérieure de la moelle épinière (Dubin et Patapoutian., 2010).

Selon l'IASP (International Association for the Study of Pain), deux types de douleurs sont à distinguer : la douleur aiguë et la douleur chronique. La douleur chronique est définie comme « une douleur qui persiste au-delà de la période de guérison, récupération généralement observée (Ducourneau., 2013).

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) les antalgiques sont classer en trois niveaux. Cette échelle permet une hiérarchie des analgésiques en fonction de leur niveau de puissance et de leurs rapports bénéfiques-risques. Cette échelle se définit ainsi (World Health Organization., 1996.) :

✓ Palier 1: ce sont des analgésiques non morphiniques, appelés aussi analgésiques périphériques. Ils sont représentés par le paracétamol, l'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Leur mécanisme d'action antalgique et antipyrétique de ces médicaments est lié à l'inhibition du cyclo-oxygénase, démontré *in-vivo* et *in-vitro*. L'action anti-inflammatoire est vraisemblablement due à l'inhibition sélective des prostaglandines.

✓ Palier 2: ce sont des agonistes morphiniques faibles. Ils sont utilisés seuls (tramadol, codéine pédiatrique), ou en association avec un analgésique de niveau 1 (dextropropoxyphène/paracétamol, codéine/paracétamol, tramadol/paracétamol).

✓ Palier 3: regroupe des agonistes morphiniques forts (morphine, péthidine) et des agonistes antagonistes (pentazocine et nalbuphine) qui permettent de répondre à des douleurs intenses ou en cas d'échec d'une molécule de palier II.

La douleur aiguë est un signal d'alerte, en général d'intensité forte et relevant, pour une grande partie d'entre elles, de l'urgence. Elle est définie comme durant moins de 3 mois et assimilée à un symptôme. (Merskey *et al.*, 1995).

Pour lutter contre la douleur, on a recourt à des analgésiques ou antalgiques. Ce sont des substances qui abolissent ou atténuent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations. Ils sont repartis en deux grands groupes qui sont:

✚ Les analgésiques ou antalgiques centraux

La morphine est un analgésique d'action centrale qui empêche la remontée de l'influx généré aux extrémités périphériques des fibres C et A δ par une action sur les voies ascendantes de la douleur. L'effet des morphiniques a pour médiateurs les récepteurs des opioïdes (μ , κ , δ) (Gardon, 2014).

Les récepteurs opioïdes **mu** sont distribués préférentiellement dans le thalamus, le striatum, le locus coeruleus et le noyau du tractus solitaire.

Les récepteurs **delta** sont trouvés surtout au niveau du cortex, le striatum et les noyaux du pont.

Les récepteurs **kappa** dans l'hypothalamus, le noyau accumbens, la substance noire, l'aire tegmental ventral et le noyau du tractus solitaire

Communément appelés antalgiques morphiniques. Ces produits agissent sur la première synapse de la douleur qui se trouve sur la couche V du Rexed (Noyau principal ou propre de la corne postérieure) qui est au niveau de la corne postérieure de la substance grise de la moelle épinière. A ce niveau ils inhibent la transmission de l'influx nerveux en se fixant sur la substance P de la synapse (Gardon., 2014).

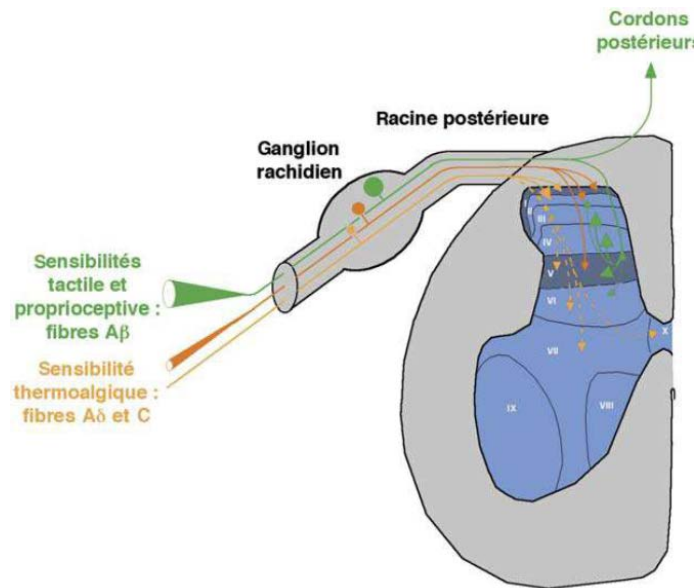


Figure 2 . Schéma d'une coupe transversale de moelle épinière représentant les différentes couches (I à X) ainsi que les fibres sensorielles en relation avec celles-ci (d'après Le Bars et Willer 2004).

✚ Les analgésiques ou antalgiques périphériques

Les AINS sont composés de molécules appartenant aux salicylés (Acide acétylsalicylique), et une nouvelle classe d'inhibiteurs, les coxibs (Célécoxib, Rofécoxib) qui, contrairement aux AINS classiques sont dépourvus de groupement carboxylique. Ils possèdent des propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et anti-pyrétiques. Leur utilisation requiert des précautions car leurs effets indésirables sont nombreux (toxicité digestive surtout et rénale), cette toxicité est due à la présence de la fonction carboxylique (Ullah *et al.*, 2016).

Il existe cependant une grande variabilité de tolérance et de biodisponibilité entre les espèces et les individus (Bon *et al.*, 2018). Les AINS sont indiqués dans le traitement des douleurs inflammatoires aiguës ou chroniques faibles à modérées (Laar *et al.*, 2012). Ils présentent une grande hétérogénéité chimique et partagent la propriété d'inhibiteur non sélectif de l'enzyme cyclooxygénase (COX) (Zarghi et Arfei, 2011). Les AINS traditionnels inhibent les deux enzymes capables de synthétiser des prostaglandines: la COX-1 et la COX-2. Les prostaglandines produites par la COX-1 jouent surtout un rôle physiologique (en particulier la protection gastrique), tandis que celles produites par la COX-2 sont surtout produites dans des conditions inflammatoires (Rikke *et al.*, 2015).

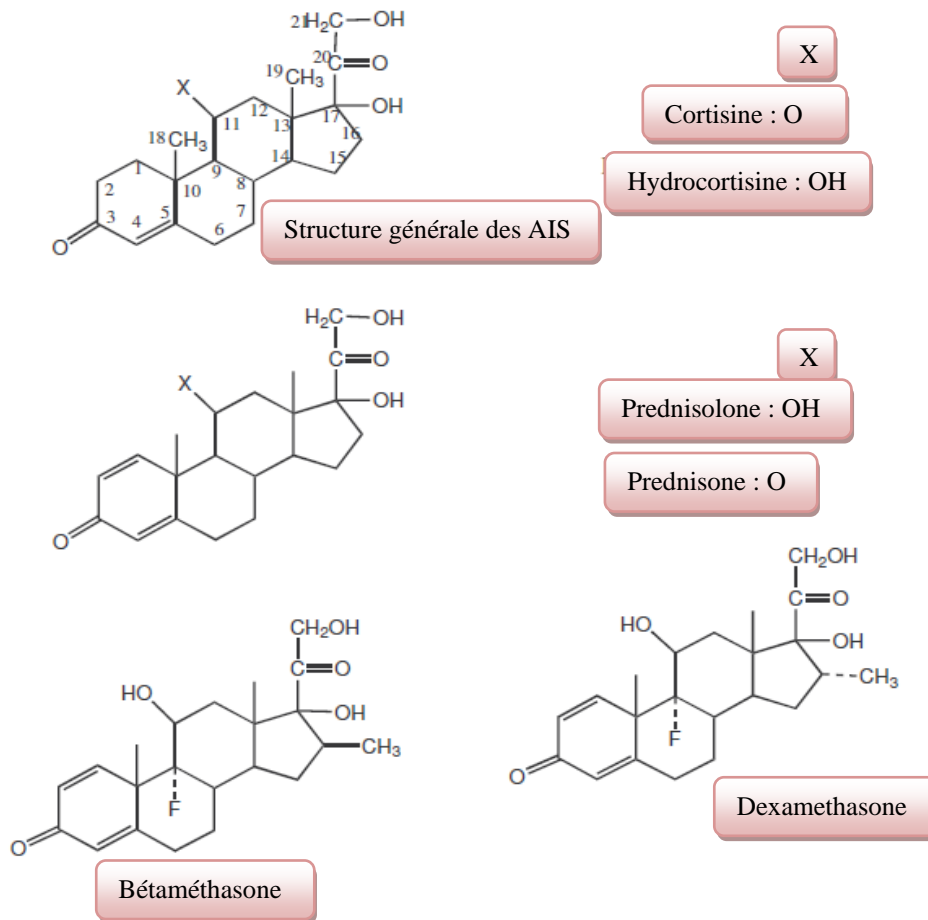


Figure 3. Structures chimiques de quelques anti-inflammatoires stéroïdien.

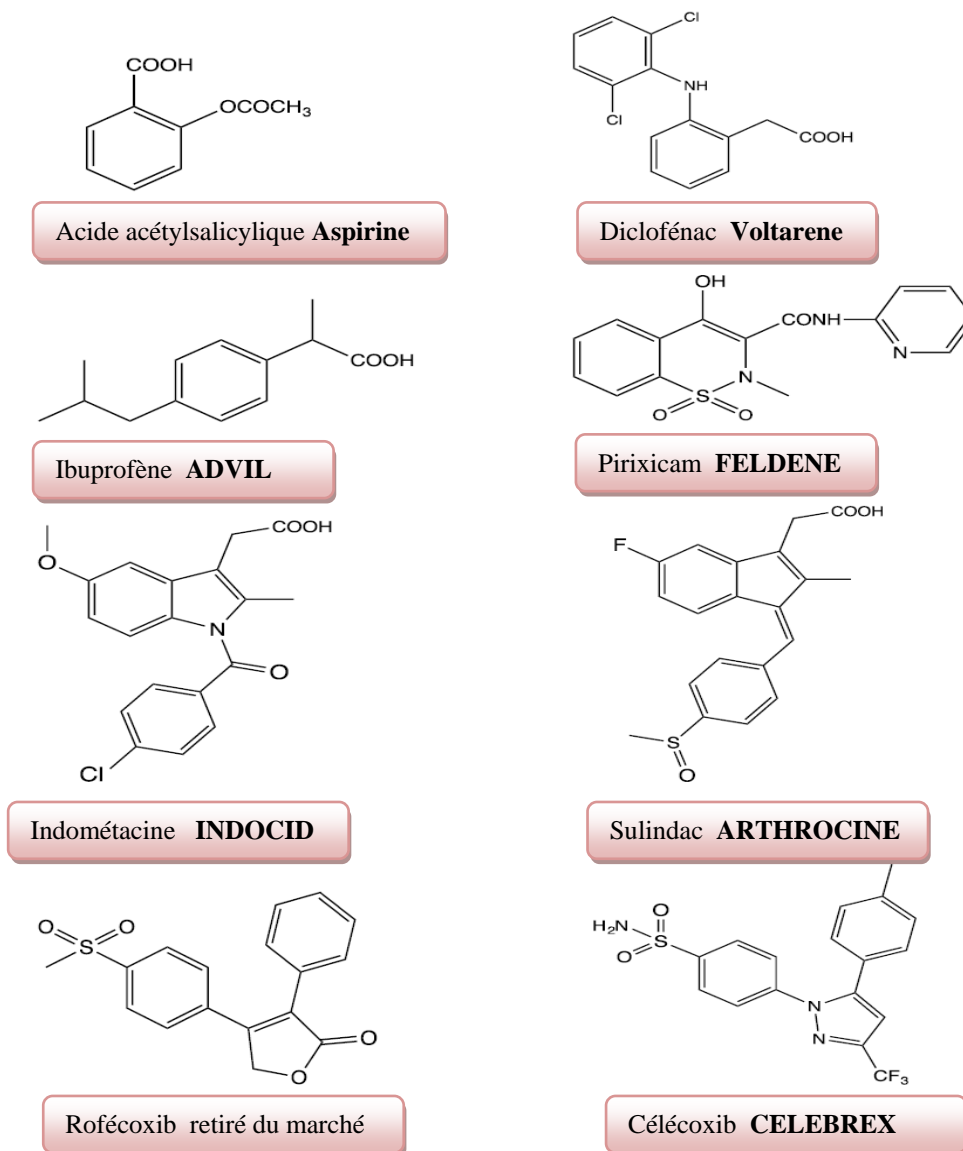


Figure 4. Structure chimique de certains AINS et noms commerciaux (Patrignani et Patrono., 2015).

I.2.2. La fièvre et l'hyperthermie

Afin d'assurer l'homéostasie, l'organisme possède la capacité remarquable de maintenir la température interne du corps proche de 37° C. La température corporelle résulte d'un équilibre entre thermogenèse et thermolyse, déterminé par le centre régulateur hypothalamique qui joue un rôle de thermostat. La fièvre est due à une élévation de ce thermostat. C'est une réponse normale et adaptative de l'organisme à une agression de nature variable, souvent infectieuse, et s'intègre à une réaction de défense plus vaste : la réaction inflammatoire aiguë (Siemens et Kamm., 2018).

Le centre de la thermorégulation est situé dans la région pré-optique de l'hypothalamus antérieur et a pour rôle le maintien de la température centrale autour du point d'équilibre (Rango *et al.*, 2012).

La fièvre est une augmentation, au-dessus de la valeur normale, de la température corporelle (de 1 à 4 °C) à la suite d'un signal du cerveau (thermostat hypothalamique) qui augmente la température en réponse contre une agression de nature variable, le plus souvent, à une infection. Cette augmentation de température retarde la croissance et la reproduction des virus ou bactéries et augmente la production des globules blancs qui servent à se défendre contre les infections (Mohamed *et al.*, 2011).

La fièvre est différente de l'hyperthermie qui, elle, correspond à une élévation de la température corporelle ne dépendant pas de la commande hypothalamique et reflétant une dys-régulation des mécanismes périphériques de perte et (ou) de production de chaleur. L'hyperthermie est une élévation anormale de la température corporelle consécutive à l'incapacité du corps à réguler sa température (James *et al.*, 2016).

La fièvre résulte de l'activation des récepteurs des cytokines ou des récepteurs transmembranaires exprimés par les cellules de l'immunité innée, comme les mastocytes et les macrophages ou les cellules dendritiques, couplés à une voie de transduction du signal aboutissant à l'activation du facteur de transcription nucléaire NF- κ B. Ces récepteurs de type Toll (TLR) se lient à une molécule déterminée, c'est-à-dire à son ligand, il déclenche une cascade inflammatoire. L'expression des gènes des cytokines est alors activée et une inflammation est déclenchée pour recruter d'autres cellules du système immunitaire, dégrader le pathogène ou réparer la zone touchée (Bartikova *et al.*, 2014; Rakoff-Nahoum *et al.*, 2009).

La libération des pyrogènes lors de la phagocytose des bactéries par les polynucléaires neutrophiles, semble déclencher la fièvre en induisant la synthèse de prostaglandines E1 dans les neurones hypothalamiques. Cette synthèse peut être bloquée par l'aspirine. Comme les autres médicaments antipyrétiques (paracétamol et corticoïdes), l'aspirine entraîne une diminution de la température corporelle en situation d'hyper-pyrexie. C'est une réaction non-spécifique de défense de l'organisme développée en réponse à l'action de différents agents déclencheurs appelés des pyrogènes exogènes. Le rôle de la fièvre est celui de signal d'alarme. Ces pyrogènes stimulent la libération par des macrophages et certains lymphocytes, de nombreuses cytokines appelées pyrogènes endogènes, dont les plus connues sont les

interleukines (IL) 1, 6, l'interféron (IFN), le « tumor necrosis factor » (TNF). Ces cytokines parviennent via la circulation sanguine au niveau d'hypothalamus pour déclencher l'augmentation de la valeur de référence de centres thermorégulateurs par l'intermédiaire de la prostaglandine E₂ (PGE₂), un métabolite de l'acide arachidonique par la voie de cyclooxygénase (COX) (Roth et Blatteis., 2018).

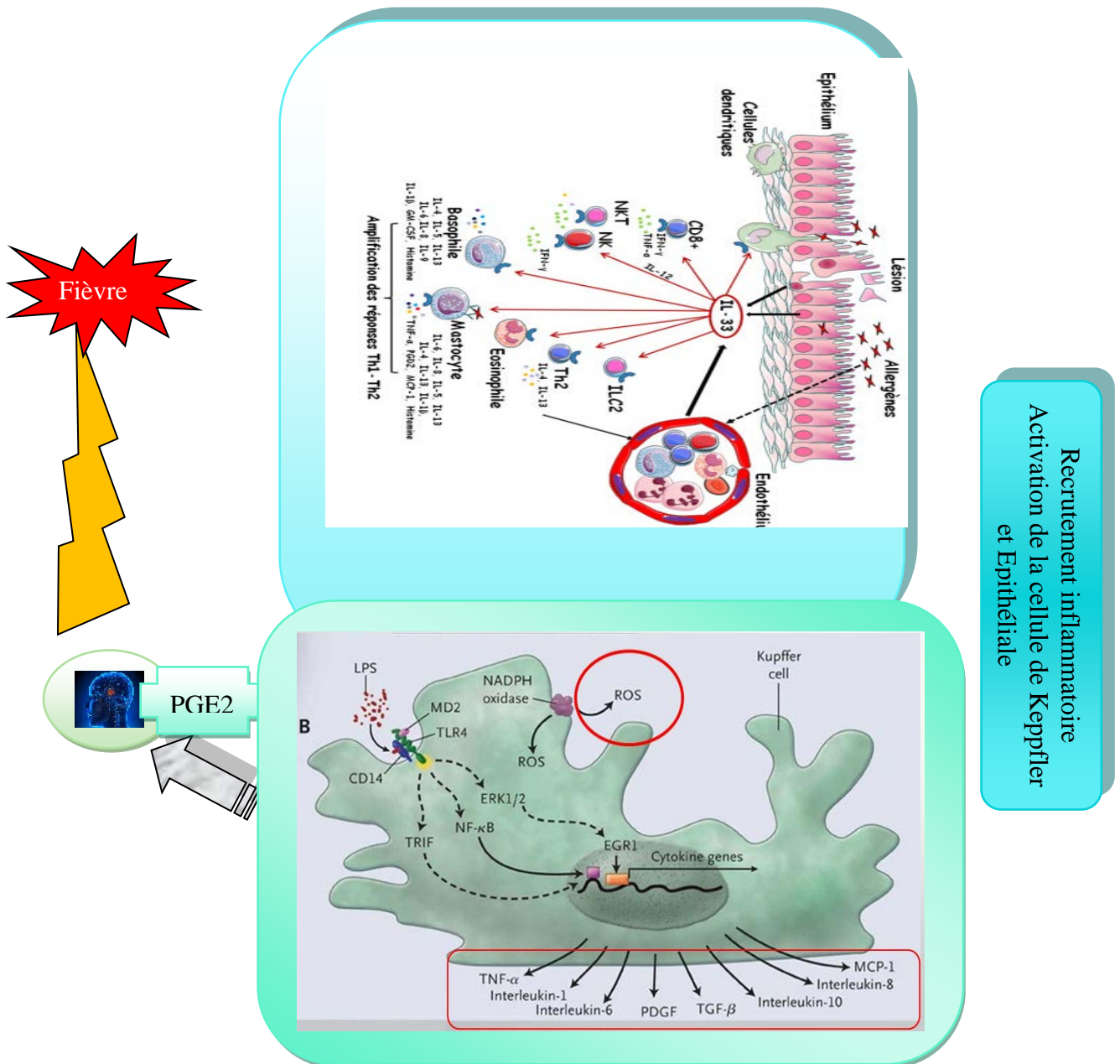


Figure 5. Communication entre lymphocytes et macrophages et d'autres composants du système immunitaire (Aggarwal *et al.*, 2009).

1.3 L'inflammation

La défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse se traduit par une réaction inflammatoire. Cette réaction déclenche un processus dynamique comportant plusieurs étapes successives: la réaction vasculo-exsudative, la réaction cellulaire, la détersion, la phase terminale de réparation et cicatrisation (Sabine *et al.*, 2014). Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Leur utilisation à long terme présente des effets indésirables (Schetter *et al.*, 2010).

I.3.1 L'inflammation aiguë et chronique

L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (immunité innée), qui est déclenchée par des récepteurs immunitaires innés qui reconnaissent les pathogènes et les cellules endommagées. Lors d'une agression par un agent pathogène spécifique non encore rencontré par l'organisme, le déclenchement immédiat de l'immunité innée assure la défense de l'organisme pendant les quelques jours nécessaires au développement d'une réponse immunitaire spécifique. Dès l'arrivée des monocytes activés sur le lieu d'attaque du tissu, ils libèrent des cytokines pro-inflammatoires qui vont déclencher en cascade les phénomènes inflammatoires locaux (libération de médiateurs, activation d'enzymes...). Les principales cytokines pro-inflammatoires sont les Interleukine-1 (IL-1) alpha et bêta, le Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α), l'IL-6 et autres (Ashley *et al.*, 2012).

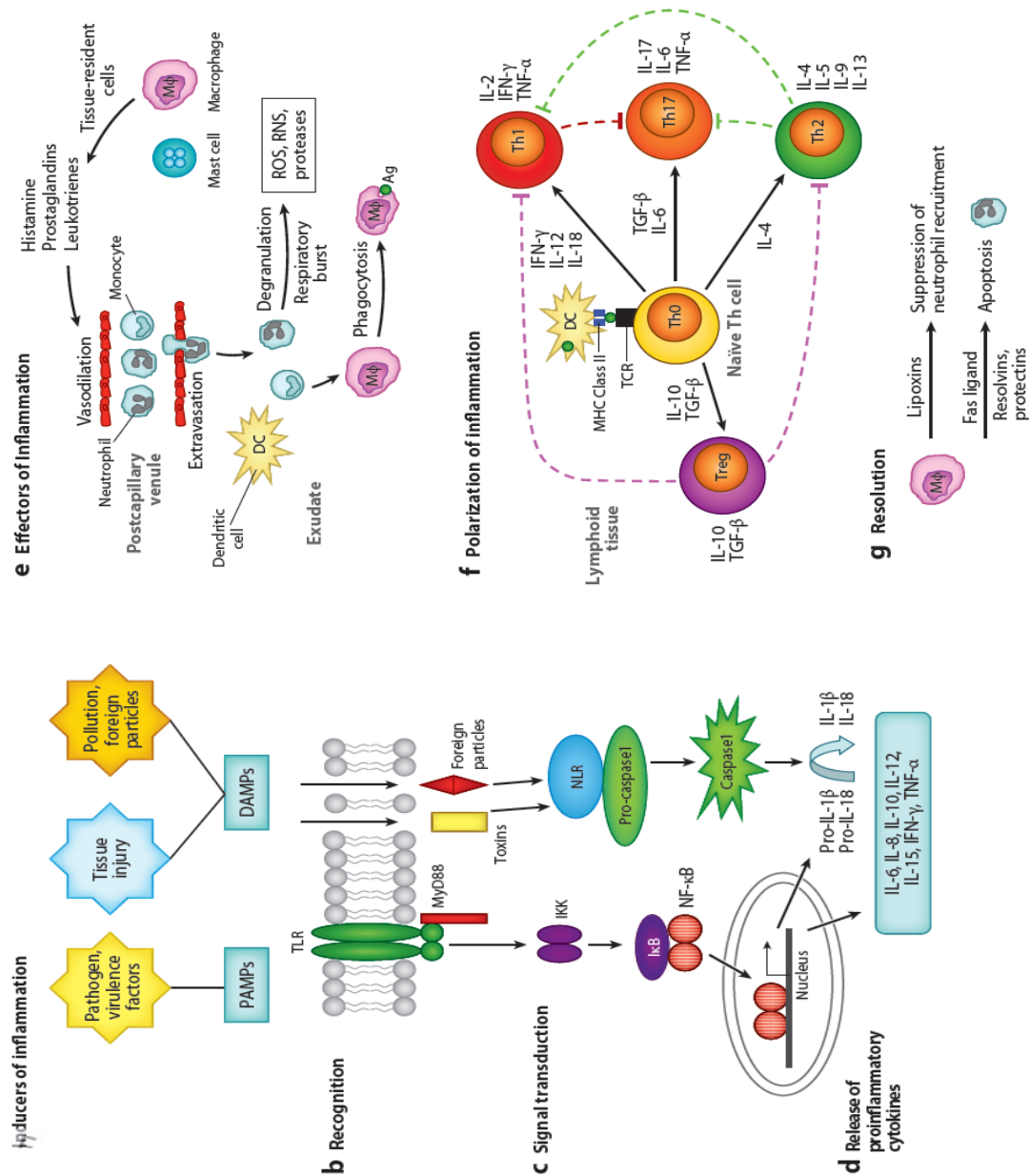


Figure 6. Les inducteurs de l'inflammation (Ashley *et al.*, 2012).

La réaction vasculo-exsudatives se traduit cliniquement par : (Marcelo *et al.*, 2013)

- quatre signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, tuméfaction et la douleur.
- elle comporte trois phénomènes : une congestion active, un œdème inflammatoire et une diapédèse leucocytaire.

La diapédèse intéresse les polynucléaires, les monocytes et les lymphocytes. Il s'agit d'une traversée active des parois vasculaires et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Les leucocytes peuvent favoriser la perméabilité vasculaire. Cependant, malgré le fait que les leucocytes soient capables de libérer des cytokines, des enzymes protéolytiques et des intermédiaires réactifs de l'oxygène qui favorisent les lésions tissulaires locales, ils induisent la contraction des cellules endothéliales et recrutent des leucocytes supplémentaires. Leur recrutement au foyer inflammatoire permet la destruction de l'agent pathogène (Kuckleburg et Newman., 2013; Mayadas *et al.*, 2014).

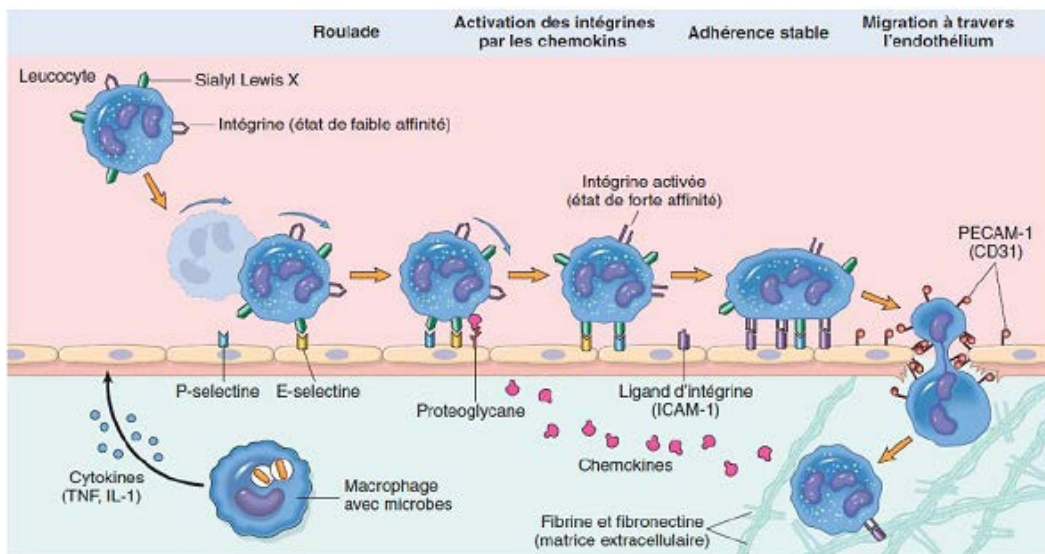


Figure 7. Diapédèse leucocytaire et polynucléaires neutrophiles (Mayadas *et al.*, 2014)

La réparation passe par la constitution d'un nouveau tissu conjonctif appelé bourgeon charnu qui prend progressivement la place du granulome inflammatoire et va remplacer les tissus détruits au cours de l'inflammation. Le bourgeon charnu comporte des leucocytes du tissu de granulation, des fibroblastes et myofibroblastes, et des néo-vaisseaux sanguins. Au début, le bourgeon charnu possède une matrice extra-cellulaire lâche constituée principalement de glycosaminoglycanes, dont l'acide hyaluronique, de collagène de type III et de fibronectine. Le bourgeon charnu s'enrichit ensuite en fibres collagènes de type I, s'appauvrit en fibroblastes, néo-vaisseaux et leucocytes, et diminue de volume grâce à l'action contractile de myofibroblastes. Le bourgeon charnu évolue progressivement soit vers une cicatrice soit vers la reconstitution d'un tissu conjonctif identique au tissu préexistant à l'inflammation (Anthony, 2017).

Dans le cas où l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation ou inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses

maladies chroniques, y compris le cancer, maladies neurodégénératives, l'athérosclérose (Kunnumakkara *et al.*, 2018).

Lors de la réaction inflammatoire, les neutrophiles sont recrutés sur le site de la lésion, créent un environnement cytotoxique, en libérant des produits chimiques nocifs, appelé processus de dégranulation. La libération rapide de ces produits chimiques nécessite à la fois une consommation de glucose et d'oxygène, connue sous le nom d'explosion respiratoire. Les produits chimiques toxiques libérés comprennent des espèces hautement réactives d'oxygène et d'azote (ROS et RNS, respectivement et diverses protéases inflammatoire (Ashley *et al.*, 2012) .

Les prostaglandines jouent un rôle clé dans la génération de la réponse inflammatoire. Leur biosynthèse est significativement augmentée dans les tissus enflammés et ils contribuent au développement des signes capitaux de l'inflammation aiguë. Alors que les propriétés pro-inflammatoires des prostaglandines individuelles au cours de la réponse inflammatoire aiguë sont bien établies, leur rôle dans la résolution de l'inflammation est plus controversé. Dans les tissus non enflammés leur biosynthèse est généralement très faible, mais augmente immédiatement dans l'inflammation aiguë avant le recrutement des leucocytes et l'infiltration des cellules immunitaires (Ricciotti et FitzGerald, 2011).

Des quantités excessives de TNF jouent un rôle pathologique dans des affections telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, le psoriasis, la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme, le cancer, les maladies infectieuses et autres pathologies auto-immunes (Sozzani *et al.*, 2014).

Les cellules impliquées dans l'inflammation sont les polynucléaires neutrophiles qui sont les leucocytes les plus abondants dans la circulation sanguine et représentent environ 70% de la population leucocytaire circulante. Ils constituent la première ligne de défense de l'organisme contre les agents infectieux et les substances étrangères. Les polynucléaires et les cellules dendritiques peuvent s'attirer mutuellement sur le site inflammatoire grâce aux chimiokines (Mayadas *et al.*, 2014).

Tableau 1. Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire (Serhan *et al.*, 2010)

Type cellulaire	Fonction basique dans l'inflammation
Neutrophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire, ont des propriétés phagocytaires et sont activés par des chimio-attracteurs dans le site de l'agression.
Mastocytes	Cellules phagocytaires, résidentes dans les tissus de connections et dans les muqueuses. Libèrent de médiateurs inflammatoires (essentiellement anaphylactiques).
Basophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire et ont des propriétés phagocytaires. Interviennent dans les réactions allergiques.
Eosinophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire où ils peuvent survivre plusieurs semaines. Ils ont des propriétés phagocytaires et interviennent dans les infections parasitaires.
Plaquettes	Source initiales de médiateurs inflammatoires et interviennent aussi dans la cascade de coagulation.
Monocytes	Se différencient en macrophages tissulaires, dans le foie, les poumons... où ils peuvent y survivre pendant des années. Ce sont de puissants phagocytes, ils sont impliqués dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et B et dans la libération des médiateurs inflammatoires.

L'inflammation et la douleur sont deux processus physiologiques intimement liés et impliqués dans un grand nombre de maladies aiguës ou chroniques. Cependant, les médicaments commercialisés (anti-inflammatoires non stéroïdiens, anti-inflammatoires stéroïdiens, opioïdes, anesthésiques locaux....) peuvent engendrer beaucoup d'effets indésirables (ulcères gastriques, accidents cardiovasculaires...) (Strate *et al.*, 2011; Gorissen *et al.*, 2012). D'où la nécessité de la recherche de nouvelles molécules qui pourraient agir directement sur les médiateurs de l'inflammation et de la douleur ayant ainsi moins d'effets secondaires.

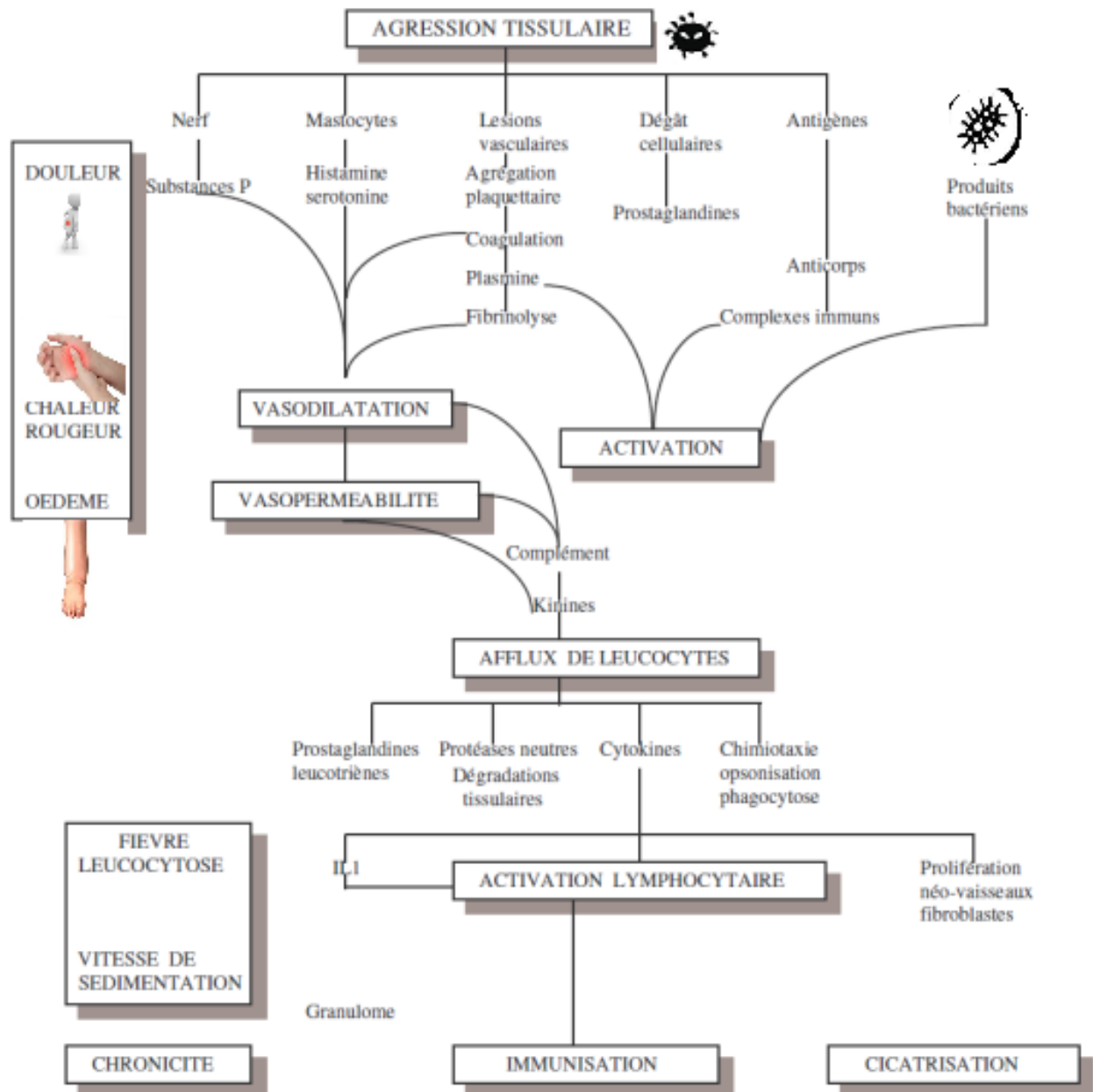


Figure 8. Diagramme général de la réaction inflammatoire (Naveau *et al.*, 2005).

1.4 Stress oxydatif

La concentration des ERO est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. Cette homéostasie rédox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose), soit par une diminution des capacités antioxydantes (personnes souffrant d'obésité et les fumeurs). On parle alors de stress oxydant (Migdal et Serres, 2011).

Nos cellules transforment une partie de l'oxygène nécessaire à l'oxydation de la matière organique en métabolites toxiques nommés radicaux libres (Lobo *et al.*, 2010). Ils sont

produits par l'organisme à dose raisonnable ; cette production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et par conséquent notre organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances normales on dit que la balance antioxydants - prooxydants est en équilibre. Dans le cas inverse, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (Halliwell *et al.*, 2011).

Certaines activités enzymatiques sont responsables dans la production des ERO, notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (Barouki et Morel., 2001).

Le stress oxydatif, qui survient lors des déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que de maladies neuro-dégénératives (l'Alzheimer, l'artériosclérose) des pathologies oculaires et le cancer (Pajares *et al.*, 2018).

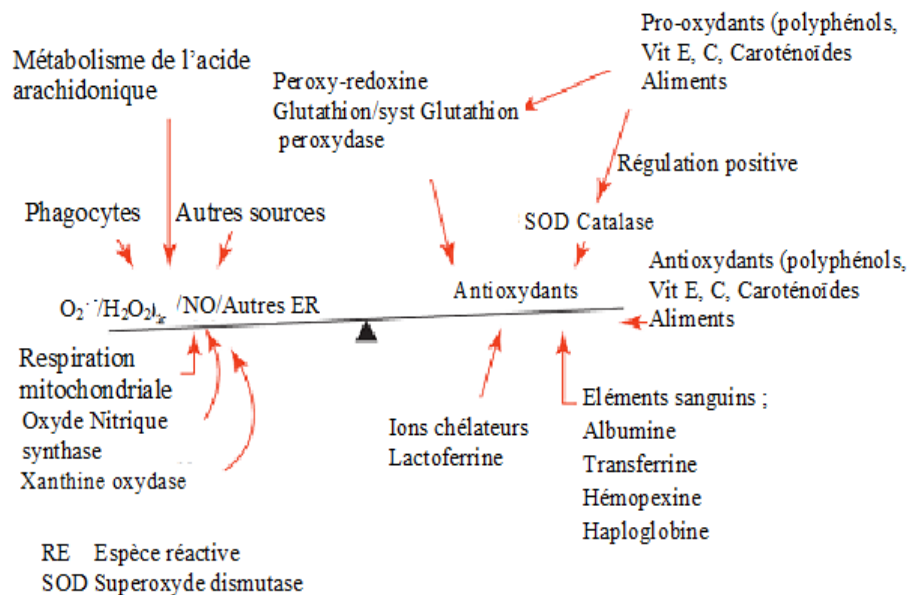


Figure 9. Balance radicaux libres/antioxydants (Halliwell *et al.*, 2011).

I.4.1 Les acteurs du Stress Oxydant

Les acteurs du stress peuvent être classés en deux groupes: espèces radicalaires (ROS) et espèces non radicalaires (RNS). Ces derniers ne sont pas des radicaux libres, mais peuvent facilement conduire à des réactions de radicaux libres chez les organismes vivants. Ces

acteurs ont la capacité pour faire le don d'électrons (e^-) aux macromolécules tels que l'ADN, les protéines et les lipides, entraînant une réduction de molécules et des enzymes protectrices, la mort cellulaire (Sarma *et al.*, 2010).

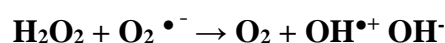
Les lipooxygénases présentent une source importante de production des ROS dans les parois vasculaires, ces enzymes catalysent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) ou des acides gras estérifiés comme les esters de cholestérol pour donner des dérivés d'acides gras hydroperoxydes toxiques pour la cellule (Qishan *et al.*, 2018).

Les radicaux libres exercent de nombreuses fonctions essentielles dans l'organisme, ils contrôlent le flux sanguin dans les artères pour lutter contre l'infection. Certains radicaux libres tels que NO^\bullet et $O_2^{\bullet-}$ sont produits en très grandes quantités par les cellules immunitaires, pour détruire les virus et les bactéries et tuent les cellules cancéreuses. Leur rôle physiologique est impliqué dans la régulation des cascades de signalisation intracellulaire dans divers types de cellules (Phaniendra *et al.*, 2015).

L'oxydation des lipides polyinsaturés, en présence d'oxygène, est un processus radicalaire de réactions en chaînes, connue sous le nom de peroxydation lipidique (LPO), qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison. Ce processus produit une série de substances potentiellement toxiques comme le malondialdéhyde (MDA) et les isoprostanes (Gaschler et Stockwell, 2017).

Il a été reconnu que plus d'une centaine de maladies sont associées aux radicaux libres, ces derniers contribuant au vieillissement cellulaire, à la mutagenèse, à la carcinogenèse, aux maladies coronariennes et autres pathologies cardio-vasculaires, au diabète, à la dystrophie musculaire et à la neurodégénérescence. Toutes ces pathologies sont considérées des pathologies inflammatoires (Reuter *et al.*, 2010; Palipoch et Koomhin., 2015).

Les espèces radicalaires (anion radical superoxyde et radical hydroxyle) seront relativement réactives, car ils sont instables ; le radical hydroxyle est le plus réactif par rapport à l'anion radical superoxyde. À l'inverse de ce dernier, le radical hydroxyle ne peut pas être détruit enzymatiquement. Parallèlement à la production de dérivés réactifs d'oxygènes s'opère celle des dérivés réactifs de l'azote (Reactive Nitrogen Species : RNS). L' $O_2^{\bullet-}$ produit d'autres espèces radicales secondaires, en participant à la réaction d'Haber Weiss, pour former un radical hydroxyle (OH^\bullet) et un anion hydroxylé (OH^-) selon la réaction suivante (Tushar *et al.*, 2014) :



1.4.2 Défence antioxydante

L'oxyde nitrique (**NO**) est un radical produit par la « Nitric Oxide Synthase » (**NOS**) à partir de l'acide aminé L-arginine par de nombreux types cellulaires. Il existe trois groupes de NOS : la neuronale (NOS1) et l'endothéliale (NOS3), dites constitutives et la forme inducible (NOS2) produites dans des conditions inflammatoires (Ulrich et William., 2012.).

Chacune de ces NOS assume des fonctions physiologiques importantes, mais les oxydes nitriques qu'elles produisent peuvent mener à la formation de dérivés toxiques (Piechotat *et al.*, 2014). En effet, l'oxyde nitrique peut réagir avec l'anion super-oxyde pour former le peroxy-nitrite (ONOO), un agent oxydant non radicalaire très puissant. Ce composé est susceptible de réagir avec les protéines (au niveau des résidus tyrosines, tryptophane, méthionine et sélénocystéine) et métalloprotéine avec les lipides, l'ADN et certains antioxydants comme la mélatonine (Migdale et Serres, 2011). Le peroxy-nitrite peut aussi réagir avec le CO₂ pour former un autre composé très réactif, le nitroso peroxy-carboxylate (ONOO-CO₂) (Astier et Lindermayr., 2012).

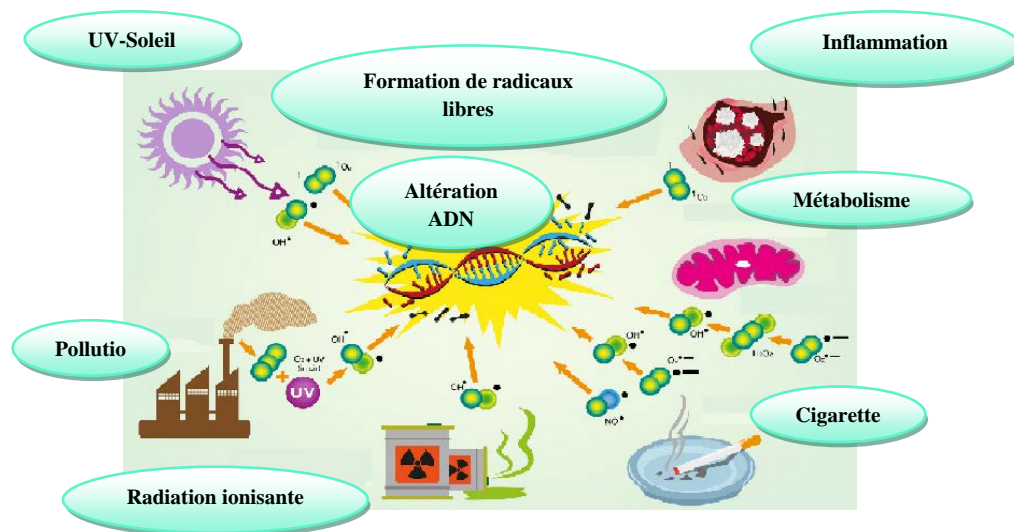


Figure 10. Les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (ROS et RNS) et leurs sources de facteurs endogènes et environnementaux (Astier et Lindermayr., 2012).

Les antioxydants modulent l'activité de diverses enzymes. Les enzymes oxydantes sont prises comme cible thérapeutique pour contrôler la production des ROS. Les AOX peuvent développer une synergie entre eux (Vit E et Vit C). Mais dans certaines conditions, un effet antagoniste est probable (Kumar *et al.*, 2010).

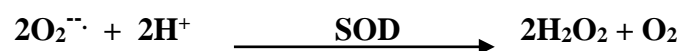
Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes et de composés appartenant à d'autres classes de produits de faibles poids moléculaire à savoir le glutathion, rétinol, caroténoïdes, acide ascorbique, vitamine E, albumine, acide urique, bilirubine, transferrine, ceruloplasmine (Čolak *et al.*, 2017).

I.4.2.1 Les antioxydants enzymatiques

Pour contrer les effets délétères des radicaux et des oxydants en général, les cellules disposent d'un système de défense antioxydant. Ce système implique des molécules de faible poids moléculaire, comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes ainsi qu'un système enzymatique (Birben *et al.*, 2012).

Pour neutraliser les effets toxiques des anions (O_2^-), produits lors de la respiration cellulaire, la cellule a développé tout un arsenal d'armes enzymatiques pour établir un équilibre temporaire face aux agressions successives endogènes et exogènes. Un des mécanismes de cette défense, une détoxification par des métalloprotéines de la famille des superoxydes dismutases (SOD) couplée à l'action de la catalase et de la glutathion peroxydase (Sathiya *et al.*, 2015; Christophe et Pedro, 2017).

Il existe trois différentes classes de SOD, catalysant toutes la même réaction. La SOD à cuivre et à zinc (Cu, Zn SOD que l'on trouve dans le cytosol et au niveau des liquides extracellulaires, la SOD à fer et la SOD à manganèse, dans les mitochondries (Milvia, 2013).



La catalase catalyse la dismutation du peroxyde dihydrogène en eau et oxygène moléculaire selon la réaction (Milvia., 2013) :



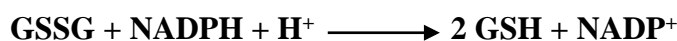
La catalase est l'une des enzymes antioxydantes les plus efficaces étant donné qu'elle n'est pas victime d'un phénomène d'inhibition aux fortes concentrations de H_2O_2 , elle diminue également la présence de OH^\bullet en catalysant sa décomposition quasi instantanément après sa génération.

En plus les deux enzymes précédents, on trouve le système de glutathion qui inclut, le glutathion réductase, le glutathion peroxydase. Le glutathion réductase (GR) est une

oxydoréductase NADPH-dépendant, coopérant avec la glutathion peroxydase. Il catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) à glutathion réduit (GSH). La stabilité des membranes cellulaires et subcellulaires dépend principalement du glutathion peroxydase et l'effet d'antioxydant protecteur de la glutathion peroxydase dépend de la présence du sélénium. Donc il appartient à un groupe d'antioxydants séléno-enzymes qui protègent les cellules des dégâts oxydatifs (Csiszár *et al.*, 2016).

Catalysant la dismutation de H₂O₂, la glutathion peroxydase est considérée comme un agent protecteur de l'hémoglobine. Son action, similaire à celle de la CAT, est toutefois beaucoup plus efficace pour les faibles concentrations de H₂O₂. Elle catalyse également l'élimination des radicaux lipidiques par le glutathion réduit (Csiszár *et al.*, 2016).

La glutathion réductase est une enzyme qui catalyse la régénération du glutathion réduit (GSH) par le cofacteur NADPH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate). Cette enzyme est pleinement intégrée dans le cycle d'élimination de H₂O₂ utilisant les couples redox GSSH/GSH, NADP⁺ /NADPH et la GPx.

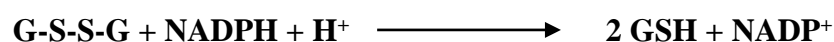


Le glutathion, sous sa forme réduite, est un tripeptide (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine) naturel synthétisé par les cellules et doté d'un groupement réducteur représenté par la fonction thiol de sa cystéine. Cette fonction thiol s'oxyde en présence de peroxydes, soit de manière spontanée (oxydation chimique du glutathion), soit de manière catalysée par les glutathion peroxydases GPx1-4 chez les mammifères (oxydation enzymatique du glutathion), selon la réaction suivante (Hameed *et al.*, 2014)



Le GSH et le G-S-S-G représentent le glutathion sous sa forme respectivement réduite et oxydée, et ROOH et ROH représentent respectivement un peroxyde et son alcool correspondant. Quand R = H, le peroxyde correspond au peroxyde dihydrogène ou eau oxygénée ; quand R = lipide, alors l'hydroperoxyde est de nature lipidique ou organique.

Le glutathion, sous sa forme oxydée, régénère le glutathion réduit en présence de NADPH via l'intervention de la glutathion réductase selon la réaction suivante :



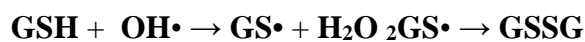
I.4.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, ces antioxydants se divisent en deux groupes, ceux qui sont issus de la biosynthèse (endogènes) et ceux qui doivent être apportés par l'alimentation (exogènes) (Kabel., 2014; Rakesh *et al.*, 2014).

Les antioxydants endogènes

Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules à savoir :

✚ Le glutathion ; est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants. Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire:



✚ L'acide urique est un piègeur de l'oxygène, des radicaux peroxydes, de l'ozone et de HClO. La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO•.

✚ Les protéines de stockage des métaux de transition : des protéines liant les métaux (Transferrine, Céruloplasmine, etc.), l'albumine ou l'haptoglobine diminuent le taux des ions métalliques libres en les complexant avec en conséquence, une diminution de leur pouvoir oxydant.

Les composés exogènes sont :

✚ La vitamine C (l'acide ascorbique) C'est un antioxydant qui doit être obtenu à partir de l'alimentation. Il est généralement considéré comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. C'est un cofacteur pour beaucoup de réactions enzymatiques importantes. Elle est aussi capable de recycler la vitamine E radicalaire (alpha-tocophéryl) en vitamine E active (alphatocophérol). La vitamine C devient à son tour radicalaire puisqu'elle a perdu un électron au profit de la vitamine E. Elle sera régénérée par un antioxydant enzymatique: Le glutathion sous sa forme réduite (GSH), lui-même régénéré à l'aide de NADPH et de l'enzyme glutathion réductase (GSH-R) (Otterness et Gans., 2015).

✚ L'alpha-tocophérol (la vitamine E) qui au niveau membranaire, elle peut séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine E ou α -tocophérol (α -Toch) est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile, correspondant au noyau chromanol et une extrémité hydrophobe (chaîne phytyle) (Willcox *et al.*, 2004).

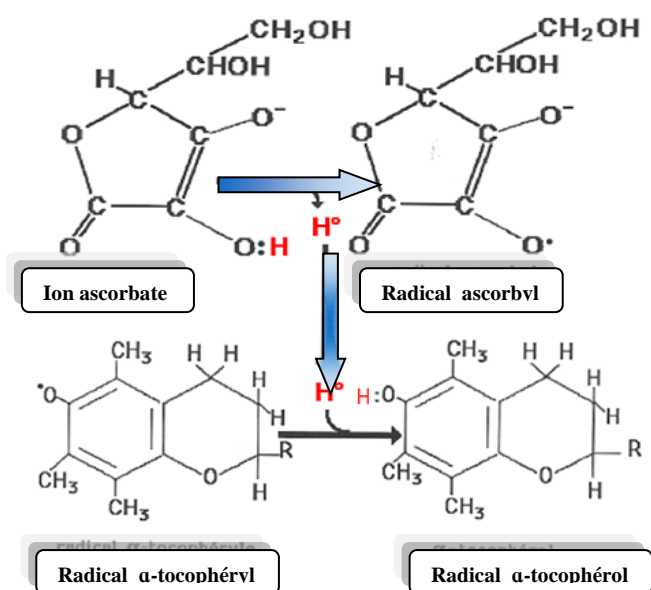


Figure 11. Régénération du tocophérol (vit. E) par l'acide ascorbique (Vit. C) (Valko *et al.*, 2004).

A ces composés exogènes s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

En fin, de nombreux composés phénoliques simples d'origine végétale tels que la vitamine C, la catéchine, la quercétine, les isoflavones, l'acide caféique ou encore l'acide gallique restent cependant un sujet de préoccupation permanente pour les scientifiques impliqués dans le domaine du stress oxydant, les polyphénols sont très appréciés pour leur pouvoir antioxydant. L'intérêt qu'on leur porte est tel que, lorsqu'ils ne sont pas miscibles à un milieu d'utilisation hydrophobe, plusieurs techniques ont été développées pour y remédier. Parmi ces techniques pour les rendre lipophiles et de bénéficier ainsi de leurs propriétés dans les corps gras est leur estérification soit par des acides ou par des alcools (Bouddah, 2009 ; Moukette *et al.*, 2015).

Les polyphénols expriment une activité anti-inflammatoire en modulant l'expression de ces gènes pro-inflammatoires (COX, LPO, NO synthases et plusieurs cytokines) (Capiralla *et al.*, 2012). Ils ont un potentiel d'arrêter la progression du cancer en modulant la prolifération et en stimulant la mort cellulaire par un effet toxique direct ou par modulation de l'expression de différents facteurs pro-apoptotiques (Link *et al.*, 2010; Rodrigo *et al.*, 2011). En plus de leur pouvoir de chélater des ions métalliques, les flavonoïdes sont capables d'inhiber plusieurs enzymes génératrices de l'anion superoxyde et d'autres ERO : xanthine oxydase (XO), protéine kinase C, cyclooxygénases (COX), lipooxygénases, monooxygénase microsomale et

glutathion S-transférase (Denisov et Afanas'ev., 2010). Les flavonoïdes possèdent un noyau aromatique permettant une délocalisation électronique qui stabilise les formes radicalaires. Ils sont capables de réduire l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical peroxy (ROO^{\bullet}), le radical alkoyle (RO^{\bullet}) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) par transfert d'hydrogène. Le radical aroxyde formé peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable (Deepshikha., 2015)

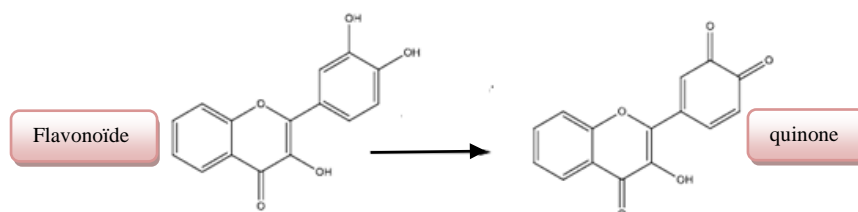


Figure 13. Formation d'une structure quinone stable (Procházková et Boušová., 2011)

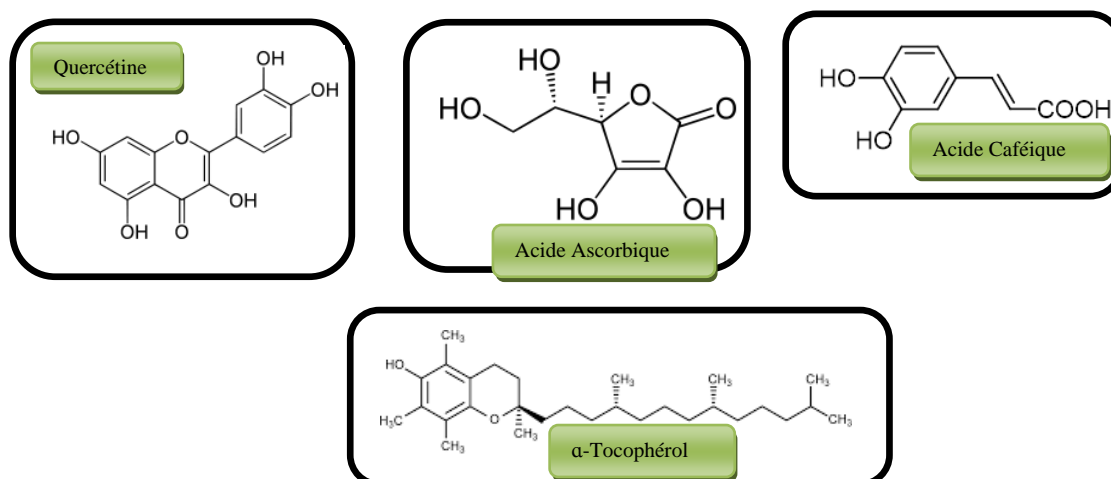


Figure 12. Structure de quelques antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol, acide ascorbique, α -Tocophérol, acide caféique et quercétine (Hannebelle., 2006).

Les tanins sont capables de stopper la peroxydation lipidique en donnant des protons aux radicaux libres lipidiques et en formant des radicaux taniques stables. *In-vitro* ce sont des piègeurs de radicaux et des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde (Jimoh *et al.*, 2016).

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) sont des antioxydants synthétiques lipophiles. Le BHA et le BHT sont les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont principalement employés comme conservateurs, à faible concentration, dans les produits

cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. Néanmoins, leur utilisation reste controversée, les produits de dégradation du BHA et du BHT étant suspectés d'être cancérogènes (Fatih et Duygu., 2013).

I.4.3. Cibles potentielles des ERO

À ses fonctions biologiques, s'ajoute des propriétés toxiques importantes et diversifiées. La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Robert., 2006).

Les glycolipides, les phospholipides et le cholestérol sont les cibles préférées d'endommagement radicalaire (Ayala *et al.*, 2014).

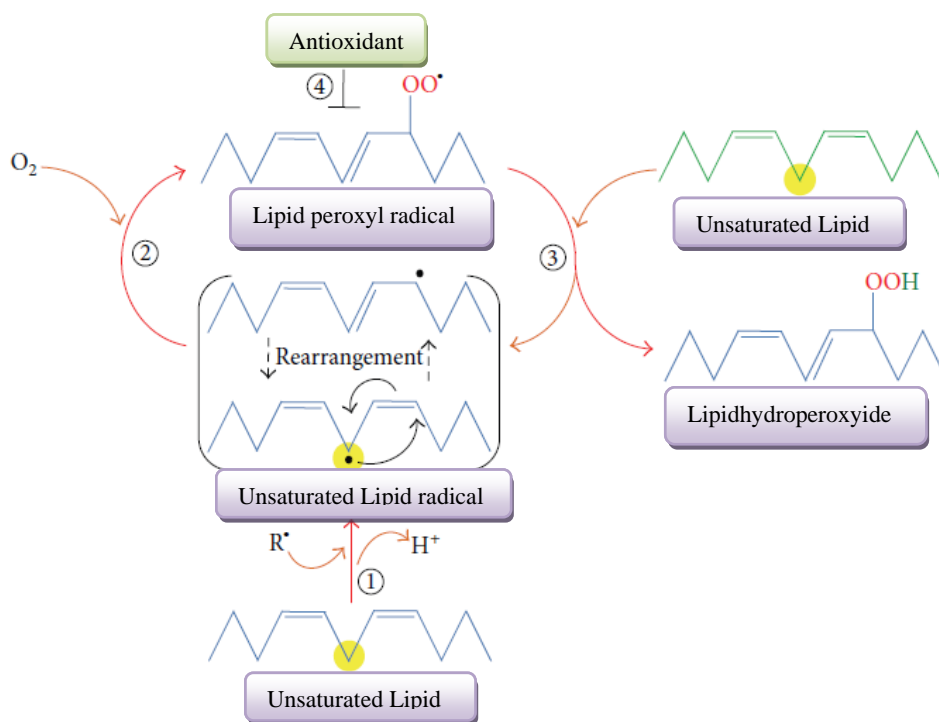
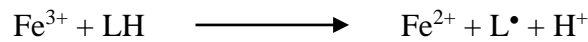


Figure 14. Peroxydation lipidique (Ayala *et al.*, 2014).

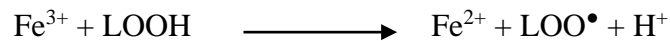
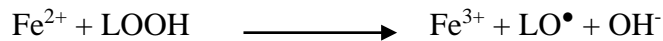
Le processus de la peroxydation lipidique peut être amorcé par divers types d'oxydants radicalaires qui sont fortement réactifs au cours des états pathologiques (H_2O_2 , le O_2^\bullet et les OH^\bullet), ou à partir des molécules non radicalaires tels que l'exposition à des xénobiotiques,

aux polluants environnementaux et par les métaux de transition comme le fer et moins souvent le cuivre selon les équations suivantes (Gaschler et Stockwell., 2017):

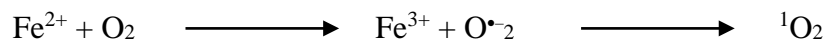
- ✚ La production directe de radicaux alkyls (Graisse, huile).



- ✚ La décomposition des hydroperoxydes en radicaux peroxydes ou alkoxydes



- ✚ Ou L'activation de l'oxygène moléculaire puis la production de l'oxygène singlet.



Les mutations géniques sont à l'origine de l'oxydation des bases nucléiques. C'est ce qui explique, sans doute, la génotoxicité des radicaux libres. L'ADN mitochondriale, du fait de sa proximité avec la chaîne respiratoire, est potentiellement exposé à l'oxydation du fait de l'absence de la chromatine organisée (Van Gisbergen *et al.*, 2015).

Malgré leur durée de vie extrêmement brève, les radicaux libres de l'oxygène peuvent interagir avec un certains nombre de substrats biologiques en provoquant des scissions de l'ADN et par conséquent une atteinte au code génétique (Morel et Barouki., 1998). Le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) est capable de transformer une guanosine en 8-hydroxydéoxyguanosine (8-OH-dG), une forme oxydée qui peut s'apparier à tort avec une adénine et provoquer une transversion de G-C en T-A (la 8-OH-dG étant la base azotée nucléotidique oxydée la plus abondante chez l'homme, celle-ci est souvent utilisée comme biomarqueur des dommages oxydatifs à l'ADN). De cette façon, les ROS sont impliqués dans les processus de cancérogenèse, notamment par des mutations ponctuelles au niveau de proto-oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeur (Cividini *et al.*, 2016).

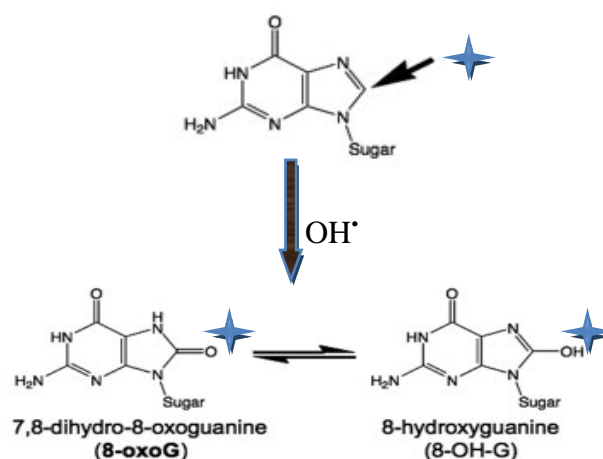


Figure 15. Oxydation d'une base purine (Cividini *et al.*, 2016) .

Les radicaux libres sont à l'origine de l'altération et de l'usure des tissus mais ils protègent aussi notre organisme contre des infections et des tumeurs. Pour le bon fonctionnement de nos organes, des petites quantités de ces substances sont nécessaires, parce qu'elles jouent un rôle de signalisation entre les cellules. Par contre leur excès entraîne des dommages importants et irréversibles dans l'organisme. De multiples structures biologiques telles que les protéines, les lipides, les sucres, l'ADN, subissent des attaques oxydantes par ces radicaux, provoquant des altérations et des dysfonctionnements cellulaires à l'origine de nombreuses pathologies (maladies cardiovasculaires, maladies neuro-dégénératives, cancers, diabète, sclérose).

I.5 Plantes étudiées

I.5.1 *Onopordum acanthium* L.

I.5.1.1 Description botanique et classification

Onopordum acanthium, ou chardon aux ânes ou encore Onopordon à feuilles d'acanthé, est une grande plante à cycle de végétation bisannuelle, pouvant atteindre 2 m de haut. C'est une plante ornementale, pleine d'ambivalence, à la fois douce et redoutable, armée d'épines acérées, depuis les feuilles grises et pelucheuses jusqu'aux épaisses tiges d'un blanc cotonneux. Les feuilles vertes moyennes, ou blanchâtres, sont simples et alternes, pétiolées avec un bord pinnatifide. Les fleurs sont violettes (occasionnellement plus rosé). Il s'agit d'une plante de la famille des composés ou astéracées (Hyde-Wyatt *et al.*, 1968).

Noms vernaculaires : Chardon à feuilles d'Acanthe, Artichaut sauvage, chardon aux ânes, pet d'âne, herbe aux ânes, chardon d'Écosse ; « Scotch Thistle » en anglais et « El bek » en arabe.

Selon la littérature, *O. acanthium* est originaire d'Angleterre et du sud de l'Écosse, mais d'autres auteurs ont déclaré qu'il est exclusivement du centre et du sud de l'Europe vers le nord de la France et la Russie centrale. (Cavers *et al.*, 2011; Mucina, 1989). Selon Harden, (1990) *O. acanthium* se développe aussi dans des régions chaudes de l'Afrique du nord.

La plante se développe à la lumière et sur les sols sablonneux ou rocailleux. La température, l'humidité, plutôt que les concentrations de nutriments du sol, déterminent la performance écologique des espèces *O. acanthium* (Austin *et al.*, 1985).

O. acanthium est une espèce décrite en 1753 par le naturaliste suédois Carl Von Linné (1707-1778). Elle se classe comme suit :

Règne **Plantae**

Division **Magnoliophyta**

Classe **Magnoliopsida**

Ordre **Asterales**

Famille **Asteraceae**

Genre ***Onopordum***

Espèce ***O. acanthium L.***



Figure 16. La feuille et fleur d'*O. acanthium*

I.5.1.2 Intérêt thérapeutique des astéracées

De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle et sont associées à un panel d'activités thérapeutiques aussi large que la diversité de cette famille.

O. acanthium est utilisé depuis longtemps pour ses vertus médicinales, et conserve un potentiel de valorisation encore prometteur. Le genre *Onopordum* présente une diversité surprenante par son nombre d'espèces (cinquantaine) et demeure une source de produits capables de résoudre beaucoup de problèmes de santé humaine (Bruno *et al.*, 2011).

Les racines de première année et les jeunes pousses d'*O. acanthium* ont été utilisées comme légume dans le sud de l'Europe (Moore et Frankton, 1974). Après avoir enlevé les bractées extérieures, les têtes de fleurs immatures peuvent être bouillies ou cuites à la vapeur et servies avec du beurre. Les jeunes tiges sont consommées crues avec de l'huile et du vinaigre ou cuites à la vapeur et mangées chaudes après blanchiment et épluché (Bremness, 1989). Le jus de feuilles est utilisé pour traiter les éruptions cutanées, les ulcères, le rachitisme, les troubles nerveux et le cancer. Les décoctions de racines peuvent réduire les rejets de mucus (Bremness, 1989). L'extrait aqueux des tiges et des feuilles, récemment testé contre les cellules tumorales, a montré une augmentation intermédiaire avec plus de 38% de cytotoxicité (Abuharfeil *et al.*, 2001). La plante entière constitue un élément décoratif

remarquable dans les jardins et est largement appréciée comme espèce ornementale (Haughton, 1978).

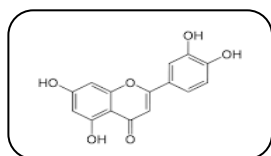
Dans la médecine moderne, *O. acanthium* possède des propriétés bactéricides, cardiotoniques, hypotenseur et agent hémostatique et est utilisé contre l'hypotonie. Cette espèce a plusieurs composants bioactifs notamment les lactones sesquiterpènes qui se sont avérés avoir de nombreuses propriétés biologiques, à savoir antibactériennes, anti-inflammatoires, antipaludiques et hypotenseurs (Roshanak *et al.*, 2018).

Il a été aussi démontré que les lactones sesquiterpéniques étaient des marqueurs chimiotaxonomiques pertinents dans la classification de la famille des astéracées. Elles présentent très fréquemment un groupe méthylène en position α de la lactone qui peut être endo- ou exocyclique. Cette double liaison en α d'une fonction carbonyle est un motif clé de ce type de molécules et leur confère une haute réactivité associée à de nombreuses propriétés biologiques en réagissant comme un motif électrophile accepteur de Michael (Scotti *et al.*, 2012).

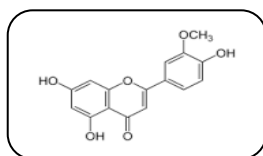
Selon la bibliographie les lactones sesquiterpéniques possèdent plusieurs pouvoirs thérapeutiques à savoir; antibactériens, antifongiques, antiprotozoaires et surtout anti-inflammatoires et antitumorales (Pillay *et al.*, 2007).

Parmi d'autres molécules sentinelles chimique des espèces d'Asteraceae, on peut citer les flavonoïdes, les coumarines, les dérivés du phénylpropane (Bruno *et al.*, 2011). Ces composés sont convoités pour leur utilisation dans des produits de santé ou comme complément alimentaires.

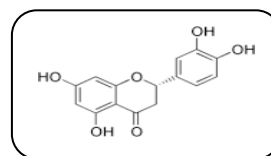
L'analyse phytochimique des parties aériennes a permis d'identifier le lutéoline 7-O-glucoside, l'apigénine, la quercétine, l'isorhamnétine, l'esculine, la choline, la stachydrine, l'acide caféique, l'acide chlorogénique et l'acide quinique. Des polyènes ont été isolés des racines. Plus tard, un sesquiterpène lactone, onopordopicrine, a été identifié à partir des feuilles fraîches. A partir des fleurs fraîches d'*O. acanthium* a été isolée la lutéoline, chrysoeriol, ériodictyol, isoquercétine, isorhoifoline, 7-O-glucuronide d'apigénine, 3,5-diglycoside de cyanuration, saccharides et acides aminés (Lajter., 2015).



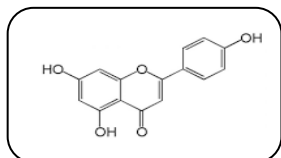
Lutéoline



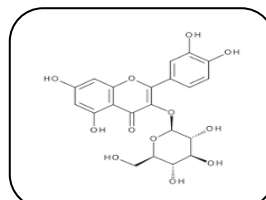
Chrysoeriol



Eriodictyol



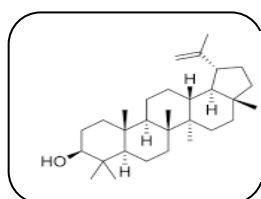
Apigénine



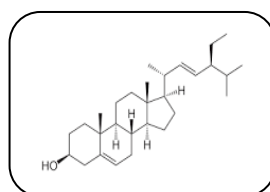
Isoquercétine

L'apigénine est une sous-classe de flavonoïdes non toxiques et non mutagènes, présente dans les fruits et légumes (cardon, céleri, artichaut, persil, etc.), dont certains sont largement commercialisés comme suppléments diététiques et à base de plantes (Sharma *et al.*, 2014). L'apigénine a fait l'objet d'une attention considérable en raison de ses effets anticancéreux, antiviraux, antibactériens, antioxydants, pro-apoptotiques et anti-inflammatoires (Kanazawa *et al.*, 2006 ; Cai *et al.*, 2011).

De plus des alcools triterpéniques, le lupéol, acétate d'amyrine et 6 stéroïdes (Δ^5 -avénastérol, campestérol, stigmastérol, β -sitostérol, brassicastérol et cholestérol) ont été détectés dans les graines. Des chercheurs russes ont étudié diverses parties d'*O. acanthium* et identifié des triterpénoïdes (taraxastérol, lupéol et α - et β - amyrine) et leurs acétates (acétate de taraxastéryle, acétate de lupéol et acétate d' α - et de β -amyrine) à partir des fleurs, des feuilles et des tiges et un nouveau glycoside phénylpropanoïde, l'aconiside, à partir des graines. (E)-1-Oxo-3-3-dihydro-1H-isochromen-7-yl-3- (3,4-dihydroxyphényl) acrylate à partir des graines (Lajter, 2015).



Lupéol



Stigmastérol

D'autres travaux ont isolés et identifiés à partir des racines de la plante trois sesquiterpènes lactones (4 β , 15-dihydro-3-déshydro-zaluzanine C, zaluzanine C et 4 β , 15,11 β , 13-tétrahydrozaluzanine C), un néolignan (nitidanin-diisovalerianate), une oxylipine (13-oxo-9Z, 11E- acide octadécadiénoïque), le 24-méthylènecholestérol, l'acide α -linoléique et l'acide linoléique (Csupor-Löffler *et al.*, 2014).

I.5.2 *Spartium junceum* L.

I.5.2.1 Description botanique et classification

La famille des légumineuses est une des plus importantes parmi les dicotylédones. C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales. Avec presque 19500 espèces réparties en plus de 751 genres (The Legume Phylogeny Working Group, 2013). Les Fabaceae constituent par ordre d'importance le troisième ensemble des Phanérogames après les Asteraceae et les Orchidaceae. Le genre *Spartium* est l'une des trois sous-familles appartenant à la famille des Fabaceae (Botineau, 2010).

Tournefort conserva le nom de *Spartium*, comme nom générique, à un genre de la famille des légumineuses qui avait pour type le *S. junceum*, L c'est-à-dire le genêt d'Espagne, et dont le caractère consistait dans les feuilles qui sont très peu nombreuses, presque nulles et simples. Les caractères assignés par Linnaeus au *Spartium* le distinguent si peu du genre génista, que divers botaniste ont cru devoir les réunir, mais le plus grand nombre s'est contenté de modifier ces deux genres en retirant quelques espèces qui ont été transposées d'un genre à l'autre qui ont servi de type aux genres *Lebeckia* et *Rafnia* (Heywood, 1996).

S. junceum est une arbuste qui peut atteindre 4 mètres de hauteur, non épineux, dressé, à rameaux effilés, cylindriques, compressibles, finement striés, de couleur verdâtre, très peu de feuilles, unifoliolées rapidement caduques, glabres en dessus, à poils appliqués en dessous ; fleurs jaunes, grandes, aromatisées, situées en grappes terminales ; calice scarieux, glabre, fendu jusqu'à la base en une seule lèvre coupée obliquement et terminée par 5 petits dents ; étendard grand, orbiculaire, redressé ; carène en bec acuminé ; étamines monadelphes ; style courbé au sommet ; gousse de 6-8 cm sur 7 mm, linéaire, presque glabre, noire à la maturité. Le genre *Spartium* des légumineuses se localise aux Coteaux arides de toutes la méditerranée, en Afrique du nord jusqu'aux Iles de Canaries. En Algérie le genre *Spartium* est représenté par *S. junceum* (Quezel et Santa, 1962).

Noms vernaculaires: Genêt d'Espagne. En Algérie connu sous le nom de: Tertak, Kessaba.

Règne : **Plantae**

Sous-règne : **Tracheophyta**

Division : **Magnoliophyta**

Classe : **Magnoliopsida**

Sous-classe : **Rosidae**

Ordre : **Fabales**

Famille : **Fabaceae**

Genre : *Spartium*

Espèce : *S. junceum* L.



Figure 17. Les tiges et fleurs de *S. junceum*

I.5.2.2 Etudes phytochimiques antérieures

S. junceum est très peu étudié en Algérie, c'est pourquoi cette plante à laquelle est consacré ce travail constitue une source intéressante de nouveaux produits naturels et potentiellement actifs.

Les analyses des huiles essentielles des fleurs de *Spartium junceum* montre qu'ils sont constitués principalement d'hydrocarbures monoterpènes avec le β -thujène comme composés majoritaire (Bezic *et al.*, 2003). Les travaux de Miraldi (2004) ont montré que les principaux composés chez *Spartium junceum* (Genisteae) sont les tricosanes, tétracosane et le pentacosane et signalent leurs importances dans la sensibilité des insectes dans la sélection des plantes hôtes.

Des investigations phytochimiques réalisés sur l'espèce *S. junceum* ont permis l'isolement des flavonoïdes notamment des isoflavonoides à savoir; spartincarpine (2,3-dimethoxy-9-hydroxypterocarpan), Apigenin-7-O- β -Dglucopyranoside et genistein-8-C- β -D-glucopyranoside. Ces métabolites peuvent bloquer la croissance incontrôlée des cellules cancéreuses, en inhibant l'activité de facteurs de croissance, des substances qui régulent ou favorisent la division cellulaire et la survie cellulaire (Lopez-Lazaro M. 2009).

L'Apigénine-7-O-β-D-glucopyranoside possède plusieurs activités biologiques et est actuellement prescrit pour traiter les maladies inflammatoires telles que les infections des voies respiratoires supérieures (Bhaskaran *et al.*, 2010). Il a récemment été montré que Apigénine-7-O-β-D-glucopyranoside possédait un potentiel anxiolytique chez le rat, comparable aux médicaments de référence apigénine et diazépam (Kumar et Bhat., 2012).

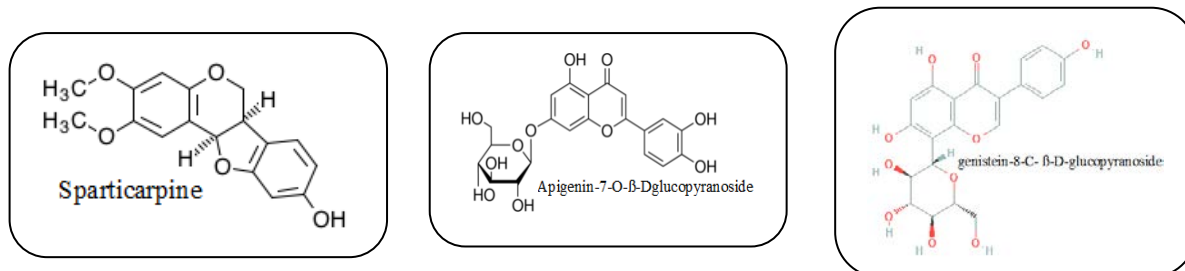


Figure 18. Flavonoïdes identifiés chez *S. junceum*.

S. junceum est connue pour la toxicité de ses graines qui renferment de la cytosine et de la spartéine. Les autres alcaloïdes sont la lupanine et ses dérivés hydroxylés, l'ammodendrine. La cytosine a été découverte en 1818 et isolée en 1865 (Harborne et Herbert., 1995). Son activité nicotinique a été découverte dès 1912. Elle a été utilisée comme substitut de la cigarette durant la seconde guerre mondiale avant d'être proposée comme méthode pour l'arrêt du tabagisme (Prochaska *et al.*, 2013).

La spartéine est un agent antiarythmique de classe 1a : un bloquant du canal sodium. C'est l'alcaloïde prédominant du *Lupinus mutabilis* (Dewick, 2001). D'une part, elle est reconnue comme un tonocardiaque grâce à son activité ganglioplégique (= bloque les récepteurs nicotiques de la synapse ganglionnaire) (Viars, 1979), d'autre part, pour son activité ocytocique (= augmente modérément le tonus et la vigueur des contractions de l'utérus) (Hazard, 1950). Par ailleurs, le sulfate de spartéine est prescrit dans le traitement de l'érythisme cardiaque et des tachycardies sinusales d'origine neurotonique (Bruneton, 1987). Tandis que, la lupanine, alcaloïde très toxique, peut provoquer deux maladies dites ; le lathyrisme et le favisme, sont associés à la consommation de légumes. La surconsommation cause une paralysie progressive des membres inférieurs qui peut devenir permanente, suivie de complications neuro-squelettiques plus généralisées qui provoquent éventuellement la mort du patient (Potier *et al.*, 2010).

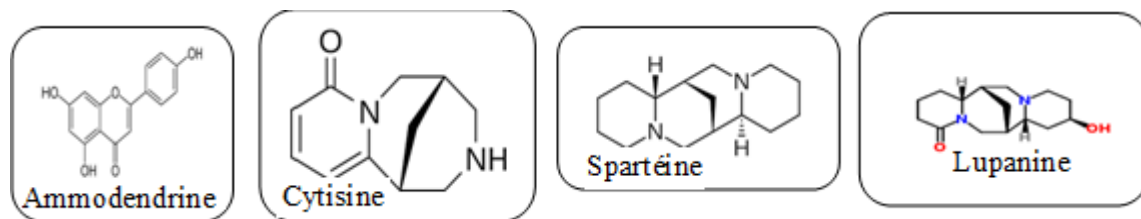


Figure 19. Structure de quelques Alcaloïdes identifiés chez *S. junceum*.

II.1 Extraction et partitionnement

II.1.1 Matériel végétal

Les plantes *O. acanthium* et *S. junceum* ont été identifiés par le Professeur BENAYACHE Samir. Unité de Recherche " Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques. Université des frères Mentouri. Constantine, ont été récoltées pendant la période du mois de juin 2011 Daira d'Elhamma 35° 27' 49" Nord, 7° 04' 57" Est (Wilaya de Khenchela) et d'Ain Smara 36° 16' 03" Nord, 6° 30' 05" Est (Wilaya de Constantine).

Les feuilles, les fleurs et les tiges de *S. junceum* et d'*O. acanthium* ont été découpées et séchées à l'abri de la lumière, à température ambiante pendant environ une semaine puis réduites en poudre.

La poudre de chaque partie de plante a été macérée dans un mélange de 3 L de méthanol-Eau distillée à raison 80% pendant cinq jours. Le mélange a été remué deux fois par jour. Le macérât a, ensuite, été filtré à l'aide du coton, puis le solvant des filtrats évaporé à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI R-200/205).

Deux extractions ont été effectuées pour chaque échantillon et le rendement d'extraction a été calculé par rapport à la masse du matériel végétal sec. Les extraits bruts des deux plantes ont été épuisés successivement à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et en fin au *n*-butanol selon la méthode de Markham, (1982). (Figure 20).

L'extrait brut a été dissout dans l'eau distillée puis a subi des extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante : l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol successivement. Les quatre fractions organiques récupérées sont concentrées et séchées à l'étuve à 40 °C pour évaporation complète des solvants et le rendement d'extraction a été déterminé par rapport à la masse d'extrait brut.

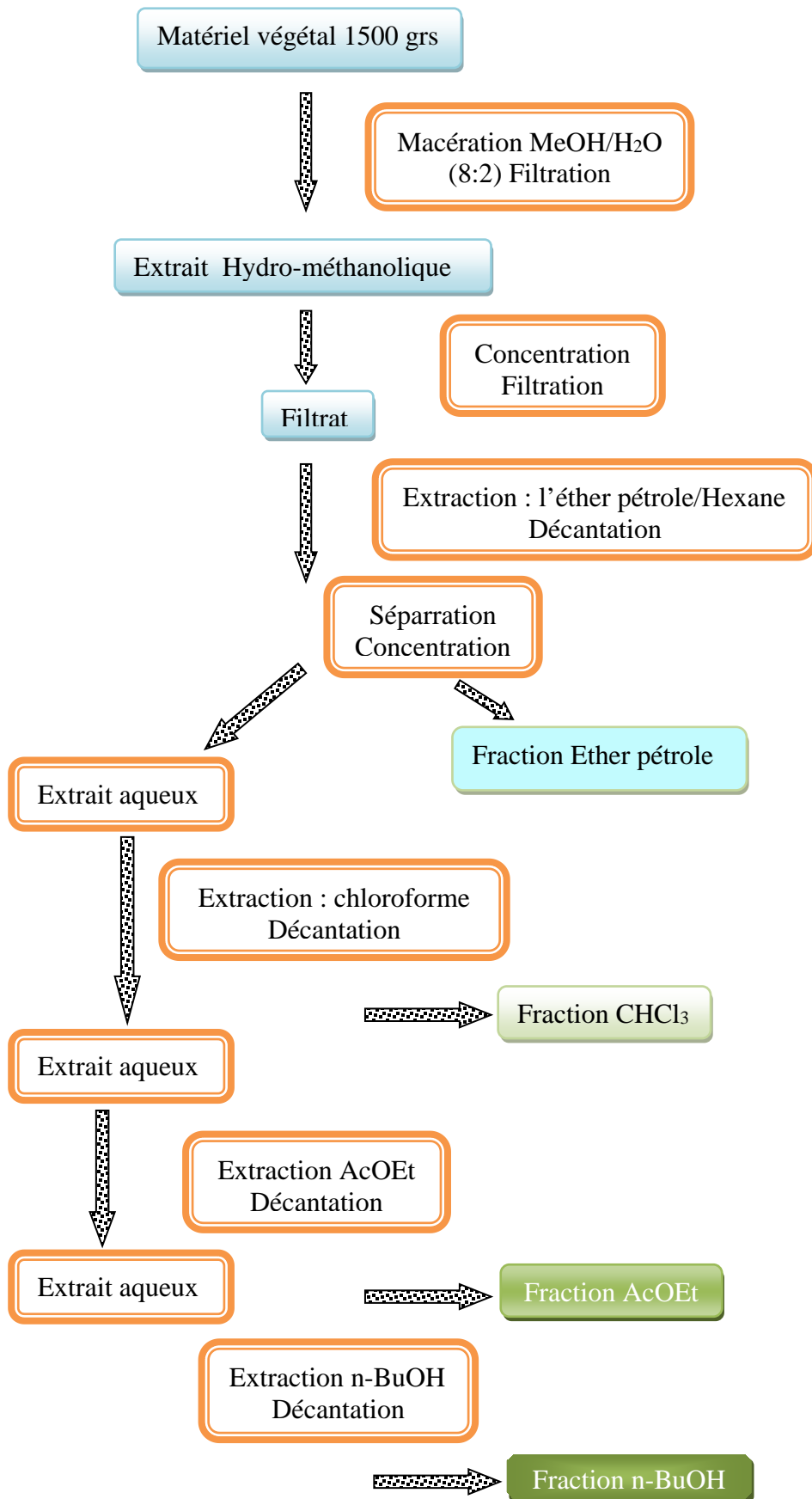


Figure 20. Protocole d'extraction du matériel végétal (Markham, 1982).

II.1.2 Analyse qualitative des extraits

La détermination des profils et l'identification des composés individuels dans les échantillons exige des techniques séparatives de précision, entre autres L'HPLC qui reste la technique analytique la plus utilisée pour caractériser les composés polyphénoliques. L'analyse a été réalisée par une HPLC au niveau du département des sciences pharmaceutiques et des produits de santé (Faculté de Pharmacie. Messina, Italie).

II.1.2.1 Tests phytochimiques

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes et techniques de préparation et d'analyse de substances organiques naturelles de la plante. Au départ, on ignorait tout de la composition chimique des plantes médicinales utilisées tous les jours par de nombreuses populations pour se soigner. Pour parvenir à une amélioration de cet usage de plantes médicinales, plusieurs investigations phytochimiques ont été réalisées afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelle de ces plantes.

Ces techniques permettent de détecter la présence des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. Le nombre de ces classes est important. Seules les classes qui sont reconnues comme actives seront retenues pour une investigation phytochimique et pharmacologique ultérieure plus poussée.

Les tests de détection des groupes composés ont porté sur les feuilles d' *O acanthium* et les tiges de *S junceum* selon les techniques analytiques décrites dans les travaux de Kone (2013) Ciulei (1989), Rizk (1982), (Edeoga *et al.*, 2005 ; N'Guessan *et al.*,2009), (Majob 2003) et Bruneton (1993).

a- Recherche des alcaloïdes (test de Mayer)

Cent milligrammes d'extrait ont été introduits dans un tube à essai contenant 3 mL d'acide sulfurique 1%. L'ensemble a été porté à ébullition au bain-Marie (100°C) pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 gouttes de réactif de Meyer ont été ajoutées (Majob., 2003).

b- Recherche des saponines

Cent milligrammes d'extrait ont été introduits dans un tube à essai contenant 5 mL d'eau et l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 10 mL de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15mn de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (N'Guessan, 2009).

c- Recherche des triterpène et stéroïdes : test de Liebermann-Burchard

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 mL de chloroforme et 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré y ont été ajoutées. La formation d'une phase supérieure rouge-violacée indique la présence des triterpènes, alors que le développement d'une coloration bleue à l'interface indique la présence des stéroïdes (Bruneton, 1993).

d- Recherche des composés phénoliques

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 mL d'éthanol et 5 gouttes de FeCl₃ y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre indique la présence des phénols. La présence des composés phénoliques sera marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (Bruneton, 1993).

e- Recherche des anthraquinones

L'extrait (0,1 g) a été ajouté à 4 mL du mélange éther-chloroforme (1:1 v/v). La solution ainsi obtenue a été traitée avec 4 mL de soude 10% et l'apparition d'une coloration rouge a indiqué la présence des anthraquinones (Rizk, 1982).

f- Recherche des tanins

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 5 mL d'eau distillée et la solution a été chauffée pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 4 gouttes de chlorure de fer 0,5% ont été ajoutés à 2 mL de filtrat. La présence des tannins a été indiquée par la formation d'un précipité bleu (Rizk, 1982).

g- Recherche des flavonoïdes : test de Shinoda

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 mL de méthanol. 0,05 g de copeau de magnésium et 4 gouttes d'acide sulfurique y ont ensuite été ajoutés. Le développement de la couleur orange a indiqué la présence des flavonoïdes (Houmènou *et al.*, 2018).

h- Recherche des anthocyanines

L'extrait (0,1 g) a été ajouté à 5 mL d'une solution d'acide sulfurique 1%. L'apparition d'une coloration orange a montré la présence des anthocyanines (Rizk, 1982).

i- Recherche des coumarines

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 mL de méthanol contenu dans un tube à essai, puis le tube a été recouvert d'un morceau de papier imbibé d'une solution de soude 10%. L'absence de la fluorescence jaune-vert à l'UV (254 nm) a révélé l'absence des coumarines (Rizk, 1982).

II.1.2.2 Analyse qualitative par HPLC

Principe : 2µl de chaque extrait des deux plantes ont été injectés sur une colonne de type phase inversé C18 (15 cm x 4,6 mm I.D). La phase mobile constituée de deux éluants ; l'eau distillée / acide acétique (0,075%) à pH = 3 (Solvant A) et ACN / acide acétique (0,075%) (Solvant B), respectivement. Dans le mode de gradient linéaire suivant: 0 min, 0% B; 60 min, 40% B; 80 min, 100% B; 81 min, 0% B. Le débit de la phase mobile était de 1,0 mL / min. La détection a été réalisée par un détecteur UV. La gamme de longueur d'onde de PDA était de 190-400 nm et les chromatogrammes ont été effectués à 254 nm (fréquence d'échantillonnage : 6,25 Hz, constante de temps: 0,32 s). Les extraits (10 mg) ont été dissous dans 1 mL de méthanol et filtrés à travers un filtre à membrane de 0,45 µm (Whatman, Clifton, USA). L'acidification de la phase mobile permet d'éviter l'ionisation des nombreux groupes hydroxyles des composés phénoliques pendant l'analyse, ce qui améliore en même temps la résolution et la reproductibilité (Mišan *et al.*, 2011)

II.1.3 Analyses quantitatives des extraits

Des déterminations quantitatives des principaux composés phénoliques ont été effectuées sur les extraits des feuilles, des fleurs et les tiges d'*O. acanthium* et de *S. junceum*.

II.1.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu décrite par Singleton *et al.*, 1999, ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent ce réactif en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Katalinic *et al.*, 2006).

A un volume de 125 µl de solution d'extrait, 1 mg dans 1 mL d'eau distillée, on ajoute 500 µl d'eau distillée puis à 125 µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 1250 µl de carbonate de sodium (20 g/L) sont additionnés. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 90 minutes à température ambiante, puis la lecture est faite à 760 nm.

L'acide gallique (50-500 µg/mL) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en µg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

II.I.3.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Barros *et al.*, 2011) légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits d'*O. acanthium* et *S. junceum*.

A 1 mL de la solution d'extraits (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 mL d' $AlCl_3$ à 2% dans le méthanol, le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent de quercétine par g de poids sec de la plante (mg EQ/g/ Ps).

II.2 Essais biologiques *in-vivo*

Des rats mâles et femelles, *Albinos Wistar*, pesant entre 150 et 180g, ont été utilisés lors de l'étude *in-vivo*. Ces animaux ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation où la température moyenne varie entre 20-25 °C, avec un cycle photopériodique de 12 heures de lumière/obscurité. Chacune des cages porte cinq rats du même sexe mâle. Les animaux ont bénéficié d'une période d'adaptation avant leur utilisation.

II.2.1 Activité anti-inflammatoire « Œdème à la carragénine »

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par Winter *et al.*, (1962)) et adaptée par Antonisamy (2011) selon laquelle l'inflammation est provoquée par l'injection de 100 μ L d'une solution de carragénine à 1% dans l'eau physiologique stérile NaCl (0,9%) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat.

Pour l'activité anti-inflammatoire, quatre lots de six rats ont été utilisés. Ces rats sont de sexe mâle et ont été mis à jeun 16 heures avant l'essai (8). L'extrait butanolique d'*O. acanthium* a fait l'objet de cette activité.

Les mesures des volumes de la patte postérieure droite de chaque rat ont été effectuées avant l'induction de l'œdème et à chaque 1 h, 2 h, 3 h, 4 h et 5 h après l'injection de la carragénine.

Protocole :

Lot 1 témoin: Les rats reçoivent la solution véhicule (Eau physiologique) par voie orale (gavage), 1 heure avant l'injection de la carragénine (100 µl; 0,6%) dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.

Lot 2 référence : Les rats traités par voie orale avec un anti-inflammatoire (l'aspirine, 100mg/kg+CMC à 0,5%), une heure avant l'injection de la carragénine.

Lots 3 et 4 : L'extrait à tester (extrait butanolique *O. acanthium*) est administré aux rats par voie orale à raison de 200, 400 mg/kg 1h avant l'injection de la carragénine. Le volume de la patte a été mesuré par immersion dans le liquide contenu dans la cellule du pléthysmomètre (Ugo Basile n°7140). Ce volume est enregistré grâce au pléthysmomètre.

Le volume de l'œdème à un temps donné (V_T) est obtenu par la relation suivante :

$$VT = V_t - V_0$$

V_0 : Volume initial de la patte avant l'injection de la carragénine pour provoquer l'œdème.

V_t : Volume de la patte au temps t après injection de la carragénine.

L'activité anti-inflammatoire est exprimée en variation de volume V et en pourcentage d'inhibition de l'œdème pour chaque groupe traité par l'eau physiologique, l'extrait et l'aspirine. Les moyennes des groupes traités par les extraits et l'aspirine ont été comparées avec celles du groupe témoin (Contrôle négatif) traité par l'eau distillée.

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est mesuré selon la formule suivante:

$$\% \text{ Inhibition} = 100 * [(MA_0 \text{ témoin} - M A_t \text{ traité}) / M A_0 \text{ témoin}]$$

MA₀ ; Moyenne de l'augmentation de la patte témoin.

MA_t ; Moyenne de l'augmentation de la patte du lot traité.

II.2.2 Activité analgésique

Cette étude a été réalisée selon la méthode de Yangchen *et al* (2010). Elle consiste à induire une action d'un algogène (l'acide acétique 1%) par voie intrapéritoniale. Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez le rat par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales. L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 30 min après l'injection de l'agent algogène.

Pour chaque essai de l'activité analgésique, trois lots de six rats chacun ont été utilisés. Ces rats sont de sexe mâle et ont été mis à jeun 16 heures avant l'essai. Les extraits testés sont les extraits *n*-butanol de chaque plante.

Protocole :

Lot témoin : Les rats reçoivent la solution véhicule (eau physiologique).

Lot référence : Les animaux ont été traités par voie orale avec un analgésique (l'Aspégic 500 mg/ Kg.).

Lots 3- 6 : Les animaux reçoivent par voie orale l'extrait "extrait *n*-butano" *O. acanthium* à différentes doses 100, 300, 600, 900 mg/kg respectivement.

Lots 7- 10 : Les animaux reçoivent par voie orale l'extrait *n*-butanol" *S. junceum* à différentes doses : 100, 300, 600, 900mg/kg respectivement.

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

$$\% \text{ d'inh des crampes} = \frac{[\text{Moyenne témoin} - \text{Moyenne essai}]}{\text{Moyenne témoin}} * 100$$

I.3.3 L'activité antipyrétique

Seize heures avant le test, les rats sont mis à jeun et reçoivent en injection sous-cutanée dans la région dorsolatérale une suspension aqueuse de levure de bière à 20 % (1 mL/100 g de poids corporel). Nous avons opéré sur quatre lots de six rats chacun (Srivastava *et al.*, 2013).

Lot témoin : solution physiologique NaCl 9 %.

Lot 2 : acétylsalicylate de lysine 500 mg/kg de poids corporel.

Lot 3, 4 : l'extrait *n*-butanol *O. acanthium* aux doses 100, 300 mg/kg respectivement. La température a été mesurée 1/2, 1, 2, 3 et 4 heures après l'administration des substances.

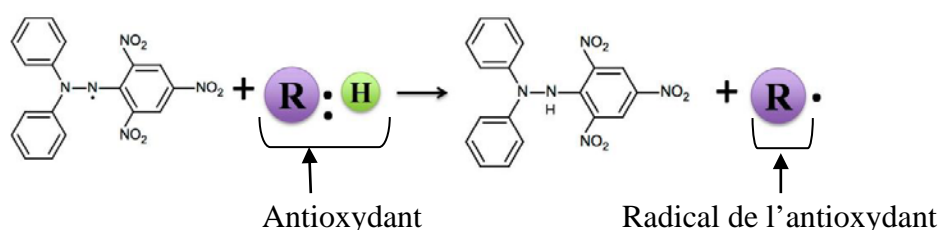
I.3 Activité antioxydante

II.3.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH. 40µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/mL) sont ajoutés à 160 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 40µl de méthanol avec 160µl de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante (Sharma et Bhat, 2009).

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : BHT et BHA dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3 fois.

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires du moins pour ce qui est des composés phénoliques hétérosidiques. Selon la littérature les polyphénols peuvent se répartir de façon inégale dans les différentes parties d'une même plante (Falleh *et al.*, 2007; El-Haci *et al.*, 2012)



Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) et les valeurs de l'EC₅₀ ont été déterminées graphiquement par régression linéaire.

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} * 100$$

II.3.2 Test de réduction du radical cation ABTS⁺

En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) forme le radical ABTS^{•+}, de couleur bleu-verte. L'ajout d'antioxydant réduit ce radical et provoque une décoloration de l'ABTS. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants (Re *et al.*, 1999).

160 µl ABTS^{•+} + 40 µl extrait + incubation 10 min + Lecture à 734 nm.

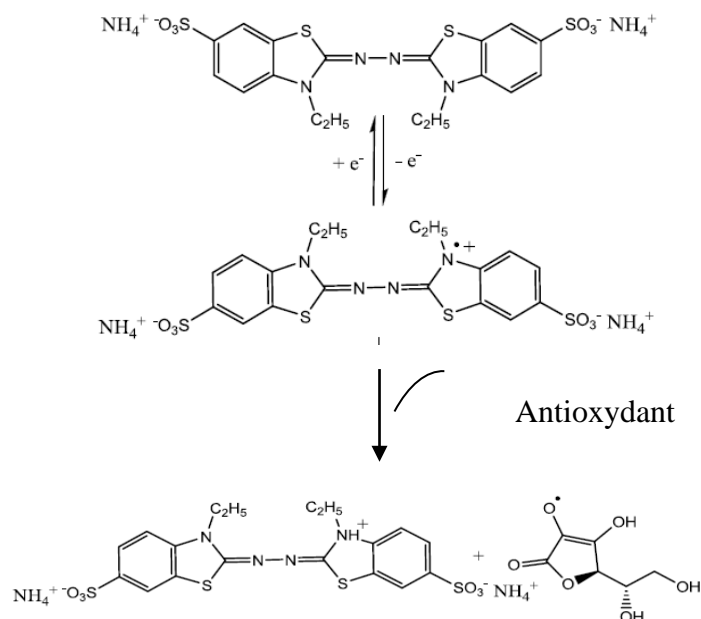


Figure 21. Formation et piégeage du radical $ABTS^{+\cdot}$ par un antioxydant (Re *et al.*, 1999).

L'activité de l' $ABTS^{+\cdot}$ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = \frac{[(\text{Abs témoin} - \text{Abs blanc})]}{(\text{Abs témoin})} * 100$$

II.3.3 Méthode de blanchissement de la β -carotène

Dans le test du β -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes et des hydroperoxydes conjugués. Ces radicaux vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé ; ce qui entraîne la perte de ses doubles liaisons et par conséquent, la disparition de sa couleur rouge. Cependant, la présence d'un antioxydant (extraits, témoins positif) permet de neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc la prévention de l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Merouane *et al.*, 2014).

Une quantité de 2 mg de β -carotène est dissoute dans 20 mL de chloroforme, puis 4 mL de cette solution sont mis dans un ballon à fond plat avec 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de Tween 40. Après évaporation sous vide du chloroforme, le mélange est repris dans l'eau distillée aérée. Dans une microplaque à 96 puits, 150 μ L de cette émulsion sont additionnés de 10 μ L d'extrait végétal de concentrations connues (1 ; 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/16 ; 1/32 et 1/32 mg/mL). Les microplaques sont alors mises en incubation à 50 °C pendant 120 min (pour catalyser l'oxydation de l'acide linoléique) et la D.O est mesurée (à T = 0 et T = 120 min) à 470 nm. L'activité de l'extrait est calculée par rapport à celle du témoin négatif (sans extrait).

$$PI = [(D.O E_{120} - D.O T_{120}) / (D.O T_0 - D.O T_{120})] * 100$$

Les résultats sont comparés à ceux des antioxydants de synthèse (BHT^b, BHA^b). Le pourcentage d'inhibition (PI) est obtenu comme suit :

$$PI = [(D.O E_{120} - D.O T_{120}) / (D.O T_0 - D.O T_{120})] * 100$$

DO E₁₂₀ : absorbance de l'extrait à T = 120 min.

DO T₁₂₀ : absorbance du témoin négatif à T = 120 min.

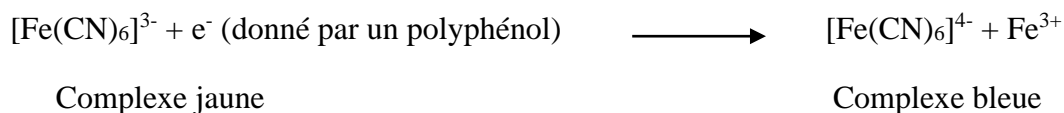
DO T₀ : absorbance du témoin négatif à T = 0 min.

Cette activité est également exprimée en IC₅₀ comme décrite pour le test au DPPH

II.3.4 Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). En effet le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Oyaizu M, 1986).

Un volume de 10 µl d'extrait de chaque dilution est mélangé avec 40 µl phosphate buffer (pH 6,6), 50 µl potassium ferricyanide (1%) K₃Fe(CN)₆. Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis rajoutons 50 µl tri-chloro acetic acid (TCA) (10%), 40 µl H₂O et 10 µl ferric chloride FeCl₃ (0.1%). Le complexe réduit est quantifié spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 700 nm.



II.3.5 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Principe : La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur la suivie de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (Nc), cuivre (Cu²⁺) [Nc₂-Cu²⁺]. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit et cette réaction est quantifié spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm (Apak *et al.*, 2004).

A 40 µl de l'extrait à tester, on mélange 60 µl de tampon acétate d'ammonium (1 M, pH 7), 50 µl de Néocuproïne (7,5 mM) et 50 µl de CuCl₂ (10 mM). Le mélange est incubé pendant une heure à 37°C. Le complexe réduit Cu⁺-Nc est quantifié spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm.

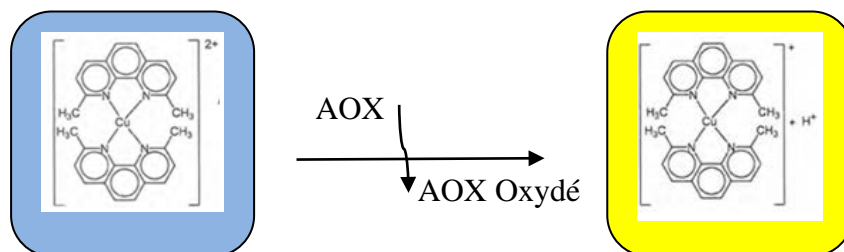


Figure 22. Réduction du complexe chromogène de Cu⁺²-Nc (Apak *et al.*, 2004)



I.4 Analyse statistique

Les résultats ont été analysés par le test de l'analyse de la variance (ANOVA). La valeur $p < 0,05$ est considérée significative. Des tests Post Hoc ont également été réalisés dans les cas où une différence des effets a statistiquement été observée (Logiciel IBM SPSS Statistics Ver. 22). Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe : [% inhibition = f (concentrations)].

III.1 Extraction et partitionnement

III.1.1 Rendements des extraits bruts

Le tableau 2 résume les rendements d'extraits brut obtenu après macération de la matière végétale avec le mélange hydroalcoolique (MeOH-Eau distillée 80%), selon le protocole d'extraction schématisé dans la figure 20.

Tableau 2: Rendement des extractions

Matière sèche	Hexane	CHCl ₃	AcOEt	BuOH	Aqueux
O a (Feuilles 1,5kgs)	1,21	4,12	13,23	28,23	Nd
Rendement %	0,08	0,27	0,88	1,82	Nd
O a (Fleur 50grs)	0,23	0,715	2,72	9,17	20,28
Rendement %	0,46	1,43	5,44	30,34	40,56
S j (Tige 1,5kgs)	6,75	12,3	25,75	38,75	Nd
Rendement %	0,45	0,82	1,71	2,54	Nd
S j (Fleur 75grs)	0,125	4,21	11,32	22,58	Nd
Rendement %	0,16	5,61	15,09	30,1	Nd

Nd : non déterminé

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extrait des deux parties d'*O. acanthium* et de *S. junceum* sont plus ou moins variables et sont plus importants avec les extraits polaires par rapport aux extraits non polaires. Cependant, l'extrait butanolique des deux plantes présente des rendements plus importants. Les rendements des différents extraits varient de 0,08 à 40,56 % après leur extraction liquide-liquide.

Le protocole de Markham (1982), nous aurait permis d'obtenir différents extraits de composition chimique comme suit : l'extrait brut peut contenir des flavonoïdes, des terpènes, des cires et des tannins, l'extrait d'hexane ou d'Ether de pétrol qui est en générale constitué de lipides et de flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, l'extrait du chloroforme est plus riche en flavonoïdes aglycones, l'extrait d'acétate d'éthyle contient les flavonoïdes glycosylés en particulier mono, di et tri-glycosylés et l'extrait Bu-OH constitué des flavonoïdes les plus polaires (di, tri et tetra-glycosylés).

III.1.2 Criblage phytochimique

Le screening phytochimique est une étape primordiale qui permet de détecter la présence dans les plantes médicinales des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés qui existent dans les feuilles d'*O. acanthium* et les tiges de *S. junceum*, par des réactions de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Résultats des tests phytochimiques des extraits méthanoliques et butanoliques des feuilles d' *O. acanthium* et les tiges de *S. junceum*.

Composés	Réaction/réactif	<i>O. acanthium</i>		<i>S. junceum</i>	
		MeOH	BuOH	MeOH	BuOH
Alcaloïdes	Mayer	-	-	++	-
Flavonoïdes	Copeau de Mg	++	++	++	++
Triterpènes	Liebermann Burchard	++	++	++	++
Stéroïdes	Liebermann Burchard	-	-	-	-
Phénols	FeCl ₃ (1%)	++	++	++	++
Saponines	Mousse	+++	++	++	++
Tanins	FeCl ₃ (1%)	++	++	++	++
Antraquinones	Mélange E-C v/v	+	+	+	+
Anthocyanines	H ₂ SO ₄ (1%)	-	-	-	-
Coumarines	NH ₄ OH UV	++	++	++	++

(+++): Présence plus forte, (++) : présence forte, (+) : présence faible, (-) : absence

Nous avons observé, sur l'ensemble des réactions en tubes, la présence de flavonoïdes, de coumarines, de tanins, de saponines et des polyphénols dans nos échantillons. De plus nous avons décelé la présence d'alcaloïdes dans les tiges de *S. junceum* et d'antraquinones dans les extraits en quantité relativement faible par rapport aux composés déjà cités.

La réaction de Liebermann est positive dans tous les extraits testés ; ce qui indique que le matériel végétal considéré renferme des triterpènes. Par ailleurs, nous avons constaté l'absence d'anthocyanines et de stéroïdes dans nos extraits analysés.

La présence de composés chimiques (polyphénols, flavonoïdes, tanins, polyterpènes, saponines, coumarines et alcaloïdes) révèle que les deux plantes, *O. acanthium* et *S. junceum* possèdent des activités biologiques intéressantes. La richesse de ces extraits organiques en composés chimiques actifs pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour soigner de nombreuses maladies telles que le diabète, la fièvre, la migraine, les œdèmes, le rhumatisme et l'ulcère gastrique. De nombreux travaux ont montré que ces métabolites secondaires sont des indicateurs importants pour certaines activités pharmacologiques. Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (5) (Leong et Shui., 2002).

III.1.3 Analyse qualitative par HPLC

Les composés phénoliques absorbent bien les rayonnements UV et le détecteur d'UV ou d'UV - Vis à longueurs d'onde variables est le plus généralement utilisé en chromatographie liquide haute pression. Aucune longueur d'onde ne peut à elle seule permettre la détection de toutes les différentes classes des composés phénoliques puisqu'elles présentent des maxima d'absorption à différentes longueurs d'ondes. Néanmoins la détection à 280 nm est la plus utilisée pour l'analyse simultanée de mélange d'acides phénoliques et de flavonoïdes.

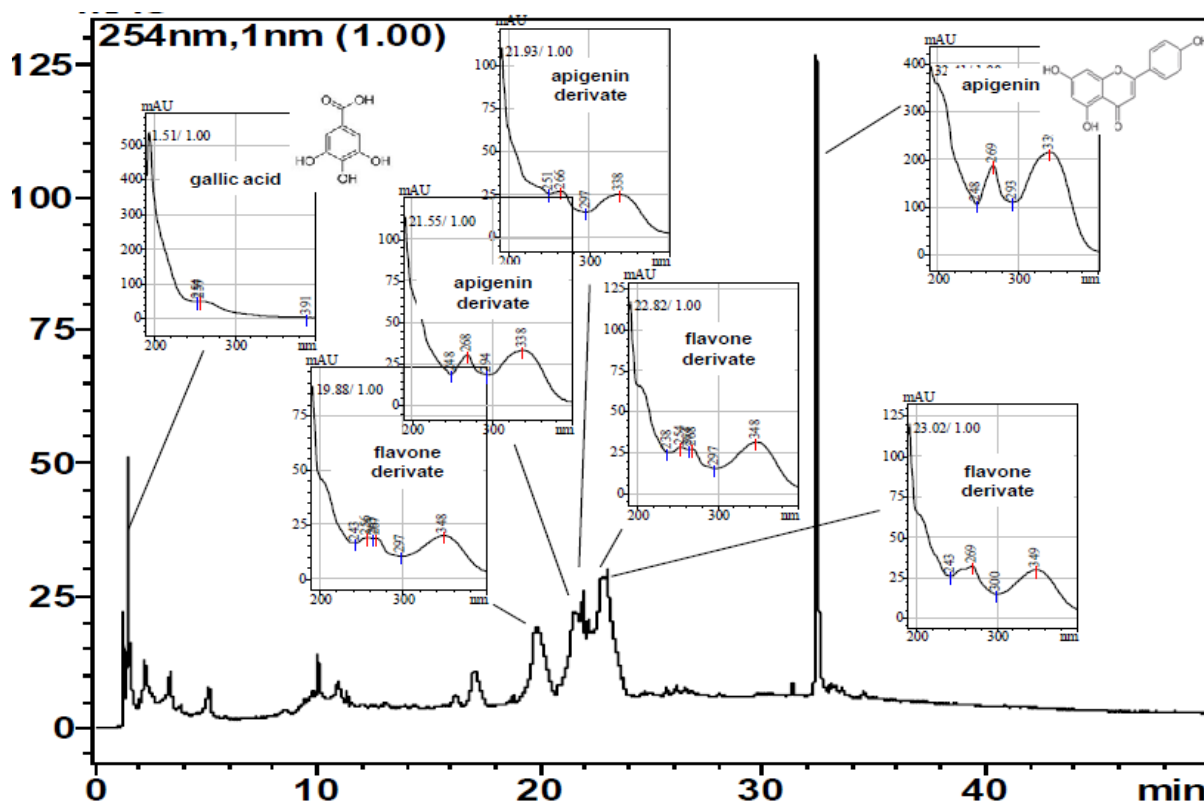


Figure 23. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait n-BuOH des feuilles d'*O. acanthium*

La figure 23 montre que le profil chromatographique de l'extrait n-butanolique des feuilles d'*O. acanthium* contient essentiellement des acides phénoliques tels que l'acide gallique et des flavonoïdes de type flavones hétérosides et aglycones. Les dérivés de l'Apigénine semblent majoritaires.

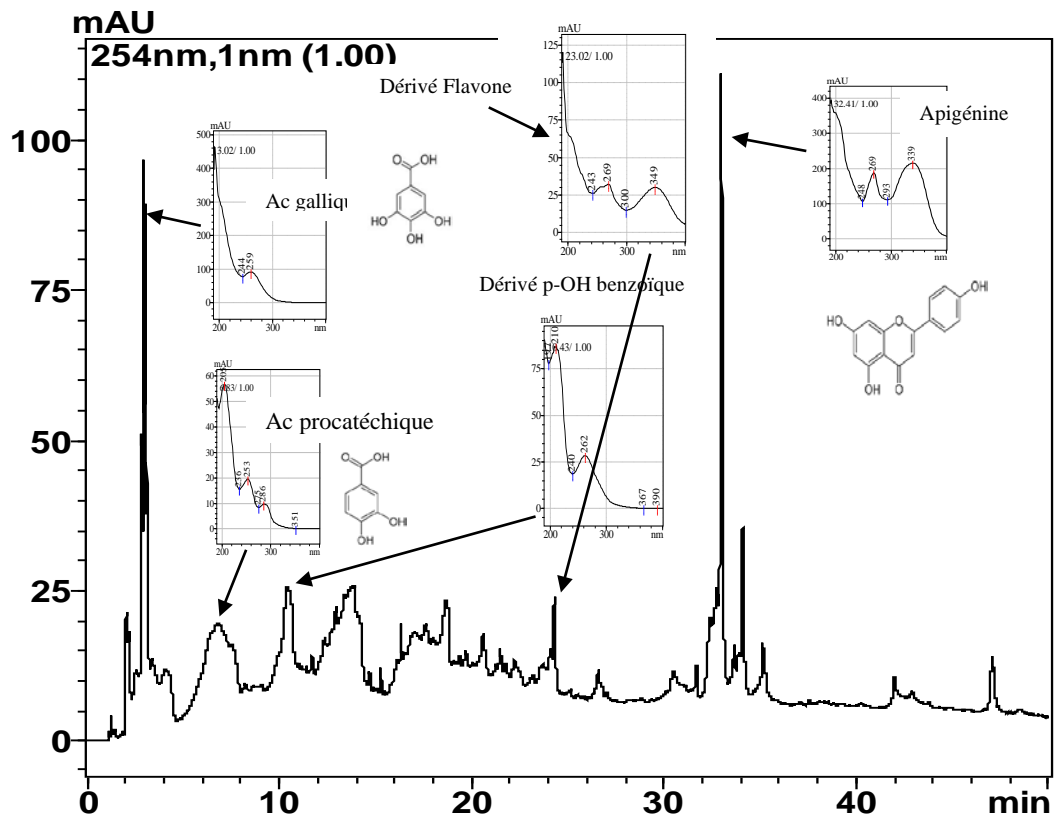


Figure 24. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait AcOEt des feuilles d'*O. acanthium*

La figure 24 montre que le profil chromatographique de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de l'espèce *O. acanthium* est plus riche en acides phénoliques, flavonoïdes, dérivés de l'apigénine et en apigénine. Celle-ci se retrouve dans tous les extraits, elle est le composé majoritaire dans cette espèce.

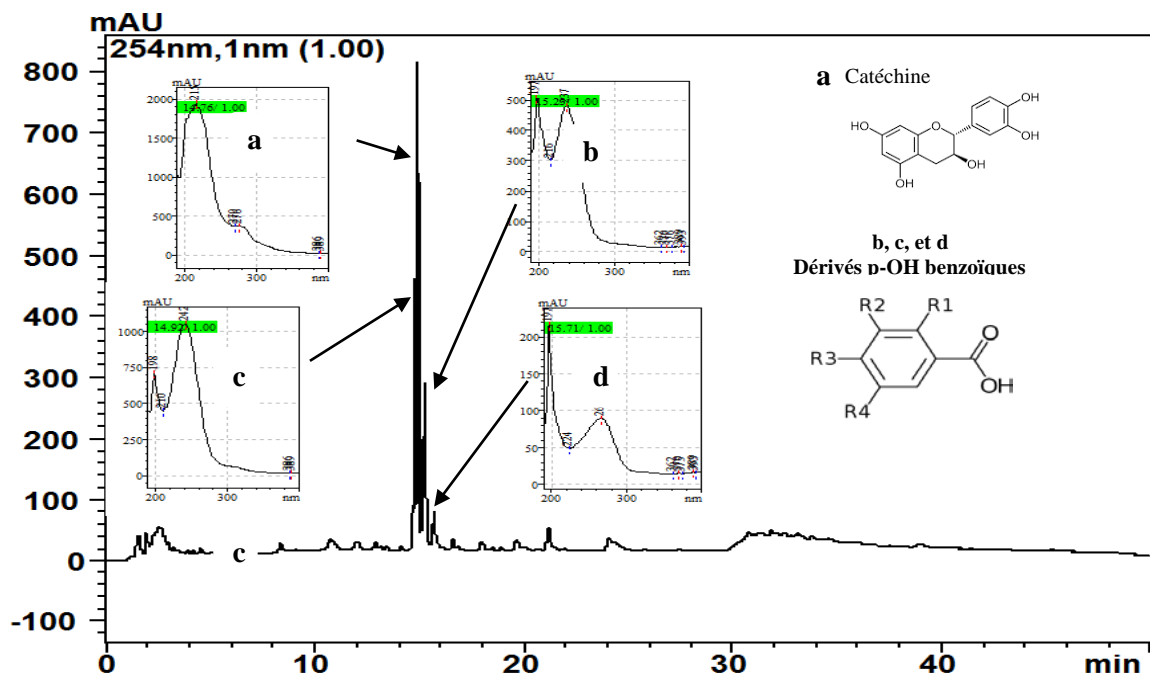


Figure 25. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait CHCl_3 des feuilles d'*O. acanthium*

La figure 25 montre que l'extrait CHCl₃ des feuilles de l'espèce *O. acanthium* contient essentiellement des acides phénoliques et des dérivés de types catéchines.

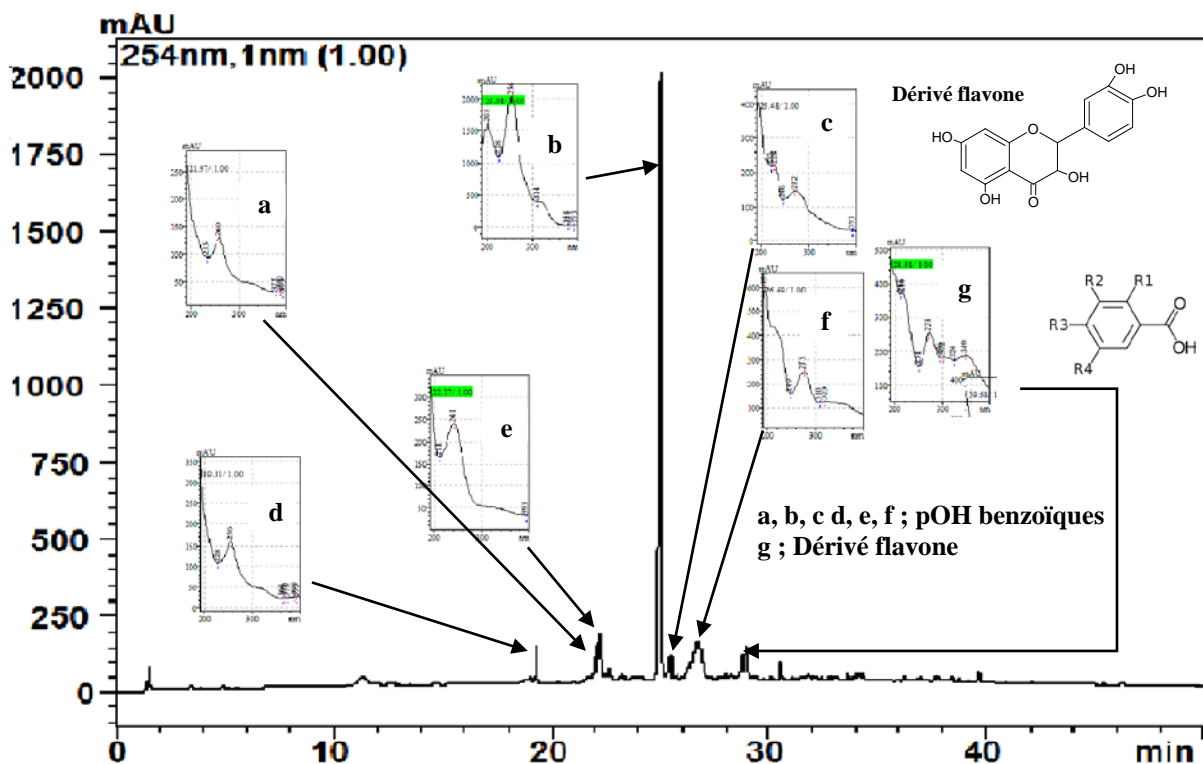


Figure 26. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait BuOH des Tiges de *S. junceum*.

La figure 26 montre que l'extrait n-butanolique des tiges de l'espèce *S. junceum*, contient essentiellement des acides phénoliques et une flavone minoritaire.

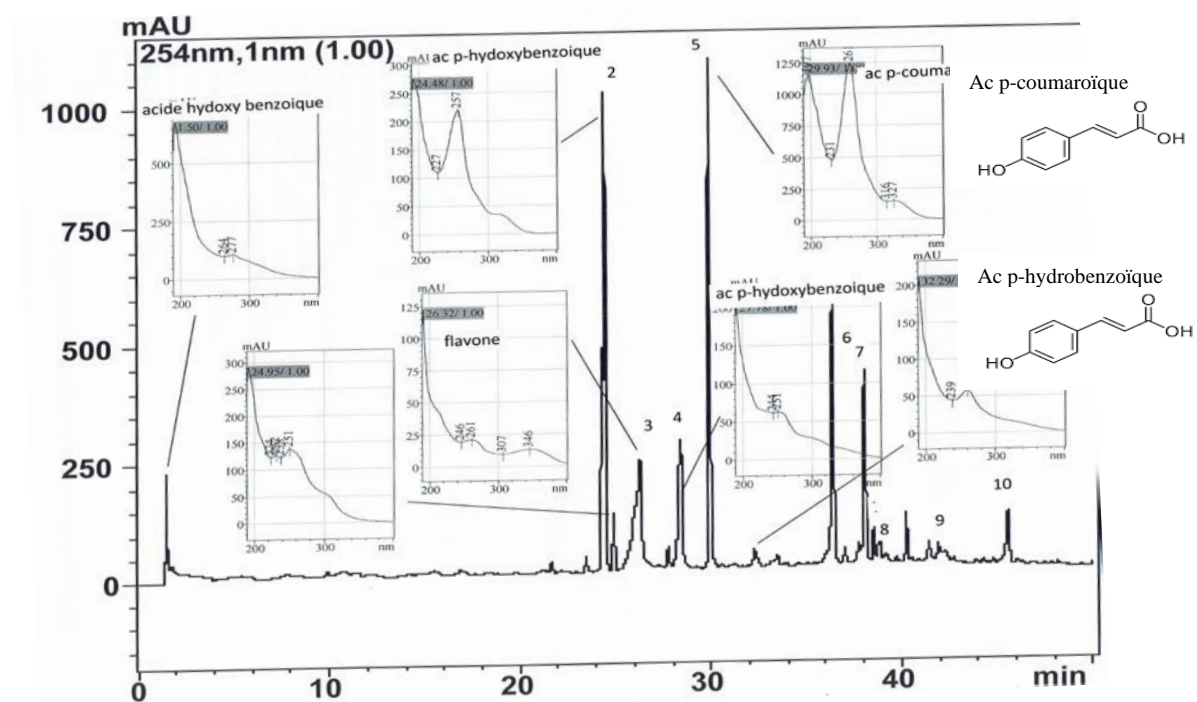


Figure 27 a. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait AcOEt des Tiges de *S. junceum*.

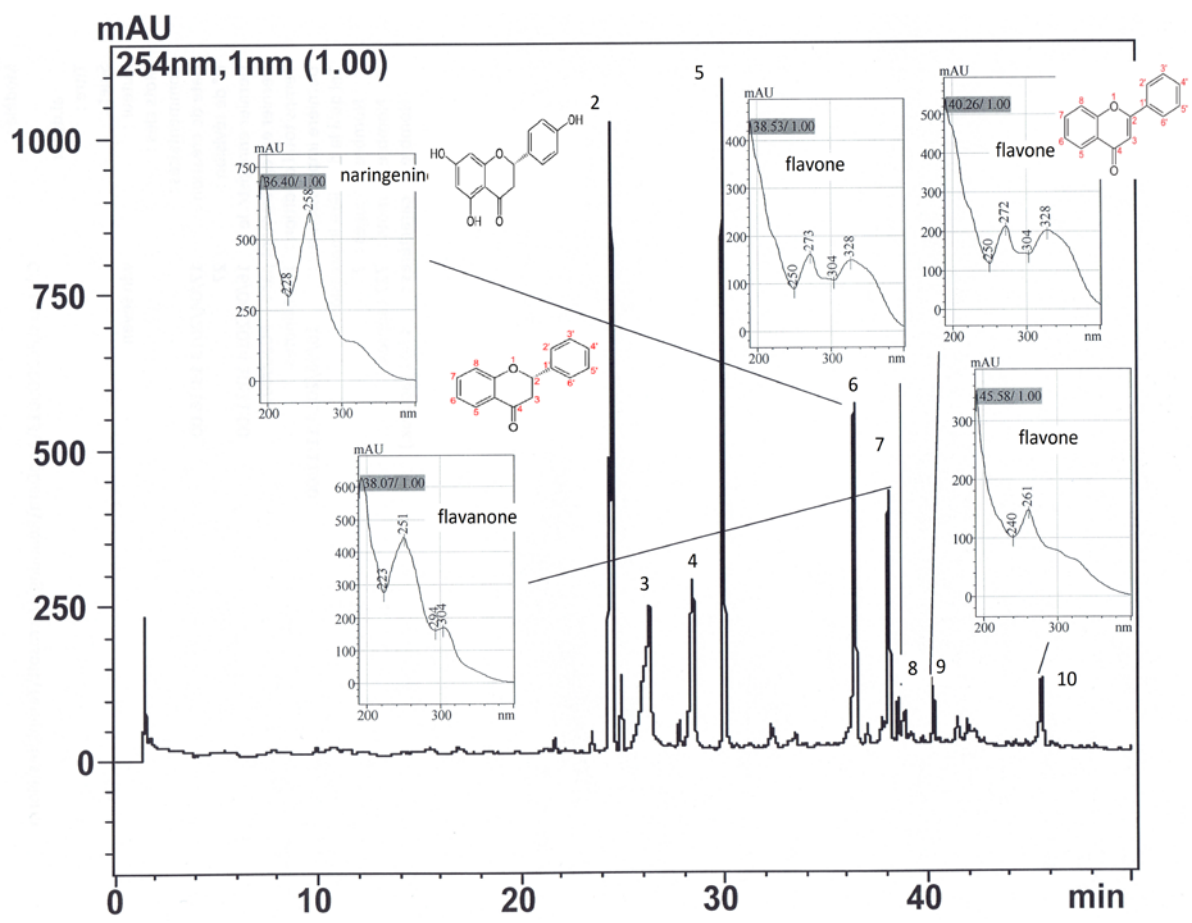


Figure 27 b. Chromatogramme d'HPLC de l'extrait AcOEt des Tiges de *S. junceum*.

La figure 27a montre que l'extrait acétate d'éthyle des tiges contient essentiellement trois acides parahydroxybenzoïque 1, 4, 2, un acide cinamique de type paracoumaroïque 5, majoritaire, deux flavanones la naringénine 6 et le composé 7 et plusieurs dérivés de type flavone 3, 8, 9, 10.

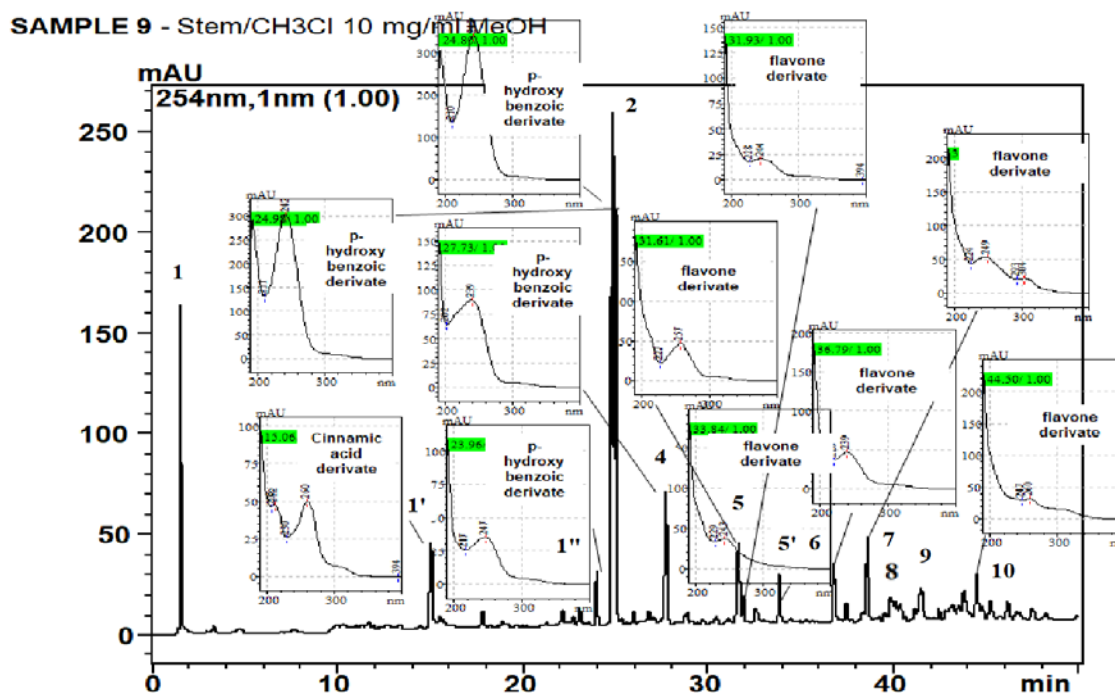


Figure 28. Chromatogramme d’HPLC de l’extrait CHCl_3 des Tiges de *S. junceum*

La figure 28 représente le profil chromatographique de l’extrait chloroformique des tiges qui contient trois acides parahydroxy benzoïques **1**, **4**, **2**, un acide cinamique de type paracoumaroïque **5**, deux flavanones la naringénine **6** et le composé **7** et plusieurs dérivés de type flavone **8**, **9**, **10**.

Il y a beaucoup de composants communs dans les deux extraits CHCl_3 et AcOEt des tiges de *S. junceum*. La différence entre les deux extraits réside dans les teneurs des composés : le composé **1** (acide parahydroxy benzoïque) est plus important dans l’extrait chloroformique, le composé **2** est un produit majoritaire avec une teneur voisine, il y a deux nouveaux composés dans l’extrait chloroformique **1'** (dérivé acide cinamique) et **1''** (dérivé parahydroxy-benzoïque).

Le composé **3** se trouve uniquement dans l’extrait acétate d’éthyle. Le composé **4** (acide hydroxybenzoïque) se trouve à une teneur voisine dans les deux extraits, le composé **5** (dérivé cinamique) est majoritaire dans l’extrait acétate d’éthyle.

La naringénine **6** et le composé **7** (composés de type flavanones) sont plus importants dans l’extrait acétate d’éthyle.

Les composés **8**, **9** et **10** (dérivés de type flavone) ont une teneur voisine dans les deux extraits. Il y a un composé supplémentaire **5'** (dérivé de type flavone) dans l'extrait chloroformique.

Cette variabilité structurale reflète leur large palette de propriétés biologiques telles que les effets antioxydants, antibactériens, antifongiques, modulateurs de la réaction inflammatoire... Ces activités pourraient être des alternatives naturelles aux conservateurs biocides et antioxydants de synthèse.

III.I.4 Analyses quantitatives des extraits

L'étude quantitative des extraits d'*O. acanthium* et *S. junceum* avait pour objectif de déterminer la teneur des polyphénols et des flavonoïdes totaux.

III.I.4.1 Détermination de la teneur totale en Polyphénols

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de nos extraits est une nécessité pour définir leur contribution dans l'activité anti-oxydante compte tenu de leur rôle capital pour la préservation de la santé humaine.

Le taux des polyphénols totaux a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 29) d'équation $D.O = 0,0023 [\text{Polyphénols}] + 0,0206$; avec un coefficient de détermination R^2 égal à 0,9959.

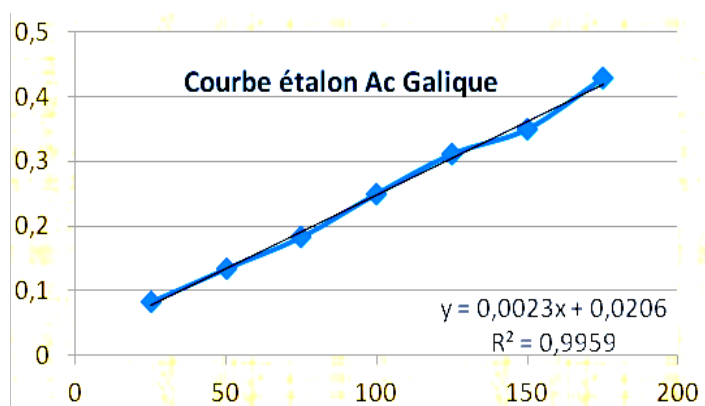


Figure 29. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg GAE/mg). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4. Teneur des polyphénols dans les extraits

TPC(mg GAE/g)	<i>O. acanthium</i>		<i>S. junceum</i>		
	Feuilles	Fleurs		Fleurs	Tiges
MeOH	53,51	nd		nd	71,80
CHCl ₃	69,30	nd		57,86	2,11
<i>n</i> -BuOH	41,19	310,72		95,24	14,62
AcOEt	nd	388,29		43,07	1,71
Aqueuse	nd	116,99		nd	nd
CH ₂ Cl ₂	nd	448,70		nd	nd

Nd, non déterminées

Dans les parties des deux plantes étudiées, nous avons remarqué une variabilité des teneurs en polyphénols. La partie avec la teneur la plus haute est celle des fleurs d'*O. acanthium* (448,70 ; 388,29 ; 310,72 et 116,99 mg GAE/g) suivie par les feuilles avec une teneur comprise entre 41,19 et 69,30 mg GAE/g.

La teneur élevée de polyphénols dans les fleurs s'expliquent par le fait que les anthocyanes se concentrent principalement dans cette partie et ce pourcentage reflète la présence d'une forme majoritaire des flavonoïdes glycosylés, flavonoïdes sulfatés et des coumarines en particulier dans l'extrait aqueuse et BuOH. Dans l'extrait dichloro-méthane les polyphénols seraient de nature flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés. Par ailleurs dans l'extrait acétate des flavonoïdes glycosylés en particulier mono, di et tri-glycosylés.

Suheda *et al*, 2015, ont trouvé que le taux de polyphénols dans l'extrait MeOH des feuilles d'*O.acanthium* est de 30,47, dans les fleurs 24,7 GAE/g d'extrait. Zare et al, (2014) ont trouvé dans les graines un taux de 168,56 mAE/g d'extrait, nettement supérieur à celui trouvé dans les feuilles et les fleurs.

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires du moins pour ce qui est des composés phénoliques hétérosidiques. Selon la littérature les polyphénols peuvent se répartir de façon inégale dans les différentes parties d'une même plante (Falleh *et al.*, 2007; El-Haci *et al.*, 2012)

Falleh *et al.*,2014, ont trouvé que la teneur de polyphénols dans la phase MeOH des feuilles *C.Cynara* 14,79 mGAE/mg d'extrait et dans les Fleurs 6,96 mGAE/mg .

Une étude a montré que la teneur des phénols totaux dans les feuilles d'*O acanthium* est de l'ordre de 7,96 mg GAE/g. Ce taux est nettement inférieur à nos résultats qui sont très

élevés dans les deux parties de la plante. Ceci serait dû au protocole d'extraction qui est différent. Cette valeur maximale de TPC (7,96 mg/g) a été obtenue avec un solvant contenant 20 % vol d'éthanol (Diankov *et al.*, 2013). Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Ceci peut être attribué à plusieurs facteurs :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux: la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies (Ebrahimi *et al.*, 2008).
- ✓ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004), la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003 ; Kiselova *et al.*, 2006).

Quant aux fleurs de *S.junceum*, les extraits CHCl₃ et AcOEt ont une teneur voisine en polyphénols soit 57,86 et 43,07 mg GAE/g respectivement, dans l'extrait *n*-BuOH le taux est de 95,24 mg GAE/g. Le taux des polyphénols des tiges dans l'extrait BuOH est de 14,62, dans l'extrait MeOH 71,80 mg GAE/g, celle du chloroforme 2,11 et de l'acétate 1,71 mg GAE/g.

Cette différence, entre nos résultats et ceux trouvés dans la littérature, serait due au fait que les méthodes d'extractions peuvent affecter les résultats du fait de la solubilité des composés phénoliques. De plus le matériel végétal a été récolté dans des régions différentes de la nôtre et la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (Christian Z. 2010), l'extraction des composés phénoliques est aussi influencée par le temps et la température d'extraction, ce qui reflète les actions paradoxales de la solubilisation et la dégradation par oxydation. Par conséquent, il est important de faire le bon choix de procédure /méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques (Turkmen *et al.*, 2007).

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyyles pouvant réagir avec les radicaux libres (Govindan et Muthukrishnan, 2013).

III.I.4.2 Dosage des flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes totaux a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage d'équation (Figure 30), $D.O = 0,0035 [\text{flavonoïdes}] + 0,0573$; avec un coefficient de détermination R^2 égal à 0,9821.

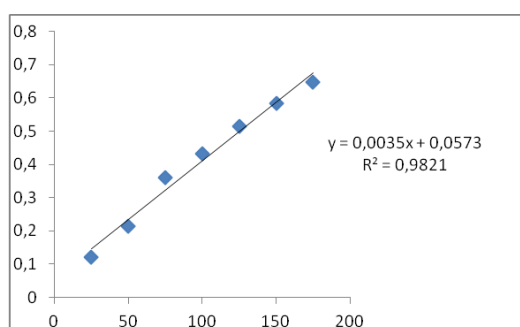


Figure 30. Courbe d'étalonnage de Quercétine pour le dosage des Flavonoïdes totaux.

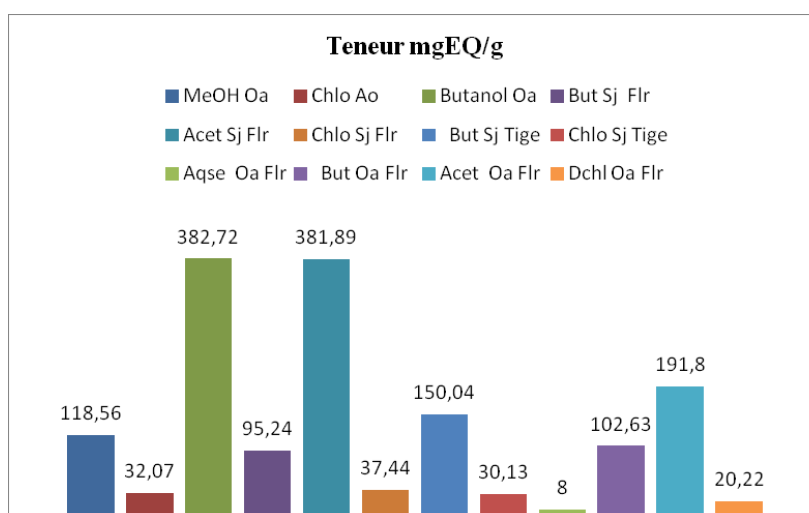


Figure 31. Comparaison de la teneur en flavonoïdes des différentes parties des deux plantes étudiées « µg EQ/mg ».

La figure 31 montre que la teneur en flavonoïdes est importante principalement dans les extraits n-butanoliques, Me-OH des feuilles et acétate des fleurs d'*O acanthium* avec des teneurs de 382,72, 115,58 et 191,8 µg EQ/mg d'extrait respectivement.

Chez *S. junceum*, l'extrait acétate des fleurs, la phase butanolique des tiges et des fleurs accusent des valeurs importantes à savoir ; 381,89; 150,04 et 95,24 mgEQ/g respectivement.

Les résultats du screening phytochimique et les produits identifiés par HPLC ont montré que les extraits obtenus avec les solvants les plus polaires sont les plus riches en flavonoïdes. Ces observations ont été confirmées avec des méthodes d'analyses quantitatives des flavonoïdes.

Nous avons réalisé une quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique. Cette technique a montré que les deux plantes renferment une forte teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux ; Ces deux espèces pourraient être des sources d'antioxydants naturels.

La caractérisation par HPLC tout en confirmant les résultats de la colorimétrie nous a permis de détecter la présence de dérivés d'acides phénoliques et des flavonoïdes de type flavones hétérosides et aglycones.

III.2.1 Activité antioxydante

III.2.1.1 Piégeage du radical libre DPPH

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH[•] est recommandé pour des composés contenant les groupes SH⁻, NH⁻ et OH⁻ (Salah *et al.*, 1995). Le test s'effectue à température ambiante, cela évitera toute dégradation thermique des molécules thermolabiles.

L'activité antioxydante des extraits d'*O. acanthium* et *S. junceum* et celui du standard (BHT) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH[•]) à la couleur jaune (DPPH-H). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition nous établissons les profils d'activité, à partir de ces derniers la valeur correspondante à la CI₅₀ est déduite ; "Concentration d'antioxydant qui est nécessaire pour inhiber 50% de radicaux libres".

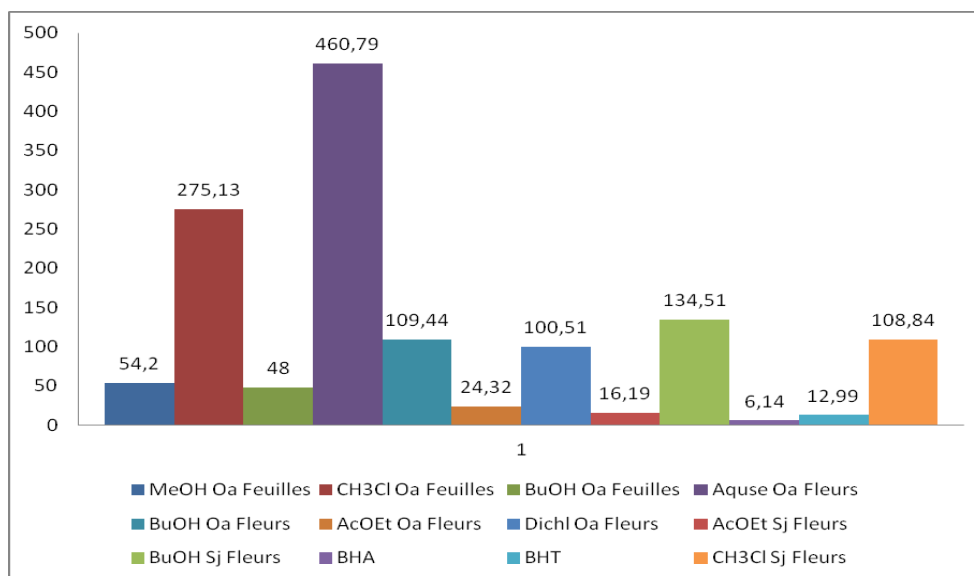


Figure 32. Activité anti-radicalaire du DPPH : IC₅₀ des extraits *O. acanthium* et *S. junceum*

Les résultats présentés dans la Figure 32 de l'activité anti-radicalaire des extraits organiques de différentes polarités d'*O. acanthium* et de *S. junceum*, montrent que tous nos

extraits présentent des valeurs d'IC₅₀ supérieures à celle de référence BHT qui présente une IC₅₀ d'inhibition de 12,99±0,41 et BHA 6,14±0,41 µg/mL.

L'extrait acétate des fleurs *S. junceum* suivi par l'extrait acétate des fleurs d'*O. acanthium* présentent un bon pouvoir antioxydant avec des valeurs d'IC₅₀ de 16,19 ; 24,32 µg/mL respectivement. Ces deux extraits présentent des effets antioxydants importants vis-à-vis du radical DPPH^{*}, cela est dû probablement aux teneurs en polyphénols (43,07 et 388,29 mg GAE/g) et/ou flavonoïdes (381,89 et 191,80 EQ/g) respectivement.

Des études ont montré que la structure chimique et la polarité de l'antioxydant sont déterminantes pour sa capacité à piéger les RLs. Il existe une hétérogénéité structurale au sein des composés phénoliques, hétérogénéité qui se traduit par des propriétés différentes. Ils ont montré que l'acide gallique représente le composé le plus actif, en utilisant le DPPH, le pouvoir antioxydant de l'epicatéchine n'est pas significativement différent, et l'acide tannique a donné les valeurs environ 5 fois plus faibles (Popovici *et al.*, 2009).

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux groupements fonctionnels hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres. La présence d'un groupement catéchol est le déterminant majeur de l'activité redox des polyphénols (Roudsari *et al.*, 2009).

Selon la littérature il existe une relation entre la structure des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres. Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (Yang *et al.*, 2008). Les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO•), alkoxydes (RO•) et hydroxyle par transfert d'hydrogène (Morand *et al.*, 2014).

Selon Cuvelier *et al.* (1992), après des études de la relation structure-activité des polyphénols, ils sont parvenus aux conclusions suivantes :

✚ Les acides cinnamiques ont une activité antiradicalaire supérieure à celle des acides benzoïques correspondants. Les acides féruliques, caféïques et p-coumariques sont plus actifs que les acides vanilliques, les acides protocatéchiques et les acides hydroxybenzoïques respectivement.

✚ L'addition d'un second OH sur le cycle aromatique augmente fortement l'activité antioxydante des acides phénoliques, particulièrement quand le second OH est en ortho ou

para du premier: ortho = para > méta ou para > ortho > méta. Un troisième OH sur le cycle renforce également le caractère antioxydant (ex: acide gallique)

Selon Njeh *et al.*, 2017, l'extrait méthanolique d'*O. espinæ* présentait une activité antiradicalaire au DPPH avec une $IC_{50} = 86 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$. Notre extrait a présenté une activité meilleure avec une $IC_{50} = 54,19 \pm 1,32 \mu\text{g/mL}$, cela serait due, entre autres, aux méthodes d'extractions qui peuvent être à l'origine de cette différence et également étant donné les origines géographiques différentes des deux espèces. D'une part notre espèce semble plus riche en composés antioxydants comme l'attestent les résultats des dosages en phénols totaux et en flavonoïdes, et d'autre part, la présence d'acides phénoliques, d'apigénine et de ses dérivés semblent les acteurs de ces activités antioxydantes.

III.2.1.2. Test de réduction du radical cation ABTS⁺

L'ABTS⁺ réagit rapidement avec les antioxydants et peut être utilisé sur une large gamme de pH. Soluble dans l'eau et dans les solvants organiques et n'est pas affecté par la force ionique. Il peut alors déterminer le pouvoir antioxydant lipophile et hydrophile (Re *et al.*, 1999).

L'activité antioxydante des différents extraits est déduite de leur capacité à inhiber le radical ABTS⁺, obtenue à partir de ABTS (Sel d'Ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement aux produits de référence le BHT et BHA.

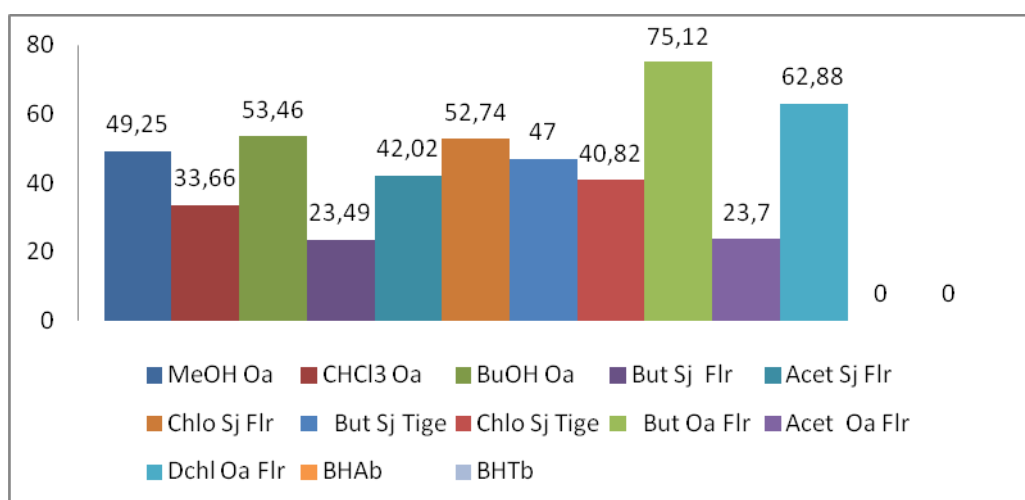


Figure 33. IC₅₀ des extraits d'*O.acanthium* et *S.junceum* testés.

Selon la figure 33 la plupart de nos extraits présente une IC₅₀ acceptable comprise entre 23,71 et 75,12 µg/mL, sauf celui de l'extrait aqueux des fleurs d'*O. acanthium* qui présente

une IC₅₀ égale à 230,45 µg/mL (non représentée sur la figure 29). L'activité des phases acétate des fleurs d'*O. acanthium* et de *S. junceum* les plus actives avec le test DPPH• serait due principalement à un transfert de proton et à un transfert d'électron dans le cas du test ABTS.

Tous les flavonoïdes présentent une plus grande capacité à réduire les ions Cu²⁺ et Fe³⁺. Il semble que la réduction du cuivre par les flavonoïdes dépend essentiellement du nombre de groupements hydroxyles. Les flavones, les flavonols et la catéchine peuvent former des complexes avec les ions du fer et du cuivre dans le tampon acétate à pH 5,5 et le tampon phosphate à pH 7,4. Cependant, entre ces deux valeurs, tous les flavonoïdes présentant un groupement 5-hydroxy-4-oxo forment des complexes avec le cuivre sur ce site. A pH 7,4, la complexation de la quercétine, de la myricétine et de la catéchine par Cu²⁺ implique le groupement catéchol du cycle B. De plus, la quercétine et la myricétine sont les seuls flavonoïdes qui peuvent interagir fortement avec Fe³⁺ à pH 5,5. La complexation a lieu sur le site du groupement 5-hydroxy-4-oxo, ce qui pourrait être expliquée par la réduction préalable de Fe³⁺ en Fe²⁺ (Mira *et al.*, 2002). Leur complexation avec les métaux empêche la génération des radicaux libres (radicaux hydroxyles) responsables des endommagements de l'ADN (Satish et Dilipkumar, 2015).

III.2.1.3 Méthode de blanchissement de la β-carotène

Le mécanisme de blanchiment du β-carotène est un phénomène dont le médiateur est un radical libre. La dispersion de l'acide linoléique et du β-carotène dans l'extrait aqueux est assurée par le Tween 40. Le β-carotène subit une décoloration rapide en absence d'un antioxydant qui aboutit à une réduction de l'absorbance de la solution d'essai avec le temps de réaction; ceci est dû à l'acide linoléique qui produit des hydro-péroxydes pendant son incubation à 50 °C. Ces derniers attaquent les insaturations du β-carotène, hautement insaturé, qui perd ses doubles liaisons entraînant ainsi une décoloration rapide en l'absence d'antioxydants. Cette diminution de la coloration rouge correspond à une diminution de l'absorbance suivie spectrophotométrique à 490 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser ou freiner les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du carotène, s'il s'agit d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux ils induisent un retard de la cinétique de décoloration du β-carotène (Koleva *et al.*, 2001).

Tous nos extraits inhibent l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène à une concentration inférieure à 50 $\mu\text{g/mL}$. L'extrait acétate des fleurs d' *O. acanthium* révèle une activité inhibitrice puissante qui dépasse 80% d'inhibition de radicaux libres, avec une $\text{IC}_{50} = 2,51 \mu\text{g/mL}$ (plus puissante que celle du standard BHT $\text{IC}_{50} = 6,66 \mu\text{g/mL}$), tandis que les autres extraits, à la même concentration, présentent des activités modérément acceptables comprises entre 38,61 et 77,03 %.

Tableau 6. Activité de blanchissement du β -carotène par les extraits étudiés. Chaque valeur IC_{50} représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Concentration extraits $\mu\text{g/mL}$	12,5	25	50	100	200	400	800	$\text{IC}_{50} \mu\text{g/mL}$
AcOEt Sj Fleur	37,08	52,80	74,25	87,65	93,94	97,62	99,08	24,28
CHCl_3 Sj Fleur	12,45	34,40	54,37	74,69	88,49	94,85	97,18	48,19
BuOH Sj Fleur	7,74	25,55	54,06	77,07	92,63	96,10	96,76	54,98
BuOH Sj Tige	8,29	43,89	61,19	71,77	78,89	92,94	97,25	33,06
CHCl_3 Sj Tige	18,95	36,62	53,83	79,72	86,78	93,48	99,22	45,27
MeOH Oa Feuilles	19,88	31,06	38,61	68,97	82,84	92,94	97,44	64,92
CHCl_3 Oa	29,63	49,62	64,61	80,66	90,18	97,64	101,92	31,44
BuOH Oa	20,91	27,78	56,57	72,10	76,90	90,91	96,39	44,40
Aqse Oa Fleur	16,60	43,03	62,82	78,60	85,39	90,16	93,21	32,85
BuOH Oa Fleur	20,23	37,49	58,47	77,76	88,00	93,42	97,65	42,89
AcOEt Oa Fleur	53,97	73,35	84,61	92,35	95,88	97,69	99,94	2,51
Dichl Oa Fleur	39,22	58,30	77,03	86,64	91,99	95,30	99,22	20,77
BHT	89,18	92,56	93,74	94,89	95,12	95,72	94,39	6,66

L'analyse de l'ensemble des résultats obtenus pour cette activité affiche une hétérogénéité de son efficacité aussi bien en fonction de la nature du solvant d'extraction que de l'organe étudié. En effet les extraits des fleurs de l'espèce *O. acanthium* donnent des valeurs d' IC_{50} comprises entre 2,51 $\mu\text{g/mL}$ et 42,89 $\mu\text{g/mL}$, celles des feuilles 31,44 et 64,92 $\mu\text{g/mL}$, celle des fleurs et des tiges de *S. junceum* affichent des valeurs comprises entre 24,28 et 54,98 $\mu\text{g/mL}$.

De ces résultats, nous pouvons déduire que la réduction de 50% du test β -carotène a été atteinte pour la plupart de nos extraits testés qui ont neutralisé les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenu l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Leurs valeurs d' IC_{50} varient entre 2,51 et 64,92 $\mu\text{g/mL}$. La polarité (dans l'émulsion) pourrait affecter leur pouvoir contre le blanchiment du β -carotène. Selon la littérature, un extrait qui inhibe ou qui retarde le blanchiment du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant (Aslan *et al.*, 2005).

La phase acétate des fleurs d'*O. acanthium* possède un très bon potentiel protecteur ($\text{IC}_{50} = 2,57$ et celle du BHT = 6,66 $\mu\text{g/mL}$) contre la formation des radicaux lipidiques et par

conséquent l'oxydation de la β -carotène. Cet effet est dû soit à l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique soit au piégeage des radicaux hydroperoxydes issus de la peroxydation de l'acide linoléique.

D'après le tableau 6 le classement des extraits par ordre d'IC₅₀ croissante pour les deux plantes est comme suit:

***S. junceum* IC₅₀ en $\mu\text{g/mL}$:**

Extrait BuOH des Fleurs (IC₅₀ 54,98) ; Extrait Chloroforme des Fleurs (IC₅₀ 48,19) ; Extrait Chloroforme des Tiges (IC₅₀ 45,27), extrait BuOH des Tiges (IC₅₀ 33,06) ; extrait Acétate des Fleurs (IC₅₀ 24,28).

***O. acanthium* IC₅₀ en $\mu\text{g/mL}$:**

Extrait MeOH des Feuilles (IC₅₀ 64,92) ; extrait BuOH des Feuilles (IC₅₀ 44,40) ; extrait BuOH des Fleurs (IC₅₀ 42,89) ; extrait Aqueux des Fleurs (IC₅₀ 32,85) ; extrait Chloroforme des Feuilles (IC₅₀ 31,44) ; extrait Diclorométhane des Fleurs (IC₅₀ 20,77) ; extrait Acétate des Fleurs (IC₅₀ 2,51)

L'extrait acétate des fleurs d'*O. acanthium* possède une activité la plus forte, cette activité est probablement attribuée qualitativement/quantitativement à leur contenu phénolique et flavonoïdique. Les résultats suggèrent que les extraits testés ont une capacité considérable de réagir avec les radicaux libres pour les convertir en espèces non réactives et interrompre la chaîne de réactions radicalaires ou la peroxydation lipidique.

L'activité antioxydante élevée serait due à l'effet inductif des trois groupes hydroxyles des acides phénoliques. On outre, nous avons montré l'existence des dérivés de l'acide gallique, de catéchines, de l'apigénine et de naringénine dans les deux plantes. D'autres travaux ont montré que la catéchine possède de forte corrélation positive entre les activités du piégeage des radicaux (DPPH, ABTS⁺) et la puissance de réduction. En plus, l'acide gallique et la catéchine sont étroitement corrélés à l'activité de chélation des métaux et l'inhibition de la peroxydation lipidique (Tsai *et al.*, 2007).

Plusieurs auteurs pensent que le test de blanchiment de β -carotène est très utile et sert comme modèle mimétique de la peroxydation lipidique des membranes biologiques (Ferreira *et al.*, 2006).

Selon Frankel et Meyer (2000), la solubilité d'un extrait dans l'émulsion est un facteur important, les extraits de faibles polarité ou apolaire présentent des propriétés antioxydantes plus importants car ils sont concentrés au sein de l'interface eau-lipide, aidant ainsi à prévenir

la formation de radicaux libres et par conséquent l'oxydation des lipides contrairement aux extraits polaires qui se trouvent dilués dans l'extrait aqueux sont donc moins efficaces.

V.2.1.4 Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le test FRAP a été réalisé sur les différents extraits de chaque partie des deux plantes. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes relatives pour chaque extrait.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur de nos extraits testés. L'IC₅₀ est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des extraits.

D'après le graphe (Figure 34), nous constatons que les extraits acétate et dichlorométhane des fleurs et butanolique des feuilles d'*O. acanthium* possèdent un potentiel remarquable pour réduire le Fer par rapport à celui de l'extrait aqueux, chloroformique et méthanolique des feuilles. Ce potentiel est reflété par les densités optiques obtenues à différentes concentrations (DO maximale = 2,61 à la concentration de 200 mg/mL), qui sont plus importantes que celle de l'antioxydant de référence à savoir le BHA (DO = 1,37) pour la même concentration 200 mg/mL.

La valeur d'IC₅₀ calculée de l'extrait acétate des fleurs est 6,48, celle du dichlorométhane 10,08 par contre celle des feuilles est de 13,15 µg/mL.

Selon le profil chromatographique (HPLC) de l'extrait BuOH des feuilles d'*O. acanthium*, la présence essentiellement des acides phénoliques tels que l'acide gallique et des flavonoïdes de type flavones hétérosides et aglycones et les dérivés de l'apigénine, seraient responsables du piégeage du Fer.

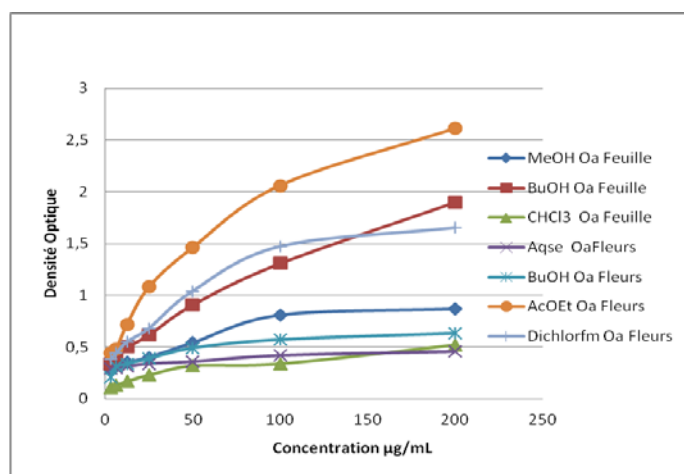


Figure 34. Pouvoirs réducteurs des extraits d'*O. acanthium* et de BHT et BHA.

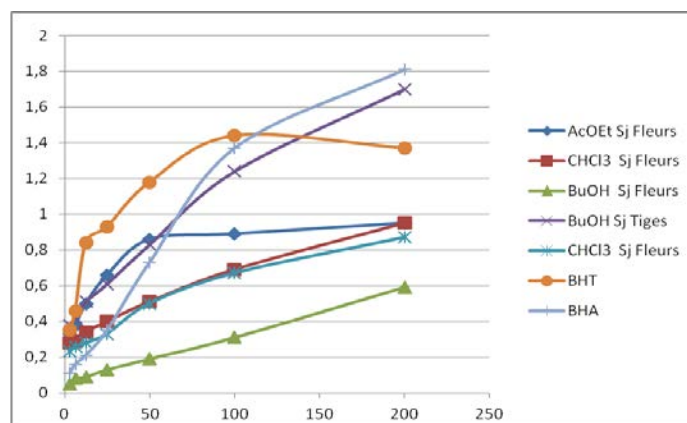


Figure 35. Pouvoirs réducteurs des extraits de *S. junceum* et de BHA

D'après la figure 35, nous constatons que l'extrait butanolique des tiges de *S. junceum* possède un potentiel remarquable à réduire le Fer suivi par l'extrait acétate et chloroformique des fleurs. Les deux premiers extraits présentent le pouvoir le plus élevé avec une IC_{50} égale à 10,83 $\mu\text{g/mL}$ et 14,52 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. Cela nous laisse présager que cet extrait contient des molécules potentielles actives, pouvant servir comme source d'antioxydants naturels. Selon le profil chromatographique, l'extrait butanolique des tiges de *S. junceum*, est riche en acides phénoliques et une flavone minoritaire. Ces acides phénoliques pourraient être responsables de ces activités.

Selon la littérature, les polyphénols possèdent des propriétés redox les plus élevées, ils agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (Sylvie *et al.*, 2014). Ces composés sont doués d'une capacité réductrice, donc ils peuvent réduire les intermédiaires oxydées lors des processus de peroxydation lipidique, de sorte qu'ils puissent agir en tant qu'antioxydant (Chanda et Dave, 2009). Les composés présents dans nos extraits jouent le rôle de réducteurs induisant la réduction du complexe Fe^{3+} en Fe^{2+} .

V.2.1.5 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Le test CUPRAC est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisée pour une grande variété de polyphénols y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy cinnamiques, flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanines ainsi que pour des thiols et les antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (Apak *et al.*, 2007).

Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}$, produisant ainsi un complexe chromogène de $\text{Cu}^{+}\text{-Nc}$ qui absorbe à 450 nm (Apak *et al.*, 2004).

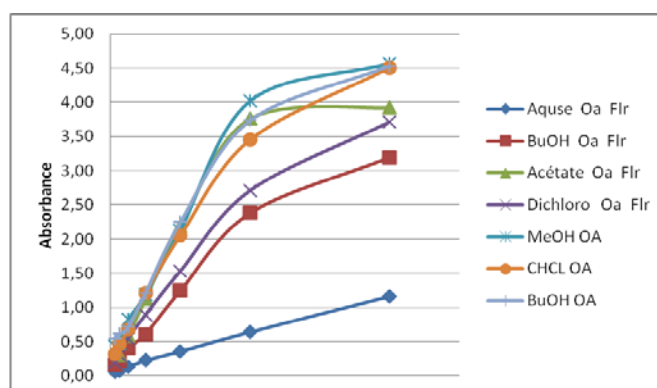


Figure 36. Test de la capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits des feuilles et des fleurs d' *O. acanthium*.

Selon la figure 36, tous nos extraits se sont révélés capables de réduire le cuivre, sauf l'extrait aqueux des fleurs d' *O. acanthium* qui est pratiquement dépourvue de ce pouvoir.

L'extrait butanolique des feuilles d' *O. acanthium* a affiché une valeur importante soit de 18,78 µg/mL suivie par l'extrait acétate des fleurs qui est de 21,11 µg/mL. Les autres extraits possèdent des activités non négligeables avec des valeurs comprises entre 29,99 µg/mL et 72,92 µg/mL.

L'extrait acétate des fleurs de *S. junceum* a montré une meilleure activité inhibitrice du CUPRAC ($A_{0.50}=6,83\pm 0,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) inférieure à celle du standard BHA ($A_{0.50}=3,42\pm 0,26 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) et meilleure que celle du BHT ($A_{0.50}=8,97\pm 3,94 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), suivie par l'extrait chloroformique ($IC_{50}=31,75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) et butanolique des tiges $34,92\pm 0,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figure 37).

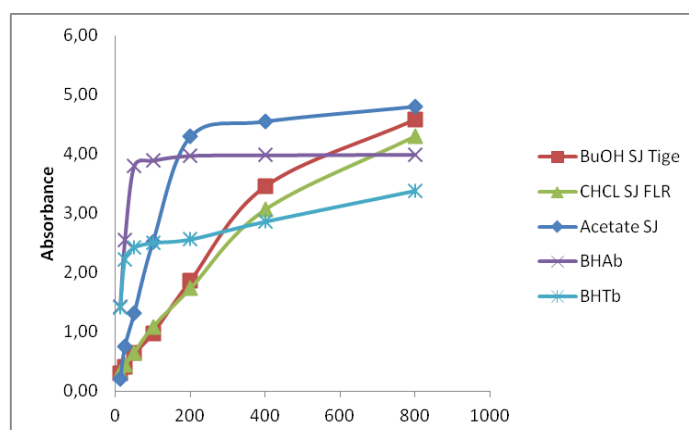


Figure 37. Test de la capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits des fleurs et des tiges de *S. junceum*

Les activités antioxydantes étudiées sont justifiées par la présence d'acides phénoliques à savoir : l'acide parahydroxy-benzoïque, acides cinnamiques de type paracoumaroïque, l'acide gallique et des flavonoïdes de type flavone hétérosides et aglycones et flavanone ;

naringénine d'une part, et d'autre part, d'autres acteurs à savoir les sesquiterpènes, les coumarines, saponines, des tanins et des anthraquinones qui ont été mises en évidence lors du screening phytochimique.

Certaines études ont montré que d'autres classes de métabolites secondaires à savoir les sesquiterpènes, les coumarines, saponines, des tanins, alcaloïdes et des anthraquinones peuvent partager le caractère antioxydant au même titre que les polyphénols et les flavonoïdes (Ng Shie *et al.*, 2013; Srividya *et al.*, 2017).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in-vitro* (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols, présentant des propriétés antioxydantes bien établies, ont un lien avec l'inhibition de l'oxydation. Ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, buthylhydroxyanisol (BHA) et buthylhydroxytoluène (BHT), qui ont montré des effets nuisibles sur la santé (effet carcinogène) (Himani *et al.*, 2018; Japon-Lujan *et al.*, 2008).

Les polyphénols, coumarines, saponines, terpénoïdes, glycosides, stéroïdes et alcaloïdes sont capables de protéger contre les phénomènes d'oxydation générateurs de radicaux et aldéhydes lipidiques responsables du développement des réactions inflammatoires, des maladies cardio-vasculaires, neuro-dégénératives et divers cancers (Vivek *et al.*, 2015).

III.3 Les tests biologiques *in-vivo*

Les simples tests *in vitro* de détermination de l'activité antioxydante des polyphénols ont une portée limitée et sont difficilement extrapolables pour évaluer l'effet antioxydant des molécules après ingestion. Ces composés étant transformés lors de leur séjour dans l'organisme. L'effet des polyphénols sur la protection antioxydante des tissus est influencé par leur biodisponibilité qui varie considérablement d'une molécule à une autre. L'ensemble des phénomènes de conjugaison que peuvent subir les polyphénols induit une modification de leur capacité antioxydante (Lei *et al.*, 2017). Afin d'enrichir ces tests d'activité antioxydantes *in-vitro*, nous avons complété notre étude par l'activité biologique *in-vivo*.

III.3.1 Activité anti-inflammatoire (Œdème à la carragénine)

Compte tenu des résultats obtenus lors du screening phytochimique et du dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, nous avons choisi l'extrait butanolique pour son caractère polaire en particulier par sa richesse en flavonoïdes et son rendement.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*O. acanthium* est réalisée par la mesure du volume de l'œdème induit par un agent phlogistique « la carragénine » chez trois lots de rats (témoin, essai et référence) en absence et en présence d'un traitement anti-inflammatoire.

Selon Otterness et Gans (1988), dans ce modèle expérimental, la distribution et le mécanisme d'action des anti-inflammatoires seraient proches des phénomènes observés chez l'homme. Cette technique a été sélectionnée également en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'apparition des effets (développement de l'œdème dans les trente minutes qui suivent l'injection, avec un effet maximal au bout de 3 ou 4 heures) et aussi en raison de sa reproductibilité. L'œdème à la carragénine est une des méthodes les plus utilisées pour l'étude des potentialités anti-inflammatoires de substance supposées actives. Cet œdème est dû à la libération initiale d'histamine et de sérotonine, suite à une augmentation de la perméabilité vasculaire. Après la première heure, les kinines agissent de manière continue et après 6 heures, les prostaglandines se montrent d'importants médiateurs (Madan et Sunil, 2011). Cette libération de prostaglandines est associée à la migration leucocytaire vers la zone enflammée.

L'induction de l'œdème par injection intra-plantaire de 100µl d'une solution à 1% de carragénine, une mucopolysaccharide sulfatée provenant d'une Rhodophyceae, provoque une inflammation typiquement liée à l'activation de la cyclooxygénase (Gao *et al.*, 2009). Cette inflammation induit un maximum d'œdème à partir de la 3^{ème} heure qui suit son injection, provoquant la libération de plusieurs médiateurs chimiques de l'inflammation par des leucocytes. Ce test sera validé par l'utilisation d'un Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS), l'Aspirine, qui permet d'entraver l'évolution de l'œdème induit par la carragénine.

Les pourcentages d'inhibition montrent qu'à partir de la première heure, notre extrait présente un effet protecteur contre l'inflammation provoquée par la carragénine et atteignent un plateau maximal de 96,79 et 93,05 % d'inhibition pour les lots traités avec les doses de 200 et 400 mg/Kg respectivement.

Le Tableau 7 représente les effets de l'extrait butanolique des feuilles d' *O. acanthium* et de l'aspirine sur l'évolution du volume de l'œdème en fonction du temps. L'injection sous

plantaire de la carragénine à 1% au lot témoin entraîne une augmentation significative du volume moyen de l'œdème de 0,18 ; 0,54 ; 0,66 ; 0,87 ; 1,05 et 1,25 mL respectivement à 30, 60, 120, 180, 240 et 300 min.

Tableau 7. Effet anti-inflammatoire de l'extrait butanolique des feuilles d'*O. acanthium* sur l'œdème induit chez les rats par l'injection de la carragénine.

Traitement	Variation du volume de l'œdème (mL) induit la carragénine.							
		30 min	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min	% d'Inhibition Moyen
CTRL	1,40± 0,07	1,58± 0,07	1,94±0,1	2,06±0,11	2,27±0,11	2,45±0,10	2,65±0,11	
Aspirine 100 mg/Kg	1,34 ± 0,04	1,5 ± 0,03	1,72 ± 0,03	1,70 ± 0,06	1,7 ± 0,06	1,55± 0,06	1,46±0,04	
% d'inhibition		14,65± 1,89	29,36± 2,52	45,97± 2,61	59,19± 2,55	80,70±3,18	90,92± 2,52	53,46± 0,41
<i>O. acanthium</i> 200 mg/Kg	1,27 ± 0,1	1,35 ± 0,1	1,43 ± 0,11	1,41 ± 0,1	1,4 ± 0,09	1,34 ± 0,1	1,30 ± 0,09	
% d'inhibition		51,48 ± 1,64	69,82 ± 2,5	77,57 ± 1,41	84,95 ± 1,86	92,69 ± 0,65	96,79 ± 1,63	78,89 ± 0,6
<i>O. acanthium</i> 400 mg/Kg	1,39 ± 0,04	1,47 ± 0,05	1,47 ± 0,04	1,53 ± 0,06	1,46 ± 0,04	1,47 ± 0,04	1,43 ± 0,04	
% d'inhibition		32,21 ± 1,86	68,69 ± 1,74	81,10 ± 1,9	86,32 ± ,51	88,60 ± 1,04	93,05±1,75	75 ± 0,32

Chaque valeur de l'œdème des pattes est donnée en moyenne de trois répétitions ± EC. n=6 rats. La comparaison est faite entre les lots traités par les extraits. Les valeurs en gras sont les moyennes des pourcentages d'inhibition.

L'analyse de la variance des pourcentages d'inhibition de l'extrait butanolique d'*O. acanthium* pour les quatre lots traités a montré une différence hautement significative entre les trois lots traités (F=77,846 et p< 0,0001).

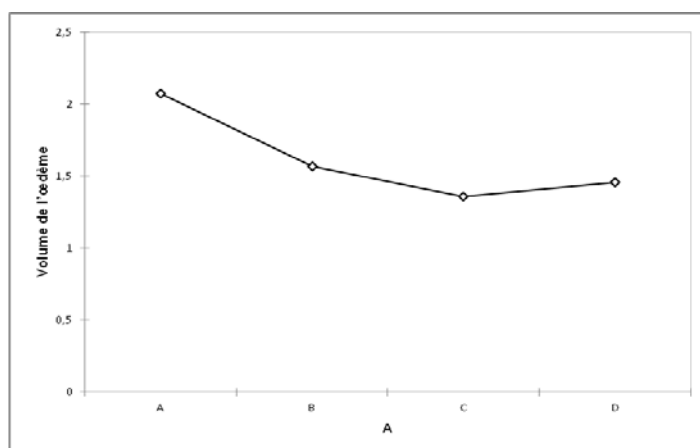


Figure 38. Evolution de l'œdème des rats traités par la carragénine.

Conformément au graphe (Figure 38), nous constatons une différence significative entre les moyennes des quatre groupes (f= 77,846 et p < 0,0001). En effet, le groupe du contrôle

négatif présente un œdème le plus élevée (moyenne 2,07 ml) suivi par ceux traités par l'aspirine avec une moyenne de 1,56 ml, par celui du lot traité à la dose de 400 avec une moyenne de = 1,45 ml et enfin par celui de ceux traités avec la dose de 200 mg/Kg avec une moyenne de 1,35 ml et qui a donné un meilleur pourcentage d'inhibition de l'œdème.

Tableau 8. Table d'Anova F pour l'activité anti-inflammatoire des quatre lots traités par la carragénine

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	3	12,486	4,162	77,846	< 0,0001
Erreur	163	8,714	0,053		
Total corrigé	166	21,200			

L'extrait butanolique testé a montré une activité anti-œdémateuse importante avec des pourcentages d'inhibition allant de 78,89 à 75 % avec la dose de 200 et 400 mg/Kg respectivement, et significativement supérieur à celui de l'aspirine. Le prétraitement des rats par l'extrait d'*O. acanthium* a induit une forte inhibition de l'inflammation à la cinquième heure, le pourcentage d'inhibition croît en fonction du temps. Nous pouvons conclure que l'extrait butanolique prévient de façon significative l'œdème aigu de la patte de rat et de manière dose dépendante. Donc, l'extrait d'*O. acanthium* présenterait une activité anti-inflammatoire sur les différents phases de l'œdème induit par la carragénine en réduisant la libération d'histamine et de sérotonine, ainsi que les bradykinines et les prostaglandines.

La réponse inflammatoire fait intervenir trois phases, parfois regroupées en deux phases, dont la première phase qui dure environ une heure est due à la libération de l'histamine et de la sérotonine (5-hydroxytryptamine) favorisant la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème (Masresha *et al.*, 2012), la bradykinine est libérée au cours de la deuxième phase (90-180 mn) suivie par la dernière phase au cours de laquelle intervient la biosynthèse de protéases, des lysosomes et des prostaglandines associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée (Marzouk *et al.*, 2011; Paul, 2014). La réponse vasculaire est maximale durant la dernière phase et étroitement liée à la migration de leucocyte au secteur enflammé (Li *et al.*, 2011). L'augmentation de la perméabilité vasculaire conduit à la libération de fluide riche en protéines plasmatiques incluant les Immunoglobulines G, facteurs de coagulation et les protéines du tissu lésé. Elle est le résultat de contraction et séparation des cellules endothéliales à la surface membranaire, perméable aux protéines et aux fluides plasmatiques (William, 2014). Les cyclooxygénases induisent la formation de prostaglandines à partir du métabolisme de l'acide arachidonique (Ricciotti et Garret., 2011; Dai *et al.*, 2010). Cette dernière étape est sensible aux antagonistes de synthèse des prostaglandines et aux anti-

inflammatoires naturels ou de synthèses telles que les glucocorticoïdes (Cazarolli *et al.*, 2008 ; Terra *et al.*, 2007 ; Li-Weber *et al.*, 2009)

Cela suggèrerait que l'action inhibitrice de l'extrait butanolique des feuilles d'*O. acanthium* s'exercerait sur les cyclo-oxygénases qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines. L'activité de l'extrait butanolique étant observée à partir de 30 min d'expérimentation au moment de la libération de prostaglandines dans le site inflammatoire, l'extrait d'*O. acanthium* posséderait un effet protecteur contre l'œdème supérieur à celui de l'Aspirine. Donc, notre extrait contiendrait également des inhibiteurs de synthèse des prostaglandines permettant de limiter la quantité de médiateurs pro-inflammatoire produits lors de ce processus, cette activité inhibitrice équivaut à celle de l'acide acétylsalicylique, chef de file des anti-inflammatoires non stéroïdiens. De plus, la formation des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique fait intervenir de nombreuses réactions oxydatives (par le biais de la cyclo-oxygénase). Les produits résultants de l'action de ces enzymes sont des hydroperoxydes instables qui entraînent la libération de radicaux libres. D'autres radicaux libres sont produits également au moment de la phagocytose, par les macrophages et les polynucléaires. L'intervention de peroxydases ou de capteurs de radicaux libres à ces niveaux permettrait de limiter l'inflammation. Les tests d'activité antioxydantes ont montré que l'extrait butanolique d'*O. acanthium* avec le test DPPH possède une $IC_{50}=48 \mu\text{g/mL}$, le test ABTS $IC_{50} = 53,46 \mu\text{g/mL}$, FRAP $IC_{50} = 13,51 \mu\text{g/mL}$, β -carotène $IC = 44,40 \mu\text{g/mL}$ et enfin, le test CUPRAC avec une $IC_{50}= 18,78 \mu\text{g/mL}$. Ces valeurs nous permettent d'émettre une hypothèse quant au mode d'action de l'extrait sur la diminution de l'état inflammatoire dans le test à la carragénine. Les principes actifs présents dans l'extrait BuOH des feuilles d'*O. acanthium*, de par leur pouvoir piègeur de radicaux libres, diminueraient ainsi l'inflammation.

Le profil chromatographique par HPLC de nos échantillons, en particulier de l'extrait butanolique des feuilles d'*O. acanthium*, montre la présence prépondérante des acides phénoliques tel que l'acide gallique et des flavonoïdes de type flavone hétéroside, aglycone et l'Apigénine (Figure 23). L'Apigénine serait capable d'inhiber les agents oxydants libérés par les leucocytes et d'autres phagocytes dans la zone inflammatoire entretenant ainsi l'inflammation (Elion-Itou *et al.*, 2014; Wantana *et al.*, 2009).

Selon la littérature l'Apigénine, la lutéoline, 7,3',4' hydroxyflavone et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B (Mookerjee *et al.*, 1986; Namgoong *et al.*,

1994). De plus, le kaempférol, quercétine, Dadzeine et la génistéine inhibent l'activation transcriptionnelle de la voie NFκB, STAT3, tandis que le flavone, l'isorhamnétine, la naringénine et la pélargonidine inhibent uniquement l'activation de NF-kappaB et l'expression des NOSi (Hämäläinen *et al.*, 2007).

Diverses études ont montré que les flavonoïdes sont capables d'inhiber les agents oxydants libérés par les leucocytes et d'autres phagocytes dans la zone inflammatoire (Ait El Kadi *et al.*, 2012; Waldiceu *et al.*, 2012) et de supprimer l'inflammation associée aux gènes d'expression en bloquant les voies d'activation de NF-kappa B et AP-1 dans les macrophages alvéolaires des souris (Robards *et al.*, 2003). De plus, ils sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. Il a été montré que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase avec des concentrations relativement élevées. A faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement (Ghedira *et al.*, 2005).

L'activité anti-œdémateuse de l'extrait BuOH des feuilles d' *O. acanthium* est soutenue par les travaux de Lajter *et al.*, (2015) qui a montré que les flavonoïdes, sesquiterpènes et les lignanes extraits de la partie aérienne et des tiges d'*O. acanthium*, exercent eux aussi une forte inhibition sur la synthèse des prostaglandines par la cyclooxygénase et sur les voies de signalisation activant NF-KB. De plus, il a été démontré chez le genre *Onopordum*, la scopoletine est douée d'une activité anti-inflammatoire par inhibition de la NF-KB et p38 MAPK et par conséquent non activation de la NOSi (Yanjing *et al.*, 2007 ; Dhar *et al.*, 2018).

L'extrait butanolique des feuilles d'*O. acanthium* est riche en polyphénols et en particulier en flavonoïdes, ces derniers possèdent le potentiel à prévenir l'apparition de l'œdème aigue. Nos résultats sont en accord avec les travaux antérieurs trouvés dans la littérature.

V.3.2. Activité analgésique

L'activité analgésique des extraits butanolique des feuilles d' *O. acanthium* et des tiges de *S. junceum* a été évaluée en utilisant le Test de Koster pour évaluer les effets analgésiques périphériques potentiels. L'injection d'agent irritant (acide acétique, à 0, 6%) par voie IP provoque chez l'animal non traité, une moyenne de 150 crampes sur 25 min. L'effet analgésique est apprécié par l'injection des deux extraits butanolique à différentes doses chez l'animal. Ce traitement a réduit significativement le nombre des crampes avec des pourcentages variables 76,57 % et 100 % pour *O. acanthium* et *S. junceum* respectivement

Les réactions provoquées par l'injection intra-péritonéale de l'agent algogène chez les rats semblent constituer un modèle plus proche des conditions cliniques de la douleur par la mise en œuvre d'une surface tissulaire plus étendue et le maintien persistant d'un stimulus douloureux moins brutal.

Tableau 9. Nombre des crampes abdominales (moyenne et écartype) induites chez les rats *wistar* par IP de l'acide acétique et le pourcentage d'inhibition des extraits butanolique des feuilles d' *O. acanthium* et des tiges de *S. junceum*.

	Dose mg/kg	Nombre de crampes abdominales + % d'inhibition des crampes				
		5 min	10 min	15 min	20 min	25 min
Eau Physio	/	21±1,22	30,4±2,19	32,2±2,86	32,4±3,97	35±0,71
Aspégic	500	11,2±3,11 46,66%	9±1,37 70,39%	7,2±1,1 77,64%	6,2±0,45 80,36%	4,8±0,45 86,28% ^b
<i>O acanthium</i>	100	17±1,73 19,04%	13,6±1,82 55,26%	11,4±1,67 64,59%	9,6±1,52 70,37%	8,2±1,79 76,57% ^d
	300	15,6±2,61 25,71%	13,4±1,82 55,92%	11,6±2,07 63,98%	10±2,35 69,14%	8,2±2,17 76,57% ^{cd}
	600	9,4±1,52 55,24%	8,2±1,3 73,03%	7,2±0,84 77,64%	6,2±0,84 80,86%	5,4±0,89 84,57% ^b
	900	6,8±1,92 67,62%	5,02±1,79 82,89%	3,6±1,52 88,82%	2,4±0,89 92,59%	0,4±0,89 98,86% ^a
<i>S junceum</i>	100	19,6±1,18 6,67%	15,4±0,48 49,34%	12±0,63 62,73%	9,6±0,48 70,37%	8,4±0,48 76% ^d
	300	14±2,23 33,33%	11,2±0,74 63,16%	9,6±0,8 70,19%	8,6±0,48 73,46%	8±0,0 77,14% ^c
	600	9,4±1,35 55,23%	8±0,63 73,68%	7,2±0,979 77,64%	6,4±0,48 80,25%	5,8±0,4 83,43% ^b
	900	6±0,63 71,43%	5,4±0,8 82,24%	4,4±0,48 86,34%	3,8±0,4 88,27%	3,2±0,4 90,86% ^a

L'analyse de la variance pour les deux extraits testés à différentes doses et celui du contrôle positif a montré une différence significative entre les nombres moyen des crampes chez les lots testés (F=34,382 et p=0,000*)

La classification des effets observés des deux extraits et celui du contrôle positif a été réalisé par le test de Dunette (cas des variances inégales w=6,66 et p=0,000) et a donné les résultats consignés dans le dans le tableau 10.

Tableau 10. Table de Ficher de l'activité analgésique.

	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Intergroupes	2178,062	8	272,258	34,382	0,000
Intragroupes	1710,400	216	7,919		
Total	3888,462	224			

Les résultats statistiques nous ont permis de classer les lots traités et le contrôle positif en quatre groupes différents.

Avec les lots traités par l'extrait butanolique d'*O. acanthium* nous avons noté que le nombre de crampe commence a baissé à partir de la dixième minute à la dose de 100 mg/kg de la même manière que celui du lot traité par la dose de 100mg/kg d'extrait de *S junceum*.

L'Aspégic (500mg/Kg) a réduit le nombre de crampe durant les cinq premières minutes de la même manière que les lots traités avec l'extrait d'*O. acanthium* et *S. junceum* à la dose de 600 mg/Kg, soit avec des pourcentages d'inhibition de 46,66%, 55,24% et 55,23% respectivement.

Ceux traités avec l'extrait d'*O. acanthium* et de *S. junceum* à la dose de 300mg/Kg le nombre moyen de contorsions abdominales passe de 15,6 à 8,2 et de 14 à 8 respectivement, les rats traités avec ces deux doses ont réagit de la même manière soit avec des pourcentages moyen d'inhibition de 58,26% et 63,46% respectivement.

Les lots traités avec les 2 extraits à la dose de 900mg/kg, le nombre moyen de crampe a diminué significativement et de la même manière dès la 5^{ème} min et en fin de traitement on a enregistré un pourcentage d'inhibition le plus élevé avec ces deux doses soit 98,86% et 90% respectivement.

Au vu des résultats consignés dans le tableau 9, nous observons que le nombre des crampes abdominales diminue, cette diminution se traduit par l'augmentation du pourcentage d'inhibition dans les lots traités par l'extrait butanolique d'*O. acanthium* et de *S. junceum*. La réduction du nombre de contorsions abdominales a été dose-dépendante. À la dose de 100 mg/kg de p.c., la forte réduction observée a été de 76,57 % pour l'extrait butanolique d'*O. acanthium* et 76% pour les tiges de *S junceum* contre 86,28 % de l'Aspégic à 500 mg/Kg de poids corporel. A la dose de 600 mg/kg, après 25 min les extraits BuOH d'*O. acanthium* et de *S. junceum* ont un effet protecteur contre la douleur statistiquement comparable à celui de l'Aspégic à la dose de 500mg/kg. A la dose de 900mg/Kg les extraits des deux plantes ont

une activité anti-inflammatoire supérieure et hautement significative à celle de l'Aspégic à 500 mg/Kg.

La perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique est un modèle expérimental typique pour évaluer l'effet des substances naturelles ou synthétiques sur la phase exsudative de l'inflammation aiguë (Paulrayer *et al.*, 2011).

De ces résultats, on pourrait affirmer que les deux plantes possèdent des propriétés thérapeutiques intéressantes, notamment antalgiques, puisqu'à la dose de 600 mg/kg PC, elles ont montré une activité identique à celle de l'Aspégic par le writhing test à l'acide acétique. Leurs mécanismes d'action au niveau périphérique pourraient s'apparenter à celui de l'Aspégic, par une inhibition de la sensibilité des nocicepteurs vis-à-vis des substances algogènes (bradykinine, histamine), mais également ils agiraient en bloquant la transmission des messages douloureux aux centres supérieurs du contrôle de la douleur.

L'acide acétique administré par voie intrapéritoniale induit une augmentation du contenu péritonéal en sérotonine, la bradykinine, l'histamine, l'acétylcholine et les prostaglandines. Ceci conduit à une dilatation des artéioles et des veinules avec une contraction et une séparation des cellules endothéliales, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire et par conséquent, l'extravasation des protéines plasmatiques vers la cavité péritonéale (Kim *et al.*, 2004). Ces médiateurs chimiques sensibilisent les nocicepteurs aux stimuli douloureux et en résulte une douleur plus tardive et diffuse (Carey, 2008 ; Le Bars *et al.*, 2001). Selon Dhanapal *et al* (2018), La survenue des crampes sous l'effet de l'acide acétique implique l'action des récepteurs péritonéaux locaux ainsi que la libération de médiateurs tels que les prostaglandines (PGE 2α , PGF 2α) et des cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-8).

Le prétraitement des rats par l'Aspégic réduit significativement après 25 min la perméabilité vasculaire avec une inhibition de 86,28%. Cette action serait due à l'inhibition non sélective des cyclooxygénases 1 et 2 (Raj *et al.*, 1996), dont la deuxième est responsable de la production de prostaglandines (PGE 2 , PGF 2α) ayant une activité vasodilatatrice confirmée, en plus de l'induction de l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Bidault-Russel *et al.*, 2001).

Le prétraitement des rats par l'extrait butanolique d' *O. acanthium* et *S. junceum* entraîne un effet similaire à celui de l'anti-inflammatoire non stéroïdien à la dose de 600mg/Kg. Cette inhibition est statistiquement similaire à celle exercée par l'Aspégic à 500mg/Kg. La capacité

des deux extraits d'inhiber la perméabilité vasculaire indique qu'ils peuvent agir sur l'amplitude de la réaction inflammatoire. Ces résultats suggèreraient que les deux extraits testés exercent une activité inhibitrice de la cyclooxygénase et de la lipooxygénase et par la suite la synthèse de la prostaglandine et donc l'inhibition du mécanisme périphérique de la douleur ou bien l'inhibition de la libération de tumor necrosis factor (TNF), interleukine-1N et l'interleukine-8 par les cellules péritonéales résidentes. Ces résultats pourraient être expliqués par la présence dans nos plantes des polyphénols, flavonoïdes, coumarines, tanins, saponines, anthraquinones et des triterpènes. Cette panoplie de classes de métabolites a été mise en évidence par les tests phytochimiques d'*O. acanthium* et *S. junceum* et qui pourraient être les acteurs de l'effet anti-inflammatoire, de façon individuelle ou en synergie.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique est soutenue par les travaux Lajter et ses collaborateurs (2013) qui ont montré la capacité des extraits de d' *O. acanthium* d'inhiber la cyclooxygénase 2, qui est responsable de la production des prostaglandines pro-inflammatoires.

Les leucotriènes, dérivés de l'acide arachidonique, sont d'importants médiateurs de l'inflammation et des modulateurs ubiquitaires des fonctions cellulaires. Ils se lient à des protéines membranaires spécifiques et induisent la plupart de leurs effets par activation du cycle des phospho-inositides ainsi que par la stimulation de la synthèse des prostanoides. Selon Lajter et al (2015), la lutéoline était le produit le plus puissant, inhibant de façon marquée la biosynthèse des leucotriènes, médiateurs de l'inflammation et de l'asthme, ces médiateurs ont suscité de nombreuses recherches pharmacologiques dans le but d'inhiber leur synthèse et, plus récemment, dans celui de bloquer spécifiquement leurs effets. La connaissance de leurs récepteurs respectifs a conduit divers groupes de recherche à synthétiser et à sélectionner plusieurs antagonistes, dont l'évaluation clinique est en cours.

Des études ont montré que le pinorésinol (lignane extraite des feuilles d'*O. acanthium*), empêche la formation des médiateurs inflammatoires tels que le monoxyde d'azote (NO), la prostaglandine E2 et les cytokines proinflammatoires IL-6, IL-1 β et TNF α . En diminuant de façon dose-dépendante l'ARNm codant pour la iNOS à l'origine de la production de NO, réduisant ainsi l'expression de l'enzyme. Il en va de même pour l'ARNm codant pour la COX-2 qui génère la prostaglandine E2. Quant aux cytokines proinflammatoires, l'effet est aussi dose-dépendant, seulement il est plus important pour l'IL-6 que l'IL-1 β et le TNF α . (Jung *et al.*, 2010).

Selon Strzelecka M *et al* (2005), l'extrait méthanolique d'*O. macracanthus* est capable de bloquer la synthèse de TNF α et l'oxyde nitrique dans les cellules endothéliales des murines (Strzelecka *et al.*, 2005).

Selon Yerşilada E *et al* (1999), la saponine « Spartitrioside », extraite de l'extrait méthanolique des fleurs de *S. junceum* possède un pouvoir anti-ulcère plus puissant que celui de la famotidine, un antagoniste compétitif des récepteurs H₂ de l'histamine, qui provoque l'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique contrôlée par les récepteurs H₂. Les travaux de Luigi *et al* (2006), ont montré que les extraits d'acétate et méthanolique des fleurs de *S junceum* possèdent des activités analgésiques et anti-inflammatoires, ces extraits testés possédaient un pouvoir analgésique meilleur que celui de l'indométhacine.

Selon les travaux de Seelinger *et al.* 2008, parmi les flavonoïdes, la lutéoline était le composé le plus puissant, inhibant de façon marquée la biosynthèse du leucotriène ($74,6 \pm 8,8\%$) et ayant un effet sur l'expression des gènes COX-2 et NF- κ B1 et iNOS et COX-2.

La plupart des médiateurs chimiques passent par des intermédiaires radicalaires, ceci pourrait s'expliquer par l'activité antioxydante de nos extraits testés (DPPH, ABTS, FRAP, β -Carotène et CUPRAC). Le fait que nos extraits aient exprimé plus rapidement leurs effets par rapport à l'Aspégic pourrait s'expliquer par leurs différences de propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Ainsi, la réduction significative du nombre de contorsions abdominales induites par l'acide acétique par les deux extraits testés indique le potentiel antinociceptif de ces deux plantes et confirme leur utilisation traditionnelle pour le soulagement de la douleur inflammatoire.

III.3.3 Activité antipyrétique

Le tableau 11 montre l'effet antipyrétique de l'extrait de feuilles de l'extrait butanolique d' *O. acanthium* sur l'hyperthermie induite par l'injection d'une solution de levure de bière à 20% qui passe de 36,48°C à 39,16°C .

Nos résultats montrent une chute de la température d'une façon significative dans le lot traité par l'extrait *O. acanthium*. Pour la dose de 100 mg/Kg d'extrait, nous observons une hyperthermie puis une baisse de la température à partir de la 3^{ème} heure. La température passe d'une moyenne de $37,58 \pm 0,13$ °C à $37,54 \pm 0,28$ °C après 4 heures de l'administration du traitement. Par ailleurs, à la dose de 300 mg/Kg la température passe d'une valeur de $37,22 \pm 0,31$ °C à $37,44 \pm 0,10$ °C sur la même période.

Tableau 11. Effet antipyrétique de l'extrait butanolique des feuilles d' *O. acanthium* sur l'hyperthermie induite chez les rats par injection de levure de bière après 30, 60, 120,180 et 240 min.

Lot = 5 Rats	Dose	Température						
		mg/Kg	0 min	30 min	60 min	120 min	180	240 min
NaCl 0,9%*	/		36,48±0,42	37,32±0,27	38,04±,23	38,36± 0,37	38,52±0,27	39,16± 0,42
Aspirine	500 ^a		36,54± 0,66	37,38 ± ,25	37,6± 0,74	38,42± 0,31	37,92±0,27	37,42± 0,38
Extrait								
BuOH O a	100 ^b		37,58± 0,13	37,8 ±0,30	38,26±0,46	38,46±0,36	37,92±0,33	37,54± 0,28
	300 ^{ab}		37,22±0,31	37,38±0,29	37,86±0, 1	38,36±0,22	37,92±0,07	37,44± 0,10

Variation de la température dans le temps. (*) La levure de bière a été préparée avec une solution NaCl à 0,9%.

Le test de l'ANOVA de l'activité antipyrétique a montré que les deux doses des extraits (100 et 300 mg/Kg) ont le même effet ($p=0,079$) que l'aspirine (Contrôle positif). De même le contrôle négatif a exprimé le même effet que celui des lots traités. Cependant une lecture approfondie du tableau et du graphe montre que le contrôle négatif commence à se distinguer des trois lots traités (Aspirine, Dose 1 et Dose 2) au-delà de la 120^{ème} min.

Tableau 12. ANOVA de l'effet antipyrétique de l'extrait *O. acanthium*.

	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Intergroupes	2,894	3	0,965	2,317	0,079
Intragroupes	48,295	116	0,416		
Total	51,189	119			

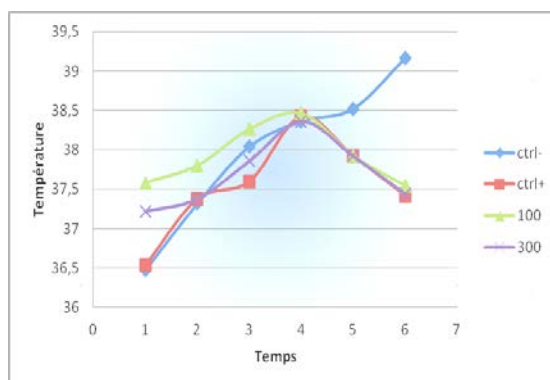


Figure 39. Activité antipyrétique de l'Aspirine (500mg/Kg) et de l'extrait d' *O. acanthium* à 100 et 300 mg/Kg comparée à celle contrôle négatif.

Nos résultats montrent un effet statistiquement significatif sur l'abaissement de la température à la dose de 100 mg/kg de 1,62 °C et de 1,72 °C à la dose de 300 mg/mL (tableau 12).

L'injection intra péritonéale de la levure de bière à 20% a provoqué une élévation de la température corporelle chez les rats, cette élévation est liée à la libération des cytokines (TNF- α , IL-1, IL6...) qui ayant atteint les vaisseaux sanguins stimulent la biosynthèse des prostaglandines E2 aux environs du centre hypothalamique thermorégulateur (Duraisankar *et al.*, 2012). Cette hyperthermie induit des mécanismes complexes mettant en jeu des réactions immuno-inflammatoires avec libération des pyrogènes endogènes et de prostaglandines. Cette synthèse peut être bloquée par l'aspirine. Comme les autres médicaments antipyrétiques (paracétamol et corticoïdes), l'aspirine entraîne une diminution de la température corporelle en situation d'hyper-pyrexie. Il est fort probable que notre extrait interfère avec la biosynthèse des prostaglandines E2 au niveau de l'hypothalamus par l'inhibition de la COX2 ou de l'IL-1, comme le font les salicylés et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Ouédrago *et al.*, 2012; Biren et Avinash 2010).

Selon Formisano *et al.* (2016), la décoction ou l'infusion de sommités fleuries d'*Onopordum illyricum* sont utilisées comme antipyrétique. Les lactones sesquiterpéniques, isolés de cette plante, sont les constituants actifs d'une variété de plantes utilisées dans les médicaments pour le traitement de diverses maladies allant de l'ulcère de la peau à l'athérosclérose, neurodégénérescence et même le cancer, et ils ont été suggérés pour la conception de nouveaux médicaments anti-inflammatoires.

L'effet antipyrétique de l'extrait butanolique est dû probablement à la présence des acides phénoliques, des flavones hétérosidiques et aglycones et les dérivés de l'apigénine qui semble majoritaire dans cet extrait selon le profil chromatographique. De plus le screening phytochimique a révélé la présence polyphénols, des triterpènes, des saponines, des tanins, anthraquinones et des coumarines, toute cette panoplie de métabolites secondaires peut responsable de l'effet antipyrétique par inhibition de la COX et réduction de PGE₂ au niveau de l'hypothalamus (Purnima *et al.*, 2010).

Conclusion et perspectives

En Algérie, la médecine traditionnelle trouve sa place au sein de la population. Mais dans certains cas, l'exposition aux plantes toxiques est inévitable. Ainsi, une meilleure connaissance des plantes médicinales et leur usage s'imposent.

Dans ce travail de thèse, nous avons évalué quelques activités biologiques de deux plantes appartenant à deux grandes familles des astéracées et des fabacées.

Avant d'aborder l'activité biologique, nous avons réalisé un screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges des plantes pour identifier les différentes classes de métabolites existants dans les extraits des deux plantes *O. acanthium* et *S. junceum*. Cette partie est complétée par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux.

Nos résultats montrent que nos extraits contiennent des composés phénoliques, flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, triterpènes, saponines, anthraquinones et des coumarines. Toute cette panoplie de composés chimiques, sans équivoque, serait responsable d'activités biologiques diverses.

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui a montré que les extraits issus des différentes parties des plantes étudiées sont riches en polyphénols.

Les taux les plus élevés de polyphénols se retrouvent dans les extraits de dichloro-méthane à 448,7 mg GAE/g des fleurs d'*O. acanthium*, suivi par ceux de l'extrait acétate à 388,29 mg GAE/g butanolique 310,72 mg GAE/g et par l'extrait aqueux à 116,99 mg GAE/g. Dans les feuilles les taux sont de 69,3, 53,51 et 41,19 mg GAE/g des extraits chloroformiques, méthanoliques et butanoliques respectivement. Les fleurs sont alors plus riches en polyphénols que les feuilles.

Le profil chromatographique des différents extraits des feuilles d'*O. acanthium* a révélé la présence des acides phénoliques (acide gallique), des flavones hétérosides et aglycones, apigénine et ses dérivés et des dérivés de cathéchines.

Le taux des polyphénols de *S. junceum* le plus élevé se retrouve dans les fleurs. L'extrait butanolique affiche un taux de 65,22 mg GAE/g, l'extrait chloroformique est de 57,86 mg GAE/g et celui de l'acétate affiche une valeur de 43,07 mg GAE/g. Dans les tiges, les

extraits méthanoliques et butanoliques leurs taux sont de 71, 80 mg GAE/g et 14, 62 mg GAE/g respectivement (Article en annexe).

Le profil chromatographique a révélé la présence des acides phénoliques, acide parahydroxy-benzoïque, d'acides cinnamiques de type para-coumaroïque, la naringénine et plusieurs dérivés de type flavone. Tous ces composés sembleraient contribuer dans les tests biologiques de façon synergique ou individuelle.

Les quantités que nous avons déterminées sont différentes de celles publiées dans la littérature, ces différences peuvent être justifiées par :

- ✚ le protocole d'extraction qui peut affecter les résultats, du fait de la solubilité des composés phénoliques
- ✚ leur matériel végétal qui a été récolté dans une région différente de la nôtre.
- ✚ la distribution des métabolites secondaires qui peut changer pendant le développement de la plante.
- ✚ d'autres facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques, ces facteurs peuvent être d'ordre extrinsèque et/ou des facteurs d'ordre génétique, ainsi que le degré de maturation de la plante, qui influencent tous le stockage des composés phénoliques. L'extraction des composés phénoliques à partir des plantes est aussi influencée par le temps et la température d'extraction, ce qui reflète les actions paradoxales de leur solubilisation et leur dégradation par oxydation. Par conséquent, il est important de faire le bon choix de procédure /méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques.

Par conséquent, il est important de faire le bon choix de procédure /méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques et ainsi une homogénéité des résultats obtenus d'une étude à l'autre.

Les fleurs de *S. junceum* contiennent des taux en flavonoïdes élevés, l'extrait acétate affiche une valeur de 381,89 mg QE/g suivi par l'extrait butanolique des tiges à 150,04 mg QE/g. Les autres extraits affichent des valeurs comprises entre 30,13 et 65,22 mg QE/g. Ces deux parties de la plante ont montré des activités antioxydantes remarquables à savoir avec les tests DPPH et CUPRAC l'extrait acétate des fleurs a affiché des IC_{50} de 16,19 et 6,83 $\mu\text{g/mL}$ et l'extrait butanolique des tiges a affiché des IC_{50} de 10,83 et 33,06 $\mu\text{g/mL}$ avec les tests FRAP et β -carotène. Cette activité antioxydante est due probablement à leur teneur en flavonoïdes et/ou polyphénols, de plus, cette activité pourrait justifier les résultats obtenus avec l'activité analgésique de l'extrait butanolique des tiges.

La quantification des flavonoïdes montre que les extraits butanoliques des feuilles et des fleurs d'*O. acanthium* affichent des valeurs élevées en flavonoïdes soit ; 382,72 et 102,63 mg QE/g, tandis que le taux dans l'extrait acétate est de 191,80 mg QE/g. En comparant les extraits entre eux, nos résultats montrent que les feuilles sont plus riches en flavonoïdes que les fleurs. La teneur élevée en flavonoïdes dans l'extrait butanolique des feuilles serait responsable des meilleures activités que celles des fleurs, notamment avec les tests FRAP (13,15 contre 68,87 $\mu\text{g/mL}$) et CUPRAC (18,78 contre 72,92 $\mu\text{g/mL}$). Par contre l'extrait acétate et dichlorométhane des fleurs possèdent le meilleur pouvoir antioxydant, cela serait dû probablement aux quantités de polyphénols retrouvées dans ces extraits soit 388,29 mg GAE/g et 448,70 mg GAE/g respectivement.

Avec le test β -carotène cinq extraits sur douze testées possèdent des valeurs prometteuses à savoir l'extrait acétate des fleurs d'*O. acanthium* qui possède une IC_{50} à 2,51 $\mu\text{g/mL}$ donc inférieur à celle des références BHA et BHT. Cet extrait posséderait le potentiel d'inhiber ou de contrôler de nombreux types de lésions cellulaires et d'empêcher entre autres le développement de l'athérosclérose.

Nos résultats montrent que les flavonoïdes se concentrent mieux dans les solvants polaires et moyennement polaires. Toutes les valeurs affichées TPC et TFC sont intéressantes. Leur importance dans la recherche de molécules à visée thérapeutique doit susciter une grande curiosité scientifique.

La caractérisation par HPLC a permis de montrer les profils en acides phénoliques en catéchines et en flavonoïdes de type flavone hétérosides et aglycones des espèces étudiées ; l'apigénine et naringénine semblent majoritaire dans *O. acanthium* et *S. junceum* respectivement. Ces analyses nous indiquent que ces deux plantes médicinales peuvent servir de sources d'antioxydants naturels ou de produits biologiquement actifs.

Les propriétés antioxydantes des polyphénols résultent de leur réactivité élevée comme donneurs d'hydrogène ou d'électrons et de leur capacité à stabiliser l'électron non apparié et de leur aptitude à séquestrer des métaux de transition empêchant par la suite la réaction de Fenton et la production de $\text{OH}\cdot$. Ces radicaux libres oxygénés ($\text{HO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$) sont à l'origine de nombreuses dégradations oxydantes de biomolécules (lipides insaturés, protéines, acides nucléiques) impliquées dans diverses pathologies (athérosclérose et maladies cardiovasculaires, cancers, neurodégénérescence) ainsi que dans le processus de vieillissement cellulaire.

Les flavonoïdes sont une classe de polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation. Leurs nombreuses propriétés pharmacologiques *in vitro* sont généralement la conséquence de leur affinité pour les protéines et de leurs propriétés antioxydantes.

Les résultats *in vitro* que nous avons obtenus dans notre travail ont révélé des activités antioxydantes pour l'ensemble des extraits, et particulièrement les fractions organiques des fleurs des deux plantes.

Les capacités antioxydantes déterminées *in-vitro* sont en relation directe avec le contenu en métabolites secondaires de chaque extrait et dépendent de l'ensemble des substances antioxydantes, de leurs natures, leurs teneurs, leurs structures et de toutes les interactions moléculaires qui peuvent agir de façon synergique pour faire hausser cette activité.

Enfin, les antioxydants naturels qui ont fait objet de cette étude montrent des qualités utiles pour renforcer l'organisme dans le cas de situation de stress oxydatif et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire.

Les simples tests *in-vitro* de détermination de l'activité antioxydante des polyphénols ont une portée limitée et sont difficilement extrapolables pour évaluer l'effet antioxydant des molécules après ingestion, ces composés, lors de leur séjour dans l'organisme, subissent une métabolisation au niveau du foie, pour mieux cerner ces activités *in-vitro*, nous avons réalisé des activités biologiques *in-vivo*. Pour cela nous avons choisi comme modèle animal des rats sur lesquels nous avons testé :

✚ L'activité analgésique périphérique (selon le test de Koster à l'acide acétique), les extraits butanoliques d'*O.acanthium* et de *S.junceaum* ont montré une analgésie périphérique très significative avec la dose de 600 mg/kg. Les rats traités avec la dose de 600mg/Kg par l'extrait butanolique d'*O.acanthium* et *S.junceaum* se comportent de la même manière que le contrôle positif (500mg/Kg d'Aspirine).

✚ L'activité anti-inflammatoire : nos résultats indiquent que l'extrait butanolique d'*O.acanthium* inhibe de façon temps et doses indépendants l'œdème induit par la carragénine à 1%. La forte inhibition de l'œdème a été observée à la cinquième heure pour les deux doses (200 et 400mg/Kg) avec des pourcentages d'inhibition de 78,89 et 75 % meilleurs que celui du produit de référence qui est l'aspirine (53,46%). Cela suggérerait qu'à la deuxième phase, l'action inhibitrice, de l'extrait butanolique des feuilles d'*O. acanthium*, s'exercerait davantage sur les cyclo-oxygénases qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines.

L'activité de l'extrait *n*-butanol étant observée à partir de 30 min d'expérimentation avec des pourcentages d'inhibition de 51,48% à la dose de 200 mg/Kg et de 32,21% à la dose de 400 mg/Kg et s'amplifie au-delà de la première heure de traitement, au moment de la libération de prostaglandines dans le site inflammatoire, cet extrait contiendrait également des inhibiteurs des prostaglandines comme l'aspirine. L'effet maximum qui correspond à 90,92 % (Aspirine 100mg/Kg) de réduction de l'inflammation induite par la carragénine est inférieur à l'effet maximum de l'extrait butanolique d'*O. acanthium* qui est égale à 96,79 % enregistré à la 5^{ème} heure d'expérimentation. Ce résultat indique l'existence de composés qui s'opposent à la formation de l'œdème et éventuellement à des lysosomes et des protéases au niveau de la zone inflammatoire.

✚ L'effet antipyrétique de l'extrait des feuilles de l'extrait butanolique d' *O. acanthium* sur l'hyperthermie induite par l'injection d'une solution de levure de bière à 20% a montré que notre extrait a fait baisser la température corporelle de manière hautement significative et qu'à la dose de 200mg/Kg, il possède le même comportement que celui de l'Aspirine à la dose de 500mg/Kg. Il est fort probable que l'extrait butanolique interfère avec la biosynthèse des prostaglandines comme le font les salicylés et les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

De plus, cet extrait inhibe l'hyperthermie (induite par l'injection de levure de bière). La réduction des symptômes (œdème et fièvre) nous montre que l'extrait butanolique d'*O. acanthium* posséderait des molécules potentielles anti-inflammatoires qu'il faudrait extraire, purifier et caractériser.

En conclusion, bien que de nombreuses questions restent en suspens, notre étude a confirmé ou mis en évidence certaines propriétés biologiques à savoir antioxydante et anti-inflammatoire de nos extraits.

Nos résultats sont satisfaisants puisqu'ils apportent la preuve que les deux plantes étudiées ont un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire importants, du moins pour l'extrait butanolique d'*O. acanthium*. Cette étude valide scientifiquement l'usage traditionnel de ces deux plantes et révèle leurs intérêts dans le cadre d'une exploitation en biotechnologie.

Nos perspectives vont vers l'aboutissement de notre étude phytochimique et pharmacologique sur l'ensemble des extraits qui ont montré une activité antioxydante concluante en vue de les valoriser. Il serait intéressant donc d'isoler et de caractériser les composés phénoliques des autres extraits des plantes qui ont fait objet d'étude et de réaliser un criblage biologique sur les différentes parties de deux plantes.

Aussi, serait-il souhaitable, pour une meilleure compréhension du mode d'action des dérivés polyphénoliques, d'évaluer *in-vitro* et *in-vivo* l'activité antioxydante de chacun de ces composés pris séparément. Ce qui permettrait alors de mettre en évidence le principe actif des extraits de plante et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés phénoliques.

L'évaluation des effets de nos extraits, qui ont présenté une meilleure activité, sur les signalisations impliquées dans les processus inflammatoires ainsi que les enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives et la quantification des médiateurs de l'inflammation à savoir TNF- α , l'IL-1 β , PGE2, iNO...

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* et *in-vivo* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Références bibliographiques

A

- Abdi S., Lee DH., Park SK., Chung JM.** 2000. Lack of pre-emptive analgesic effects of local anaesthetics on neuropathic pain. *British Journal of Anaesthesia*. 85(4). pp. 620-623.
- Aggarwal B B., Vijayalekshmi RV., Sung B.** 2009. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 15. pp. 425-430.
- Ait el cadi M., Makram S., Ansar M., Khabbal Y., Alaoui K., Cherrah Y., Taoufik J.** 2012. Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 70. pp. 113-116.
- Anthony L M.** 2017. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration (Oxf)*. 4(2). pp. 39-53.
- Antonisamy P., Duraipandiyan V., Ignacimuthu S.** 2011. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraacantha* Lam. in mouse and rat models. *J Pharm Pharmacol*. 63(8). pp.1070-1077.
- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Esin Çelik S., Bektaşoğlu B., Işıl Berker K., Özyurt D.** 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*. 12. pp. 1496-1547
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S.** 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(26). pp.7979-7981.
- Ashley T N., Weil Z M., Nelson R J.** 2012. Inflammation: mechanisms, costs and natural variation. *Annual Review*, 43. pp. 385-406.
- Astier J., Lindermayr C.** 2012. Nitric oxide-dependent posttranslational modification in plants. *Int J Mol Sci*, 13(11). pp. 15193-15208.
- Austin M P., Groves R H., Fresco L M F., Kaye P E.** 1985. Relative growth of six thistle species along a nutrient gradient with multispecies competition. *The Journal of Ecology*. 73(2) .pp. 667-684.
- Ayala A., Muñoz M F., Argüelles E.** 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*. p. 31.

B

- Barouki R.,** Morel Y. 2001. Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol.* 61. pp. 511-516.
- Barros L., Cabrita L., VilasBoas M., Ana MariaCarvalho., Isabel C F R Ferreira.** 2011. Chemical, biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wild plants. *Food Chemistry.* Vol.127. (4). pp 1600-1608.
- Bartikova H., Hanusova V., Skalova L., Ambroz M., Bousova I.** 2014. Antioxidant, Pro-Oxidant and Other Biological Activities of Sesquiterpenes. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* Vol. 14, (22). pp. 2478-94.
- Bezic N., Valerija D., Ani R.** 2003. Anatomical and chemical adaptation of *Spartium junceum* L. in arid habitat., *ACTA BIOLOGICA CRACOVIENSIA Series Botanica*, 45(2): 43-47.
- Bidaut-Russell M.** 2001. Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 15. pp. 739-753.
- Birben E., Umit Murat S., Cansin S., Serpil E., Omer K.** 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal.*25. p. 270.
- Biren N S, Avinash K S.** Medicinal plants as a source of antipyretic agents – A review. *Arch Appl Sci Res.* 2010;2:188– 195
- Bhaskaran N., Shukla S., Srivastava J K., Gupta S.** 2010. Chamomile: An anti-inflammatory agent inhibits inducible nitric oxide synthase expression by blocking RelA/p65 activity. *Int J Mol Med.* 26. pp.935-940.
- Bjarnason P., Scarpignato C., Holmgren E., Olszewski M., Rainsford K D., Lanas A.** 2018. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology.* 154(3). pp.500-514.
- Blumenthal KG, Lai KH, Huang M, Wallace ZS, Wickner PG, Zhou L.** 2017. Adverse and Hypersensitivity Reactions to Prescription Nonsteroidal Anti-Inflammatory Agents in a Large Health Care System. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 5(3). pp.737-743.

Bon C., Toutain P L., Concordet D., Gehring R., Martin-Jimenez T., Smith J., Pelligand L., Martinez M., Whittam T., Riviere J E., Mochel J P. 2018. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part III: Using nonlinear mixed-effects to characterize and quantify variability in drug pharmacokinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Vol.41. (2).pp. 171-183.

Botineau M. 2010. Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Editions TEC & DOC, Lavoisier, pp. 597-639.

Bouddah P P. 2009. Modification chimique d'antioxydants pour les rendre lipophiles. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré. Nancy I. pp.21-22.

Brune K., Patrignani P. 2015. New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pain Res.* 8. pp. 105-118.

Bruneton J. 1987. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique et Documentation. Lavoisier, Paris.

Bruneton J. 1999. pharmacognosy Phytochemistry medical plants Lavoisier publishing, USA, New York 2: a upplagan s. pp. 555-58.

Bruno M., Maggio A., Rosselli S., Safder M., Bancheva S. 2011. The metabolites of the genus *Onopordum* (Asteraceae): Chemistry and biological properties. *Curr Org Chem.* 15. pp.888-927.

Bourkhiss M., Hnach M., Paolini J., Costa J ., Farah A., Satrani B. 2010. Propriété antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* . *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. Vol. 79. pp. 141-154.

Bruneton J.1999. Pharmacognosie -Phytochimie, Plantes Médicinales, 3ème édition, (Ed.) Tec et Doc Lavoisier, p 1120.

C

Cai J., Zhao XL., Liu AW., Nian H., Zhang SH. 2011. Apigenin inhibits hepatoma cell growth through alteration of gene expression patterns. *Phytomedicine.* 18. pp.366-373.

Capiralla H., Vingtdoux V., Zhao H., Sankowski R., Al-Abed Y., Davies P., Marambaud P. 2012. Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and Abeta-mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF-kappaB/STAT signaling cascade. *Journal of Neurochemistry* 120, 461-472.

Carey W M., Babu J M, Rao V, Mohan K .2008. Antiinflammatory activity of the fruit of *Kigelia pinnata* Dc. *Pharmacologyonline*, 2. pp. 234-245.

- Cavers P B., Qaderi M M., Threadgill P F., Steel M G.** 2011. The Biology of Canadian Weeds. 147. *Onopordum acanthium* L. *Can. J. Plant Sci.* 91. pp. 739-758.
- Cazarolli L H., Zanatta L., Alberton E H., Figueiredo M S., Folador P., Damazio R G., Pizzolatti M.G., Silva F.R.** 2008. Flavonoids: prospective drug candidates. *Mini rev. med. Chem.*, 8. pp. 1429-1440.
- Chan T., Shimizu Y., Pospisil O., Nijo N., Fujiwara A.** 2012. Quality control of photosystem II: Lipid Peroxidation Accelerates Photoinhibition under Excessive Illumination. *PloSOne*, Vol. 7. n° 12.
- Chen L., Deng H., Cui H., Fan J., Zuo Z., Deng J., Li Y., Wang X., Zhao L.** 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 9(6). pp. 7204-7218.
- Čolak E., S Ignjatović., Radosavljević A., Žorić L.** 2017. The association of enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense parameters with inflammatory markers in patients with exudative form of age-related macular degeneration. *J Clin Biochem Nutr.* 60(2). pp.100-107.
- Christophe G., Pedro B C.** 2017. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol. Chem.* 398(10). pp. 1095-1108.
- Cividini F., Scott BT., Dai A., Han W., Suarez J., Diaz-Juarez J., Diemer T., Casteel D E., Dillmann WH.** 2016. O-GlcNAcylation of 8-Oxoguanine DNA Glycosylase (Ogg1) Impairs Oxidative Mitochondrial DNA Lesion Repair in Diabetic Hearts. *J Biol Chem.* 16; 291(51). pp.26515-26528.
- Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á.** 2016. Glutathione-Related Enzyme System: Glutathione Reductase (GR), Glutathione Transferases (GSTs) and Glutathione Peroxidases (GPXs). *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses.* pp. 137-158.
- Christian Z.** 2010. Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the asteraceae: trends and cause. *Phytochemistry Review.* 9.(2). pp. 197-203.
- Ciulei I.** 1982. Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs Ed. ministry of chemical industry, Bucharest. p.67.
- Copeland R A, Williams J M, Giannaras J, Nurnberg S, Covington M, Pinto D., Pick S., Trzaskos J M.** 1994. Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase. *Proc Nat.* 8; 91(23). pp. 11202-11206
- Cragg G M., Newman D J.** 2013. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta.* 1830(6). pp. 3670-3695.

Csupor-Löffler B., Zupkó I., Molnár J., Forgo P., Hohmann J. 2014. *Nat. Prod. Commun.*; **9**: 337-340.

D

Dai J., Russell J., Mumper. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molécules*, 15. pp. 7313-7352.

Deepak M K., Surendra S K., Mahabaleshwar V H., Hanhong B. 2015. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *Int J Biol Sci.* 11(8). pp. 982-991.

Deepshikha G. 2015. Methods for determination of antioxidant capacity. *IJPSR* .20. Vol. 6. (2). pp. 546-566

Denisov E T., Afanas'ev I B. 2010. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology: Taylor & Francis. p 1024.

Dhanapal V., Samuel T., Muddukrishniah B. 2018. Evaluation of analgesic activity of ethanolic and aqueous extracts of leaf of *Plumeria rubra* in albino rat. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*. Vol.5.(2).pp. 52-58.

Diankov S., Parlapanska K., Hinkov I., Karsheva M. 2013. Cinétique d'extraction de substances actives de chardon aux ânes (*O acanthium*). Capacité antioxydant des extraits. *Récents Progrès en Génie des Procédés*, Numéro 104.

Dias D A., Urban S., Roessner U. 2012. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites*. 2(2). pp.303-336.

Dhar R., Kimseng R., Chokchaisiri R., Hiransai P., Utaipan T., Suksamrarn A., Chunglok W. 2018. 2',4-Dihydroxy-3',4',6'-trimethoxychalcone from *Chromolaena odorata* possesses antiinflammatory effects via inhibition of NF- κ B and p38 MAPK in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 40. (1). pp. 43-51.

Dorward D.A., Lucas C.D., Rossi A.G., Haslett C., Dhaliwal K. 2012. Imaging inflammation : molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacology and Therapeutics*, 135. pp. 182-199.

Dubin A E., Patapoutian A. 2010. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest.* 120(11). pp. 3760-3772.

Ducourneau V. 2013. Réactivité gliale et transmission glutamatergique/glycinergique spinale dans un modèle de douleur cancéreuse osseuse chez le rat : approches comportementale, immunohistochimique, moléculaire et biochimique. Thèse. Université bordeaux 2. p.8.

Duraisankar M., Ravichandran V. 2012. Antipyretic Potential of Polyherbal Ayurvedic Products. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(2). pp.146-150.

E

Elion-Itou RDG., Etou Ossibi AW., Nsonde Ntandou GF., Morabandza CJ., Mayela Nkouka SHJ., Bokia CB., Abena AA. 2018. Evaluation of Antipyretic and Analgesic Effects of Aqueous Extract of Leaves of *Vernonia Amygdalina* Del. (Asteraceae). *Bioequivalence & Bioavailability International Journal*. 2(2): 000125.

El-Haci I A., Atik-Bekkara F., Didi A., Gherib M. ., Didi M. A. 2012. Total phenolic content and antioxidant activity of a medicinal plant endemic to the Algerian Sahara. *Phytothérapie*. Volume 10. (5). pp 280-285

Esra B., Umit M S., Cansin S., Serpil E., Omer K. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 5(1). pp. 9-19.

Edeoga H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 4. pp. 685-688.

Elion-Itou R D G., Sanogo R., Etou Ossibi A W., Nsonde Ntandou F G., Ondelé R., Pénemé B M., Okiémy Andissa N., Diallo D., Ouamba J M., Abena A A. 2014. Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of *Ceiba pentandra* Gaertn. *Pharmacology & Pharmacy*, 5. pp. 1113-1118.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. Vol. 331. (5). pp 372-379.

Fatih G., Duygu K D. 2013. Allergic and Immunologic Reactions to Food Additives. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 45. pp. 6-29.

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M L., Araújo M E. 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol*. 3.108(1) .pp. 31-37.

Finkel T. 2003. Oxidant signals and oxidative stress. *Curr Opin Cell Biol*;15. pp. 247-54.

Frankel E N., Meyer A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *Journal of Science and Food Agriculture*. 80. pp. 1925-1941.

G

- Gao Y., Li G., Li C., Zhu X., Li M., Fu C., Li B.** 2009. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of sophocarpine. *Journal of Ethnopharmacology*.125. pp. 324- 329.
- Gardon O., Faget L., Chu Sin Chung P., Matifas A., Massotte D., Kieffer B L.** 2014. Expression of mu opioid receptor in dorsal diencephalic conduction system: new insights for the medial habenula. *Neuroscience*. 26. (277). pp. 595-609.
- Gaschler M M., Stockwell B R.** 2017. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 15; 482(3) .pp. 419-425.
- Ghedira K.** 2005. Les flavonoïdes : propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Bio .med*. 4. pp.162-169.
- Gorissen K J., Benning D., Berghmans T., Snoeijs M G., Sosef M N., Hulsewe K W E., Luyer M D P.** 2012. Risk of anastomotic leakage with non-steroidal anti-inflammatory drugs in colorectal surgery. *British Journal of Surgery*. 99. pp. 721-727.
- Govindan P ., Muthukrishnan S .** 2013. Evaluation of total phenolic content and free radical scavenging activity of *Boerhavia erecta*. *Journal of Acute Medicine*.Vol. 3(3). pp.103-109.
- Guichet J-L.** 2010. Douleur animale, douleur humaine: Données scientifiques, perspectives. Editions Quae. p 137.

H

- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P.** 2007. Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62(10). p. 628.
- Halliwell B .** 2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends Pharmacol Sci* .Vol 32, (3). pp 125-130.
- Hämäläinen M., Nieminen R., Vuorela P., Heinonen M., Moilanen E.** 2007. Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages. *Mediators Inflamm*. doi: 10.1155/2007/45673.
- Hameed A., Sharma I., Kumar A., Azooz M M., Lone H A., Parvaiz Ahmad.** 2014. Glutathione Metabolism in Plants under Environmental Stress. *Oxidative Damage to Plant*. pp. 183-200.

Harden G H. 1992. Flora of New South Wales, Vol. 3. Kensington, NSW, Australia: New South Wales University Press.

Hazard R. 1950. Précis de thérapeutique et pharmacologie. Masson, Paris, 9^{ème} ed. 969-974.

Himani B., Promila S., Waheed S M., Singh S. 2018. Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity and Acute Toxicity Study of Cicerarietinum and Brassica oleracea var. italica *Journal of Graphic Era University* Vol. 6. (1). pp. 20-29.

Houmènou V., Adjatin A., Assogba F., Gbénou J., Akoègninou A. 2018. Etude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin. *European Scientific Journal*. Vol.14(6). pp.1857-7881

Hyde-Wyatt B H. 1968. Cotton thistle. *Tasmania Journal of Agriculture*, 39:43-46.

J

James W E., Hanna-Jumma S., Carraretto M., Forni L. 2016. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Walter et al. Critical Care* .20. (1). p.200.

Japon-Lujan R., Janeiro P., Luque de Castro M.D. 2008. Solid-liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasoundassisted approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56. pp. 7231-7235.

Jay L G., Byron C. 2015. Gastrointestinal injury associated with NSAID use: a case study and review of risk factors and preventative strategies. *Drug Healthc Patient Saf*. 7. Pp. 31–41.

Jimoh T O., Ogunmoyole T., Aladejana A E., Kade I J. 2016. Antioxidant potentials of tannic acid on lipid peroxidation induced by several pro-oxidants in cerebral and hepatic lipids. *International Journal of Ethnopharmacology*. 2(1). pp. 14-20

Jung H. W., Mahesh R., Lee J. G., Lee S. H., Kim Y. S., Park Y. K. 2010. Pinoresinol from the fruits of *Forsythia koreana* inhibits inflammatory responses in LPS-activated microglia - *Neuroscience Letters*, 480. pp. 215-220.

K

Kabel A.M. 2014. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*. 2 (3). pp. 35-38.

Kim H P., Son K.H., Chang H W., Kang S S. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Pharmacol Sci*. 96(3). pp. 229-45.

Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. 2006. Screening 70 medicinal plants extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. 94. pp. 550-557.

Koleva I I, Van Beek T A, Linssen JPH, DE Groot A, Evstatieva L N. 2001. Screening of plant extracts for antioxidant activity : a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal.* 13. pp. 8-17.

Kone M., Ouattara K., Gnahoue G., Ouattara A., Coulibaly A. 2013. Study Ethnopharmacological and Phytochemical Screening of Some Plants Involved in the Treatment of Abdominal Infections in The Department of Kouto. *Sch. J. App. Med. Sci.*1(2). pp. 56-6.

Koster R., Anderson M., Beer E J.1959. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*18. pp. 412-417.

Kuckleburg C J., Newman P J. 2013. Neutrophil proteinase 3 (PR3) acts on protease-activated receptor-2 (PAR-2) to enhance vascular endothelial cell barrier function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 33(2). pp. 275-284.

Kumar S, Molina-Cruz A, Gupta L, Rodrigues J, Barillas-Mury C. 2010. A peroxidase/dual oxidase system modulates midgut epithelial immunity in *Anopheles gambiae*. *Science*. 327. pp.1644-1648.

Kunnumakkara A B. ., Sailo B L., Banik K ., Harsha C., Prasad S., Chandra Gupta S., Chandra Bharti A., Aggarwal B B. 2018. Chronic diseases, inflammation, and spices: how are they linked?*J Transl Med.*16:14:doi.org/10.1186/s12967-018-1381-2.

Kumar D, Bhat ZA. 2012. Anti-anxiety activity of methanolic extracts of different parts of *Angelica archangelica* Linn. *J Tradit Complement Med.* 2. pp. 235-41.

L

Laar M V., Pergolizzi J V., Mellinghoff H-U., Merchante Ig M., Nalamachu S., O'Brien J., Perrot S., Raffa R B. 2012. Pain Treatment in Arthritis-Related Pain: Beyond NSAIDs. *Open Rheumatol J.* 6. pp.320-330.

Lajter I., San-Po P., Stefanie N., Sabine O., Andrea V., Boglárka C-L., Peter F., Judit H., Rudolf B. 2015. Inhibition of COX-2 and NF- κ B1 Gene Expression, NO Production, 5-LOX, and COX-1 and COX-2 Enzymes by Extracts and Constituents of *O. acanthium*. *Planta Med.* 81. pp. 1270-1276.

Lajter I., Csupor-Löffler B., Orbán-Gyapai O., Jedliszki N., Forgo P., Vasas A., Hohmann J. 2013. Bioactivity-guided isolation of compounds with xanthine oxidase inhibitory activity from *Onopordum acanthium*. *Z Phytother.* 34. DOI: 10.1055/s-0033-1338199.

- Lajter I.** 2015. Biologically active secondary metabolites from Asteraceae and Polygonaceae species. Thesis. University of Szeged. p.10.
- Larry R E.** 2015. Vitamin C. Chapter 39. Textbook of Veterinary Physiological Chemistry (Third Edition). pp. 254–259.
- Le Bars D., Willer J-C.** 2004. Physiologie de la douleur. EMC-Anesthésie-Réanimation.1(4). pp. 227-266.
- Le Bars J D., M. Gozariu et S. Cadden.** 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.* 53(4). pp. 597-652.
- Leong L P., Shui G.** 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.*, 76. pp. 69-75.
- Lei Chen., Hui T., Zhenglu X., Hui C., Wai S C., Krystyna S-W., Milen I G., Jianbo X.** 2017. Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: An update on structure–activity relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol 58. (4). pp. 513-527.
- Li Y-F., Xian Y-C., Ip S-P., Su Z-R., Su J-Y., He J-J., Xie Q-F., Lai X-P., Lin Z-X.** 2011. Anti-inflammatory activity of patchouli alcohol isolated from *Pogostemonis Herba* in animal models. *Fitoterapia*. 82. pp. 1295-1301.
- Link A., Balaguer F., Goel A.** 2010. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology* 80, 1771-1792.
- Liu Y., Wang M-W.** 2008. Botanical drugs: Challenges and opportunities - Contribution to Linnaeus memorial symposium 2007. *Life Sci*. 82. pp. 445-449.
- Li-Weber M.** 2009. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin. *Cancer Treat. Rev.* 35. pp. 57-68.
- Lledias F., Rangel P., Hansberg W.** 1998. "Oxidation of catalase by singlet oxygen", *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 273. p. 10630.
- Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N.** 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 4(8). pp. 118-126.
- Lopez-Lazaro M.** 2009. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem.* 9(1). Pp.31-59.

M

- Madan L K., Sunil S J.** 2011. Evaluation of Anti-Inflammatory Effect of Ethanolic And Aqueous extracts of Curcuma Zedoaria Rosc Root. *International Journal of Drug Development and Research*. 3 (1). pp. 360-365.
- Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R.** 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. pp. 77-82.
- Marcelo O. Freire., Van Dyke T E.** 2013. Natural resolution of inflammation. 63 (1). pp. 149-164.
- Markham K.R.** 1982. Techniques of flavonoid identification (Chapitre 1 et 2). London: *Academic Press*. pp. 111-113.
- Marzouk B., Marzouk Z., Haloui E., Turki M., Bouraoui A., Aouni M., Fenina N.** 2011. Anti-inflammatory evaluation of immature fruit and seed aqueous extracts from several populations of Tunisian Citrullus colocynthis Schrad. *African Journal of Biotechnology*, 10(20). pp. 4217-4225.
- Masresha B., Makonnen E., Debella. A.** 2012. In vivo anti-inflammatory activities of Ocimum suave in mice. *J. Ethnopharmacol.* 142. pp. 201-205.
- Max M., Stewart W F.** 2008. The molecular epidemiology of pain: a new discipline for drug discovery. *Natural Review Drug Discovery*. 7. pp. 647-658
- Mayadas T N., Cullere X., Lowell C A.** 2014. The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annu Rev Pathol.* 9. pp. 181-218.
- Medzhitov R.** 2010. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140. (6). pp. 771-776.
- Mendonça F.J.B.** 2012. Self-organizing maps of molecular descriptors for sesquiterpene lactones and their application to the chemotaxonomy of the Asteraceae family. *Molecules*(Basel, Switzerland) 17 (4). pp. 4684-4702.
- Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari Benhadj Ali K., Saadi A.** 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(4). pp. 1865-1870.
- Merskey H A., Bogduk N.** 1995. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Vol 11.(11). p. 163.
- Migdal C., Serres M.** 2011. Reactive oxygen species and oxidative stress. *Med Sci.* 27 .pp. 405-412.

- Milvia L R.** 2013. Antioxidant Defenses in Plants with Attention to Prunus and Citrus spp. *Antioxidants*. 2. pp. 340-369.
- Mira L., Tereza Fernandez M., Santos M., Rocha R., Florencio H.M., et Jennings K.R.** 2002. Interaction of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity. *Free Radical Res.* 36. pp.1199-1208.
- Miraldi E., Ferri S., Giorgi G.** 2004. Identification of Volatile Constituents from the Flower Oil of Spartium junceum., *Journal of essential oil research*, 16(6): 568-570.
- Mišan A C., Mimica-Dikić N M., Mandić A I., Sakač M B., Milovanović I J., Sedej I J.** 2011. Developpement of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolics compound in crude extracts. *Central European Journal of Chemistry*. Vol.9 (1). pp. 133-142
- Morand C., Milenkovic D.** 2014. Polyphénols et santé vasculaire. *Innovations Agronomiques*. (42). pp. 47-62.
- Mohamed E Z.** 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*. 15. (2). pp 129-144.
- Mookerjee B K., Lee T P., Logue G P., Lippes H A., Middleton E.** 1986. The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo. Res.* 213. pp. 511-520.
- Moore R J., Frankton C.** 1974. The Thistles of Canada. Monograph, Research Branch, Canada Department of Agriculture, No. 10:112 pp.
- Morel Y., Barouki R.** 1998. Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci (Paris)* 14. pp. 713-21.
- Moukette BM, Pieme CA, Njimou JR, Biapa CP, Marco B, Ngogang JY.** 2015. In vitro antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*. *Biological Research*. 48:15: doi.org/10.1186/s40659-015-0003-1.
- Muanda N F., Koné D., Dicko A., Soulimani R., Younos C.** 2009. Phytochemical composition and antioxidant capacity of three Malian Medicinal plant parts. *EBCAM*. pp.1- 8.
- Mucina L .** 1989. Syntaxonomy of the Onopordum acanthium communities in temperate and continental Europe. *Vegetation*. 81.pp. 107-115.
- Muller W. A.** 2013. Getting Leukocytes to the Site of Inflammation. *Vet Pathol*. 50(1). pp. 7-22.

N

Naveau B. 2005. Dual inhibition of cyclo-oxygénases and 5 lipoxygenase: a novel therapeutic approach to inflammation? *Revue du Rhumatisme*, 72. pp. 379-382.

Namgoong S Y., Son K H., Chang H. W., Kang S S., Kim H P. 1994. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 54(5). pp. 313-320.

Njeha F., Mhallab D., Ben Hammouda I, Triguib M., Mezghani-Jarraya R. 2017. Antibacterial Activity of *Onopordum Espinae*: Identification of Hispidulin and Dehydromelitensin-8-(4'-Hydroxy-Methacrylate). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 16 (4). pp. 1531-1537.

Newman D J., Cragg G M. 2016. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*,79 (3), pp 629-661

Ng Shie Y, Syahriel A., Chong Khim P. 2013. Phytochemical Constituents From Leaves of *Elaies Guineensis* and Their Antioxidants and Antimicrobial Activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 5(4). pp.137-140.

O

Sharma Om P., Bhat T K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food chem.* 113. (4). p. 1202.

Ouédraogo N., Lompo M., Sawadogo R W., Tibiri A., Hay A E., Koudou J ., Guissou P. 2012. Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie.* pp. 1-7.

Otterness G., Gans D J. 1988. Nonstéroïdal anti-inflammatoire drugs : an analysis of the relationship between laboratory animal and clinical doses, including species scaling. *J Pharm Sci.*77. (9). pp. 790-795.

Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44. p. 307.

P

Pajares M., Cuadrado A., Engeda N., Jirsova Z., Cahova M. 2018. The Role of Free Radicals in Autophagy Regulation: Implications for Ageing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.*: doi.org/10.1155/2018/2450748.

Palipoch S., Koomhin P. 2015. Oxidative Stress-Associated Pathology: A Review. *Sains Malaysiana*. 44 (10). pp.1444-1446.

Patrignani P., Patrono C. 2015. Cyclooxygenase inhibitors: From pharmacology to clinical read-outs. *Biochim Biophys Acta*. 1851(4). pp. 422-32.

Paul S, Dutta S, Chaudhuri TK, Bhattacharjee S. 2014. Antiinflammatory and protective properties of Aloe vera leaf crude gel in carrageenan induced acute inflammatory rat models. *Int J Pharm Pharm Sci*.6. pp. 368-371.

Paulrayer A., Veeramuthu D., Savarimuthu I. 2011. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraantha* Lam. in mouse and rat models. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 63. pp. 1070-1077.

Piechota-Polanczyk A., Fichna J. 2014. The role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Pharmacol J. Naunyn-Schmiedeberg*. 387 (7). pp.605-620.

Pillay P., Vlegaar R., Maharaj V J., Smith P J., Lategan C A., Chouteau F., Chibale K., 2007. Antiplasmodial hirsutinolides from *Vernonia staehelinoides* and their utilization towards a simplified pharmacophore. *Phytochemistry* 68. pp. 1200-1205.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. 2015. Free radicals: properties, sources, targets and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*. 30 (1) .pp. 11-26.

Popovici C., Saykova I., et Tylkowski B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4. pp. 25-39.

Procházková D., Boušová I., Wilhelmová N., 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* .Vol. 82, (4). pp 513-523.

Purnima A., Koti B C., Thippeswamy A H M., Jaji M S., Vishwantha Swamy A H M., Kurhe Y V., Jaffar Sadiq A. 2010. Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of *Mimusops elengi* Linn. *Indian J Pharm Sci*. 72(4). pp. 480-485.

Q

Qishan C., Qiwen W., Jianhua Z., Qingzhong X., Li Z. 2018. Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. *British Journal of Pharmacology*. 175. pp. 1279-1292.

Quézel P., Santa S. 1962. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, Ed CNRS, 475p.

R

- Rakesh K G., Amit K P., Niranjan S., Arun K C., Uday K J., Uday CY., Pavan K G., Uttam P.** 2014. Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15 (11). pp. 4405-4409.
- Rakoff-Nahoum S., Medzhitov.** 2009. Toll-like receptors and cancer. *Nat. Rev. Cancer*, vol n° 9. pp. 57-63.
- Rango M., Airaghi A., Airaghi L., Bresolin N.** 2012. Central hyperthermia, brain hyperthermia and low hypothalamus temperature. *Clinical Autonomic Research*, vol. 22, n° 6, pp. 299-301.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. C. Rice.** 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol & Med* Evans. 26. pp. 1231-1237.
- Reuter S., Subash C G., Madan M C., Bharat B A A.** 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine.* 49, (11). pp. 1603-1616.
- Ricciotti E, FitzGerald G A.** 2011. Prostaglandins and Inflammation *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31. (5). pp. 986-1000.
- Robert B.** 2006. Ageing free radicals and cellular stress. *Med Sci (Paris).* 22. pp. 266-272.
- Roshanak G., Manouchehr G., Massoud A., Niusha S., Ali G., Gholamreza A.** 2018. Effect of Onopordon acanthium L. as Add on Antihypertensive Therapy in Patients with Primary Hypertension Taking Losartan: a Pilot Study. *Adv Pharm Bull.* 8(1). pp. 69-75.
- Roth J., Blatteis C M.** 2018. Mechanisms of Fever Production and Lysis: Lessons from Experimental LPS Fever. *Comprehensive Physiology.* 4(4). pp. 1563-1604.
- Roudsari M., Chang P., Pegg R., Robert T.** 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chemistry.* 114. pp. 717-726.
- Raj P P.** 1996. Pain mechanisms. In *Pain medicine : a comprehensive review*, 1 st ed. MosbyYear Book, Inc., St. Louis, USA. pp. 12-24.
- Robards K.** 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *J.Chromatogr.* 1000. pp. 657-691.
- Rodrigo R., Miranda A., Vergara L.** 2011. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta* 412, 410-424. **Rizk A M.** 1982. Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia.* 52(2). pp. 35-42.

S

Sabine A. Eming., Paul Martin., Marjana Tomic-Canic. 2014. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med.* 6(265): 265sr6. doi:10.1126/scitranslmed.3009337.

Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell, G.P., Rice-Evans C.A. 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* pp. 339-346.

Sanogo R., Maiga A., Diallo D. 2006. Activités analgésique et anti-inflammatoire des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereospermum kunthianum* et *Trichilia emetica* utilisées dans le traitement traditionnel des dysménorrhées au Mali. *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, XIV. pp. 123-136

Sarma A.D., Mallick R.A., Ghosh A.K. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions. *International Journal of Pharma Sciences and Research.* 1. (3) .pp. 185-192.

Sathiya J J., Sunitha J., Ananthalakshmi R., Rajkumari S., Ramesh Maya., Ramesh Krishnan. 2015. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *J Pharm Bioallied Sci.* 7(2). pp. 331-333.

Schetter A J., Heegaard N H H., Harris C C. 2010. Inflammation and cancer: interweaving micro RNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis* 31. pp. 37-49.

Scotti M.T., Emerenciano V M J P. Ferreira L. Scotti R. Stefani M.S. Da Silva., Mendonça F J B. 2012. Self-organizing maps of molecular descriptors for Sesquiterpene lactones and their application to the chemotaxonomy of the Asteraceae family. *Molecules.*(Basel, Switzerland) 17 (4). pp. 4684-4702.

Seelinger G, Merfort I, Schempp CM. *Planta Med.* 2008. 74. pp. 1667-1677.

Seo H S., DeNardo D G., Jacquot Y., Laios I., Vidal D S., Zambrana C R ., Leclercq G., Brown P H. 2006. Stimulatory effect of genistein and apigenin on the growth of breast cancer cells correlates with their ability to activate ER alpha. *Breast Cancer Research and Treatment.* 99. (2). pp. 121-134.

Serhan C.N., Ward P.A., Gilroy D.W. 2010. Fundamentals of inflammation. ardback, USA, pp. 13-14.

Sharma K, Assefa A, Kim S, Ko EY, Tai Lee E, Park SW. 2014. Evaluation of total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of 18 Korean onion cultivars: a comparative study. *J Sci Food Agric.* 94. pp.1521-1529.

- Siemens J., Kamm G B.** 2018. Cellular populations and thermosensing mechanisms of the hypothalamic thermoregulatory center. *European Journal of Physiology*. Vol.470.(5).pp. 809-822.
- Simioni C., Zauli G., Martelli A M., Vitale M., Sachetti G., Gonelli A., Neri L M.** 2018. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget*. 9(24). pp. 17181-17198.
- Simmonds M S J.** 2003. Novel drugs from botanical sources. *Drug Discovery Today* 8.pp. 721-722.
- Sozzani S., Abbraccio M P., Annese V., Danese S., De Pita O., De Sarro G.** 2014. Chronic inflammatory diseases: do immunological patterns drive the choice of biotechnology drugs? A critical review. *Autoimmunity*. 47. (5). pp.287-306.
- Srivastava S., Singh P., Jha K K., Mishra G., Srivastava S., Khosa R L.** 2013. Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of Aerial Parts of *Costus speciosus* Koen. *Indian J Pharm.*75(1). Pp. 83-88
- Srividya S., Sridevi G., Manimegalai A G.** 2017. Phytochemical Screening and In Vitro Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Cassia occidentalis* International Journal of *Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(3). pp. 252-256.
- Strate L L., Liu Y L., Huang E S., Giovannucci E L., Andrew T C.** 2011. Use of Aspirin or Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs Increases Risk for Diverticulitis and Diverticular Bleeding. *Gastroenterology*. 140. pp.1427-1433.
- Strzelecka M., Bzowska M., Koziel J., Szuba B., Dubiel O., Rivera Nunez D., Heinrich M., Bereta, J.** 2005. Anti-inflammatory effects of extracts from some traditional mediterranean diet plants. *J. Physiol. Pharmacol.* 1. pp. 139-156.
- Sylvie D D. Anatole P C., Cabral B P., VeroniqueP B.** 2014. Comparison of *in vitro* antioxidant properties of extracts from three plants used for medical purpose in Cameroon: *Acalypha racemosa*, *Garcinia lucida* and *Hymenocardia lyrata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 4. (2).pp. 625-632
- Suheda K., Belgin S. IsgorY G., Isgor N., Shomali Mo., Ozlem Y.** 2015 .The potential medicinal value of plants from Asteraceae family with antioxidant defense enzymes as biological targets. *Pharmaceutical Biology*. 53. pp.746-7451.

T

- Terra X., Valls J., Vitrac X., Mérrillon J.-M., Arola L., Ardèvol A., Bladé C., Fernández Larrea J., Pujadas G., Salvadó J., Blay M.** 2007. Grape-seed procyanidins act as

antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway. *J. Agric. Food Chem.*, 55. pp. 4357-4365.

Tsai, M.C., Song, T.Y., Shih, P.H., Yen, G.C. 2007. Antioxidant properties of water soluble polysaccharides from *Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Food Chem.* 104. pp. 1115-1122.

Turkmen N., Velioglu Y S., Sari F., Polat G.2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules.* 12. pp. 484-496.

Tushar K D., Mas R W., Kaneez F-S. 2014. Oxidative Stress Gated by Fentonand Haber Weiss Reactions and Its Association With Alzheimer's Disease. *Arch Neurosci.* 2(3) DOI: 10.5812/archneurosci.20078.

U

Ullah N., Huang Z., Sanaee F., RodriguezDimitrescu A., Aldawsari F., Jamali F., Bhardwaj A., Ul Islam N., Velázquez-Martínez C A. 2016. NSAIDs do not require the presence of a carboxylic acid to exert their anti-inflammatory effect – why do we keep using it? *J Enzyme Inhib Med Chem.* 31(6). pp. 1018-1028

Ulrich F., William C. 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 33(7). pp. 829-837.

V

Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J., Telser J. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell Biochem.* 266(1-2). pp. 37-56.

Van Gisbergen M W., Voets A M., Starmans M H W., de Coo I F M., Yadak R., Hoffmann R F., Boutros P C., Smeets H J M., Dubois L ., Lambin P. 2015. How do changes in the mtDNA and mitochondrial dysfunction influence cancer and cancer therapy? Challenges, opportunities and models. *Mutation Research.* Vol. 764. pp. 16-30.

Viars P. 1979. Principales substances utilisées pour assurer une hypotension contrôlée. In: *Pharmacologie clinique.* Giroud, J.P., Mathe, G., Meyniel, G. Eds, Tome 2, 2010-2028

Vivek K B., Yong-Ha P., Pooja A. 2015. Studies on phytochemical analysis, antioxidant and lipid peroxidation inhibitory effects of a medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Frontiers in Life Science.* Vol 8. (2). pp. 139-147.

W

Wachtel-Galor S., Benzie I F F. 2011. An Introduction to Its History, Usage, Regulation, Current Trends, and Research Needs. Chapter 1. Herbal Medicine. CRC Press/Taylor & Francis.

Waldiceu A., Verri J., Fabiana T M., Vicentini C., Marcela M B., Sandra R., Georgetti., Renato D R C., Thiago M C., Sergio H. F., Fernando Q C., Maria J V F., Rubia C. 2012. Flavonoids as Anti-Inflammatory and Analgesic Drugs ; Mechanisms of Action and Perspectives in the Development of Pharmaceutical Forms. *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol.. 36. pp. 297-330.

Wantana R., Tassanee N., Subhadhirasakul S. 2009. Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of Putranjiva roxburghii Wall. leaf extract in experimental animals. *J Nat Me.* 63. pp. 290-296.

William A. Muller. 2014. How Endothelial Cells Regulate Transmigration of Leukocytes in the Inflammatory Response. *Am J Pathol.* 184(4). pp. 886-896.

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL .2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. Review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 44. pp. 275-95.

World Health Organization. Cancer pain relief. 2nd ed. Geneva: WHO; 1996.

World Health Organization. Cancer pain relief. Geneva: WHO; 1986.

Yang J., Guo J., Yuan J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin .*LWT*, 41. pp. 1060-1066.

Yangchen D B., Rajagopalan V., Uma P. 2010. Analgesic and anti-inflammatory activity of amifostine, DRDE-07, and their analogs, in mice Indian J Pharmacol. 42(1). pp. 17-20.

Yanjing C., Jinghe Y., Zhiling W., Xia Wu., Feiwang, 2007. scopoletine as fluorescence probe for determination of protein, *Spectro chemical acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy.* 66. pp. 686-690.

Z

Zare K., Nazemyeh H., Lotfipour F., Farabi S., Ghiamirad M., Barzegari A. 2014. Antibacterial Activity and Total Phenolic Content of the Onopordon acanthium L. Seeds. *Pharmaceutical sciences.* 20. pp.6-11.

Zarghi A., Arfei S. 2011. Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationships. *Iran J Pharm Res.* 10(4).pp. 655-683.

المخلص

يتضمن هذا العمل دراسة كيمياء نباتية، وتقدير النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للإلتهابات، والنشاط المسكن والخافض للحرارة لنبتتين تستخدمان في الطب التقليدي *S. junceum* و *O. acanthium* وتنتميان للنوعين *العائلة النجمية و البقولية*. المستحضرات المختلفة لـ *O. acanthium* تستعمل في علاج أمراض الكبد، اليواسير، الاضطرابات الهضمية، الأمراض النسائية وكمستحضر مخفض لدرجة الحرارة ، أما *S. junceum* يعالج أمراض القلب، ملين للأمعاء ، مدر للبول، يساعد على التقيؤ والإسهال. كشفت الدراسة كيمياء نباتية لمختلف أجزاء النبتتين على تواجد: الفينول، الفلافونويد، الصابونين، الكومارين، المواد الدباغية و anthraquinones ، تحاليل الكروماتوغرافيا (HPLC) للمستخلصات ذات القطبيات المختلفة لأوراق *O. acanthium* سمحت بالكشف على تواجد الأحماض الفيلونوية ، الفلافونويدات من نوع flavones hétéroside ومشتقات catéchine و Apigénine ومشتقاته ، في حين أن سيقان نبتة *S. junceum* تبين احتوائها على أحماض فيلونوية، مركبات من نوع flavone ، flavanone ، naringénine وقد لوحظ أقوى نشاط مضاد للأكسدة في مستخلص الاسيتات لازهار النبتتين مع اختبار DPPH بقيم IC₅₀: 16.19 و 24.32 ميكروغرام / مل لـ *O. acanthium* و *S. junceum* على التوالي. مع اختبار الإرجاع الإشعاعي للكاثيون ABTS⁺ ، أظهر مستخلص الأسيتات لأزهار *O. acanthium* و البيتانوليك لـ *S. junceum* قيم IC₅₀ 23.71 و 23.49 ميكروغرام / مل على التوالي. اختبار تبييض الكاروتين، في مستخلص الاسيتات و مستخلص ثنائي كلوريد الميثان لأزهار *O. acanthium* و اسيتات *S. junceum* تظهر ان IC₅₀ لكليهما يوافق القيم . 2,51، 20,77 و 24,28 ميكروغرام/مل. أظهر اختبار إرجاع الحديد، لمرحلة الأسيتات تليها مستخلص كلوريد الميثان أزهار *O. acanthium* ، أوراق البوتانوليك وأسيتات أزهار *S. junceum* مهمة جدا ؛ 6.48، 10.08، 13.15 و 14.52 على التوالي. هذه المستخلصات لديها القدرة على إرجاع الحديد بشكل جيد. الدراسة الحيوية (داخل جسم كائن الحي) *in-vivo* لمستخلص BuOH لأوراق وسيقان *O. acanthium* و *S. junceum* على التوالي ، بينت نشاطهما المسكن ، مع قدرتهما على الحماية من التشنجات البطنية ، عند جرعة 600 ملغ / كلغ ، بعد 25 دقيقة، كما أن لهذه المستخلصات تأثيرا وقائيا ضد الألام مقارنة مع الاسبيجيك (Aspégic) بجرعة 500 ملغ / كلغ . أظهرت النتائج المتحصل عليها أن جرعة قدرها 900 ملغم / كلغ من مستخلصات البوتانول للنبتتين لديها نشاط مضاد للإلتهاب بفرق معنوي عالي مقارنة بالأسبيجيك بجرعة قدرها 500 ملغم / كلغم. بالإضافة إلى ذلك، فلقد أظهرت مرحلة BuOH لـ أوراق *O. acanthium* تأثيرا مضادا للإلتهابات وخافضا للحرارة.

يمكن اعتبار هذه النتائج كنقطة انطلاق للتطبيقات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: *S. junceum* - *O. acanthium* - مستخلص BuOH - نشاط مضاد للأكسدة - نشاط مسكن ، الإنزيمية وخافض للحرارة.

Résumé

Ce travail a porté sur l'étude phytochimique, l'évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoires à savoir activité analgésique, antalgique et antipyrétique de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle appartenant aux astéracées et fabacées : *O. acanthium* et *S. junceum*

Les différentes préparations d'*O. acanthium* sont surtout utilisées contre les maladies hépatiques, hémorroïdes, les troubles gastriques, les maladies gynécologiques et comme un antipyrétique. Tandis que celles de *S. junceum* sont cardiotoniques, cathartiques, diurétiques, émétiques et purgatifs. Les études phytochimiques des différentes parties des deux plantes ont révélé la présence des phénols, des flavonoïdes, des saponines, des coumarines, des tanins et des anthraquinones, l'analyse HPLC des extraits de différentes polarités des feuilles d'*O. acanthium* a permis de caractériser la présence des acides phénoliques, des flavonoïdes de type flavones hétérosides, des dérivés de catéchine, d'Apigénine et ses dérivés, par contre celle des tiges de *S. junceum* a montré la présence des acides phénoliques, composés de type flavone et une flavanone, la naringénine. L'activité antioxydante la plus forte a été observée dans l'extrait d'acétate des fleurs de deux plantes avec le test DPPH avec des valeurs d'IC₅₀ 16,19 et 24,32 µg/mL pour *O. acanthium* et *S. junceum* respectivement. Avec le test de réduction du radical cation ABTS⁺, l'extrait acétate des fleurs d'*O. acanthium* et butanolique de *S. junceum* ont affiché des valeurs d'IC₅₀ de 23,71 et 23,49 µg/mL respectivement. Le test de blanchissement de carotène, l'extrait acétate, dichlorométhane des fleurs d'*O. acanthium* et acétate de *S. junceum* leurs IC₅₀ égales à 2,51 ; 20,77 et 24,28 µg/mL respectivement. Le test de réduction du fer, l'extrait acétate suivie par dichlorométhane des fleurs d'*O. acanthium*, butanolique des feuilles et acétate des fleurs de *S. junceum* a montré des IC₅₀ très intéressants ; 6,48 ; 10,08 ; 13,15 et 14,52 respectivement. Ces extraits possèdent le pouvoir réducteur du Fer. Une étude *in-vivo* a montré que l'extrait BuOH des feuilles et des tiges d'*O. acanthium* et *S. junceum* respectivement, possède une activité analgésique, avec un pouvoir de protection notoire vis-à-vis de crampes abdominales, à la dose de 600 mg/kg, après 25 min les extraits BuOH d'*O. acanthium* et de *S. junceum* ont un effet protecteur contre la douleur comparable à celui de l'Aspégic à la dose de 500mg/kg. Les résultats obtenus montrent que les extraits butanolique des deux plantes à la dose de 900mg/Kg ont une activité anti-inflammatoire supérieure et hautement significative à celle de l'Aspégic à 500 mg/Kg. De plus, l'extrait BuOH des feuilles d'*O. acanthium* a montré un effet anti-inflammatoire et antipyrétique. Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour des applications thérapeutiques.

Mots-clés : d'*O. acanthium* - *S. junceum* Extrait BuOH – Activité antioxydante - Activité analgésique, oedémateuse et antipyrétique.

Abstract

The present work was focused on the phytochemical analytical studies and the evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities including analgesic and antipyretic activity of two plants belonging to asteraceae and fabaceae families namely *O. acanthium* and *S. junceum*. The various preparations of *O. acanthium* are mainly used against hepatic diseases, hemorrhoids, gastric disorders, gynecological diseases and as antipyretic. While those of *S. junceum* are cardiogenic, cathartic, diuretic, emetic and purgative. Phytochemical analysis of various parts of both the plants revealed the presence of phenols, flavonoids, saponins, coumarins, tannins and anthraquinones. *Onopordum* and *Spartium* acetate extract had shown strongest antioxidant activity analysed with the DPPH test with IC₅₀ values of 16.19 and 24.32 µg / mL respectively. With the ABTS⁺ radical cation reduction test, the acetate extract of the *Onopordum* and *Spartium* ethanolic flowers displayed IC₅₀ values of 23.71 and 23.49 µg / mL respectively. With the β-carotene bleaching test, the acetate extract and dichloromethane extract of *O. acanthium* flowers had IC₅₀ equal to 2.51 and 20.77 respectively whereas the acetate extract of *S. junceum* had IC₅₀ equal to 24.28 µg / mL. With iron reduction test, antioxidant activity of *O. acanthium* flowers of acetate extract followed by dichloromethane extract with IC₅₀ value 6.48 and 10.08 respectively whereas butanolic extract of *S. junceum* leaves and acetate extract of *S. junceum* flowers showed very interesting activity with IC₅₀ value 13.15 and 14.52 respectively. These extracts have the power to reduce Fe. An *in-vivo* study have shown an analgesic activity for the BuOH extract of the leaves and stems of *O acanthium* and *S junceum* respectively, with a notorious power of protection against abdominal cramps, at the dose of 600 mg / kg, after 25 min pretreatment with BuOH extracts of *O acanthium* and *S junceum* had a protective effect against pain comparable to that of aspirin at a dose of 500 mg / kg. The results obtained shown that the butanolic extracts of the two plants at the dose of 900 mg / kg had superior anti-inflammatory activity and highly significant to that of aspirin at 500 mg / kg. In addition, the BuOH extract of *O acanthium* leaves showed an anti-inflammatory and antipyretic effect. These results demonstrates as a starting point for therapeutic applications.

Key words: *O acanthium* - *S junceum* Extract BuOH - Antioxidant activity - Analgesic, edematous and antipyretic activity.