

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل-
Université Mohammed Seddik Ben Yahia–Jijel

Faculté des Sciences de Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الجزينية والخلوية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**
Option : **Biologie Moléculaire et cellulaire**

Thème

Evaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* et *in vivo* de deux plantes de genre *Ephedra*.

Membres de Jury

Présidente : D^r LAHOUEL A.
Examinatrice: M^{me} MEZAHM T.
Encadreur: M^{me} BENASAM M.

Réalisé par :

SAMIR Amira

Années Universitaire : 2017-2018

Numéro d'ordre :

Remerciements

Avant tout, louange à « ALLAH »

Le tout puissant, le très miséricordieux qui m'a donnée la santé, la force, le courage et l'opportunité de mener ce travail à terme.

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent à mon encadreur **M^{me}Bensam M.** pour sa gentillesse sa patience et la confiance qu'elle m'a accordée et m'a permis de réaliser ce travail*

*Mes Remerciements vont également à **D^r Lahouel A.** Pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury et d'évaluer ce mémoire.*

*J'adresse mes remerciements à **M^{me}Mezahem T,** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mes gratitudes en particulier à **M^{me} Kebza W** pour sa gentillesse et encouragements continus.*

A mes parents pour leur contribution dans chaque travail que j'ai effectué et pour tous les sacrifices consentis.

A l'ensemble des enseignants du Département de Biologie moléculaire et cellulaire

A tous mes collègues et mes amies

Merci

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
I. Synthèse bibliographique	2
I. 1. Inflammation	2
I.1.1.Généralités	2
I.1.2. Récepteurs de l'immunité innée	2
I.1.3. Cellules de l'inflammation	3
I.1.3.1. Leucocytes	3
I.1.3.2.plaquettes	4
I.1.3.3. Les mastocytes	4
I.1.4.médiateurs chimiques de l'inflammation	5
I.1.4.1. Amines vaso-actives	5
I.1.4.2. Protéines plasmatiques	5
I.1.4.3. Métabolites de l'acide arachidonique	6
I.1.4.3. Facteur d'agrégation plaquettaire (PAF)	6
I.1.4.4. Cytokines et chémokines	6
I.1.4.5. Radicaux libres dérivés de l'oxygène	6
I.1.4.6. Facteur de transcription nucléaire kappa B	7
I.1.5. Types d'inflammation	7
I.1.5.1. Inflammation aiguë	7
I.1.6. Inflammation chronique	7
I.1.7. Inflammation induite par la carragénine	8
I.1.8. Biomarqueurs de l'inflammation	8
I.1.8.1. Hémogramme	8
I.1.8.2. Protéines de la phase aiguë	8
I.1.9. Anti-inflammatoires	9
I.1.9.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	9
a. Généralités	9

b. Mécanismes d'action	9
c. Effets secondaires	10
I.1.9.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	10
a. Généralités	10
b. Mode d'action et effets indésirables	10
I.1.10. Plantes médicinales anti-inflammatoires	10
I.2. Génération des espèces réactives de l'oxygène par le processus inflammatoire	10
I. 2. 1. Généralités sur le stress oxydant durant les processus inflammatoires	11
1.2.2. Radicaux libres	11
I.2.3. Source des radicaux libres dans un état inflammatoire	12
I.2.4. Cibles des ROS	12
I.2.4.1. Acide désoxyribonucléique	12
I.2.4.2. Protéines	12
I.2.4.3. Lipides	13
I.2.5. Systèmes antioxydants	14
I.2.5.1. Systèmes antioxydants Enzymatiques	15
I.2.5.2. Systèmes anti-oxydants non enzymatique	15
I.3. Plantes médicinales	16
I.3.1. Généralité	17
I.3.2. Métabolites secondaires	18
I.3.2.1. Polyphénols	19
I.3.2.2. Alcaloïdes	20
I.3.2.3. Terpènes	20
I.3.3. Plantes médicinales de genre Ephedra	21
I.3.3.1. Généralités	21
I.3.3.2. Distribution	22
I.3.3.3. Description	22
I.3.3.4. Phytochimie de la plante	23
I.3.3.5. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles	23
I.3.3.6. Effets secondaires, toxicité et les contre-indications	24
I.3.3.7. Classification taxonomique	24

I.3.3.8. <i>Ephedra alata</i>	25
a. Description	25
b. Distribution	25
I.3.3.9. <i>Ephedra fragilis</i>	26
a. Description	26
b. Distribution	26
II. Matériels et méthodes	27
II.1. Etude phytochimique d'<i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i>	27
II.1.1. Matériel végétal	27
II.1.2. Préparation des extraits bruts méthanoliques	28
II.1.3. Dosage des polyphénols totaux	28
II.1.4. Dosage des flavonoïdes totaux	28
II.1.5. Dosage des flavonols	28
II.1.6. Dosage des tanins hydrolysables	29
II.2. évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	29
II.2.1. Test de stabilisation de la membrane des globules rouges	30
II.2.1.1. Préparation de la suspension des globules rouges	30
II.2.1.2. Hémolyse induite par la chaleur	30
II.2.3. Etude de l'activité anti-radicalaire	31
II.3. évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	32
II.3.2. Traitement des animaux	32
II.3.3. Mesure du volume de l'œdème induite par la carragénine	33
II.3.4. Sacrifice et prélèvement du foie et du tissu de la patte	34
II.3.5. dosage des paramètres du stress oxydatif induit par l'inflammation	34
II.3.5.1. Préparation de la fraction cytosolique	35
II.3.5.2. Dosage des protéines du foie	35
II.3.5.3. Dosage du Malone-dialdéhyde (MDA) du foie et de tissu de la patte	36
II.3.5.4. Dosage du glutathion hépatique(GSH)	36
II.4. Analyse statistique des résultats	37
III. Résultats et discussion	38

III.1. Nature phytochimique des plantes <i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i>	38
III.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	38
III.1.2. Teneur en composés phénoliques des extraits	39
III.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	40
III.2.1. Effet des extraits des <i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i> sur la stabilisation de la membrane des globules rouges	40
III.2.2. Effet anti-radicalaire d'<i>E. alata</i> et <i>E. fragilis</i>	42
III.3. évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	43
III.3.1. développement du volume de l'œdème de la patte de la souris induite par la carragénine	44
III.3.2. Effet de l'extrait d'<i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i> sur les paramètres du stress oxydatif induit par l'inflammation	46
III.3.2.1. Effet sur le MDA de tissu de la patte des souris	46
III.3.2.1. Effet sur le MDA hépatique	48
III.3.2.2. Dosage du glutathion GSH	49
Conclusion	50
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

- AIS:** anti-inflammatoires stéroïdiens.
- AINS:** anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- BSA:** Albumine Sérique Bovine.
- CLR:** Lectines de type C.
- CTA:** Cellule Présentatrice d'Antigène.
- CSF:** Colotiystimulating Factor.
- COX-1 et COX-2:** Cyclo-Oxygénase 1 et 2.
- CRP:** Protéine C Réactive.
- GR:** Récepteur des Glucocorticoïdes
- CAT:** Catalase.
- GPx:** Glutathion peroxydases.
- GSH:** glutathion réduit
- DTNB:** Acide 5,5'-Dithio-bis-2-nitrobenzoïque.
- DPPH:** 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle.
- IL-10:** Interleukine 10.
- LB:** Lymphocytes B.
- LT:** Lymphocytes T.
- MC:** Cellules Mastocytes.
- MDA:** Malondialdéhyde.
- NK:** Natural Killer.
- NO:** Oxyde Nitrique.

NLR: NOD-Like Receptors.

NF- κ b:Facteur de transcription nucléaire kappa B.

Nod-like:Nucleotide-binding oligomerizationdomain-containingprotein.

OMS:Organisation mondiale de la Santé

PE: Polynucléaires Eosinophiles.

PGE2 et PGI2:Prostaglandine E2, et GI2.

PGD2:Prostaglandine D2.

PAF: Facteur d'Agrégation Plaquettaire

PN:Polynucléaires Neutrophiles.

PRR: Pattern-Recognition Receptors.

RLRs:Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I)-Like Receptors.

ROS: Reactive Oxygen Species

TBA:Acide Thiobarbiturique.

TCA:Acide Trichloracétique.

TEP:1,1', 3,3' - tétraéthoxypropane

TLR: Toll-Like Receptors.

TNF- α : Facteur de Nécrose Tumorale- α .

TGF- β : tumorgrowth factor-beta.

.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structure de la carragénine R=SO ₃ ⁻ pour ι- carragénine, R=H pour κ- carragénine.	8
2	Protéines de la phase aiguë.	9
3	Synthèse et effet des glucocorticoïdes.	9
4	Mécanisme d'action et effets des AINS.	12
5	Différentes ROS et les antioxydants régulateurs de leur production.	17
6	Structure d'éphédrine.	22
7	<i>Ephedra alata</i> .	24
8	<i>Ephedra fragilis</i> .	25
9	Réduction du DPPH° par un antioxydant.	5
10	Mesure du volume initial de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.	2
11	Administration orale des extraits (a), Injection de la carragénine sous le coussinet plantaire (b).	2
12	Sacrifice et prélèvement du foie et du tissu de la patte.	3
13	Principe de dosage du MDA.	5
14	Principe de dosage de GSH.	6
15	Activité anti-hémolytique des extraits des plantes <i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i> comparant avec l'Aspegic® avec des différents doses.	42
16	Pourcentage de réduction du radical libre DPPH° par d' <i>E. alata</i> et <i>E. fragilis</i> et l'acide ascorbique à différents concentrations.	43
17	Effet du d' <i>E. alata</i> et <i>E. fragilis</i> et de l'Aspegic® sur le volume de l'œdème induit par la carragénine (mm).	45
18	Pourcentage d'inhibition de l'inflammation induite par la carragénine à 1% après traitement par <i>E. alata</i> et <i>E. fragilis</i> et de l'Aspegic®.	46
19	Variations des taux du MDA cytosolique de tissu de la patte après traitement.	48
20	Variations des taux du MDA cytosolique hépatique après traitement.	49
21	Variation des taux du GSH hépatique après traitement.	50

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Effets indésirables des AIS.	11
2	Les principaux ROS, leur génération et leur destination dans un processus inflammatoire.	14
3	Classification et sources des flavonoïdes.	19
4	Classification et sources des acides phénoliques.	20
5	Classification systématique d' <i>E.alata</i> / <i>Ephedrafragilis</i> .	23
6	Rendement d'extraction de l'extrait méthanolique d' <i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i> .	39
7	Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique d' <i>E.alata</i> et <i>E.fragilis</i> .	40

Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques demeurent un des problèmes majeurs de santé publique. De nos jours, des médicaments anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS) et Non Stéroïdiens (AINS) sont employées dans le soulagement de l'inflammation. Les AIS ont une efficacité évidente dans le traitement des maladies inflammatoires, mais en raison de leur toxicité, ils ne peuvent être administrés à longue durée.

L'utilisation prolongée des AINS est également associée à des effets secondaires graves, notamment l'hémorragie gastro-intestinale. Il s'impose alors un besoin de développer de nouveaux agents anti-inflammatoires avec des effets secondaires minimum **(1, 2, 3)**.

Les plantes médicinales constituent aujourd'hui une alternative pour la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques. Dans ce cadre, *Ephedra alata* et *Ephedra fragilis* ont attiré notre attention. L'éphédra est utilisée depuis plus de 5000 ans en médecine traditionnelle chinoise pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, la fièvre, la grippe, les maux de tête, le rhume et la congestion nasale **(4, 5, 6)**. Des études pharmacologiques ont prouvé que l'éphédra possédait des effets antimicrobiens, antioxydants, antidiabétiques, hépatoprotecteurs et cardiovasculaires **(7, 8,9)**.

Dans l'Algérie *Ephedra alata* (*alenda*) est couramment utilisée dans la médecine traditionnelle pour traité certain types du cancer. Cependant, la littérature fournit très peu d'information sur la chimie et les activités biologiques d'*Ephedra*, et surtout *E.fragilis*.

La présente étude vise à contribuer à la valorisation de deux espèces, *Ephedra alata* et *Ephedra fragilis*, c'est pour ça les objectifs de ce travail sont :

- L'étude phytochimique des extraits d'*Ephedra.alata* et *Ephedra.fragilis*.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* de l'extrait méthanolique *Ephedra.alata* et *Ephedra.fragilis*.
- Evaluation de l'état de stress oxydant induit par l'inflammation.

I. 1. Inflammation

I.1.1. Généralités

L'inflammation a été définie par une réponse de l'organisme à une agression tissulaire, qui peut être d'origines diverses (infectieuse, tumorale, immunologique, chimique, physique...). Elle peut être au départ focalisée (brûlure, abcès ou nécrose ischémique) ou d'emblée systémique (infections virales, désordres immunologiques) **(10, 11, 12, 13)**.

Elle est caractérisée par la rougeur, l'œdème, la fièvre, la douleur et la perte de fonction **(14, 15)** et doit être rapide, dirigeable et spécifique afin d'éviter une suractivation des troubles inflammatoires, qui développent diverses maladies; le diabète, la thrombose, le cancer...**(16)**.

I.1.2. Récepteurs de l'immunité innée

Il a été connu que les signaux de danger stimulent les récepteurs de l'immunité innée, on parle des PRR (pattern-recognition receptors) **(12, 17)**. Les PRR se trouvent sous forme des récepteurs transmembranaires phagocytaires ou des protéines solubles impliquées dans l'opsonisation et l'activation du complément **(18)**. Ils ont été classés en 4 catégories : les TLR (Toll-like receptors), les NLR (NOD-like receptors) **(19)**, les RLRs (retinoic acid-inducible gene-1 (RIG-I)-like receptors) et les CLR (lectines de type C) **(12)**.

Il a été démontré que les TLR sont des récepteurs transmembranaires exprimés par les phagocytes **(18)**. Ils lient la reconnaissance des signaux de danger à l'activation de ces cellules pour amorcer une cascade de signalisation conduisant à l'activation des facteurs de transcription NF- κ B **(18, 20, 21)** qui aboutissent à l'expression des gènes pro-inflammatoires **(17, 18)**. Alors que les NLR sont cytosoliques, détectent les pathogènes qui entrent dans la cellule **(22, 18)**. Ce sont des récepteurs analogues à des domaines d'oligomérisation; Nod-like (Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein) **(18)**.

Des chercheurs ont démontré que les CLR sont représentées par des protéines liées aux cellules, assurent l'endocytose des microorganismes et la signalisation intracellulaire, et ainsi par des protéines solubles impliquées dans l'opsonisation **(23)**. De plus les récepteurs « RIG-I-like » activent les facteurs

de transcription NFκB (22), pour permettre la transcription des gènes des cytokines pro-inflammatoires et le recrutement de cellules inflammatoires (12).

I.1.3. Cellules de l'inflammation

I.1.3.1. Leucocytes

Beaucoup des références ont montré que les leucocytes jouent un rôle fondamental dans l'inflammation; après leur activation par les chimiokines, ils se recrutent dans le site d'inflammation par diapédèse(24). Ils regroupent les cellules suivantes:

Les polynucléaires neutrophiles (PN) ont été considérés comme la première ligne de défense. Ce sont des cellules tueuses et anti-infectieuses grâce à la capacité de dégranulation et aux propriétés phagocytaires (25, 26). Ils amplifient la réaction inflammatoire par sécrétion des chimiokines permettant de limiter l'intensité et la durée de cette réaction. D'abord, l'apoptose des PN stimule les macrophages pour libérer des signaux anti-inflammatoires (26).

Des études ont démontré que les macrophages amorcent la régulation de la réponse inflammatoire et présentent les antigènes aux cellules immunitaires (27, 28). Ces cellules sécrètent des médiateurs (cytokines) ou des molécules cytotoxiques telles que les ROS (reactive oxygen species) ou le NO (oxyde nitrique), c'est pour cela, elle a des rôles antimicrobiens, antiparasitaires (27, 29, 30). D'autres, ils ont un rôle anti-inflammatoire par la phagocytose des débris apoptotiques (30).

Il est connu que les lymphocytes B (LB) produisent des cytokines, présentent l'antigène aux lymphocytes T (LT) pour les activer et se différencient en plasmocytes produisant les anticorps (31). Les immunoglobulines M (IgM) sont des protecteurs contre l'inflammation. Elles sont produites par LB1 permettant l'élimination du pathogène (32, 33) alors que LB2 activent des (LT) pro-inflammatoires (sécrétrices des cytokines pro-inflammatoires) (33). De plus, il existe plusieurs populations des LT; cytotoxiques, auxiliaires (stimulent les cellules immunitaires) et régulateurs de type 1 qui produisent de l'interleukine 10 (IL-10); une cytokine anti-inflammatoire (31, 34).

Les lymphocytes NK (natural killer) ont été connus comme des cellules granulaires (35), cytotoxique (32). Cette cytotoxicité est méditée par l'explosion des lysosomes sécrétoire contenant le pérforines, pour détruire les cellules infectées et des chémokines pour interagir avec d'autres lignées cellulaires(35).

d. Éosinophiles

Les polynucléaires éosinophiles (PE) ont été connus par la sécrétion sous l'influence de stimulus de chimiokines, des médiateurs cytotoxiques (grâce à leurs granules) tels que les enzymes, les ROS et les médiateurs lipidiques pour altérer les pathogènes et amplifier la réponse inflammatoire (25,36).

e. Basophiles

Des études ont suggéré que le nombre de basophiles augmente en réponse à l'IL-3 pour favoriser les réponses immunitaires. Ils libèrent des médiateurs lors de l'activation et ont des fonctions pro- et anti-inflammatoires (37).

I.1.3.2.plaquettes.

La plaquette a été définie par la cellule anucléée du sang contenant des granules de sécrétion qui regroupent (38) des médiateurs inflammatoires, des ROS et des enzymes lytiques et des protéines antimicrobiennes. La production plaquettaire des TLR lui permet d'avoir une capacité à engager directement contre des pathogènes (39). Elle est spécialisée dans l'hémostase grâce à leurs propriétés d'adhérence et d'agrégation, assurant l'arrêt d'un saignement (38).

I.1.3.3. Les mastocytes

Il est connu que les mastocytes (MC) sont des cellules progénitrices (40). Elles libèrent par un processus de dégranulation des molécules pro-inflammatoires (l'histamine, les protéases, les protéoglycanes, les chimiokines, l'acide arachidonique, les facteurs de croissance et le TNF- α) (41, 42) pour atténuer l'inflammation, et participent dans les réactions allergiques. Elles recrutent des cellules immunitaires telles que les neutrophiles, grâce aux nombreux médiateurs inflammatoires (41, 43).

I.1.4.médiateurs chimiques de l'inflammation

Beaucoup des études ont montré que les médiateurs suivant sont impliqués dans l'inflammation:

I.1.4.1. Amines vaso-actives

Des études ont suggéré que les amines vasoactives (histamine et sérotonine) sont préformés et stockés dans les granules des mastocytes, des basophiles et des plaquettes et libérés par dégranulation (44).

I.1.4.2. Protéines plasmatiques

a. Kinines

Les kinines ont été connues que ce sont des peptides autacoïdes et des neuromédiateurs centraux impliqués dans l'inflammation et la douleur, leurs effets sont liés aux deux types de récepteurs, le récepteur B1 participe à la phase chronique et B2 participe à la phase aiguë de l'inflammation (45, 46). Les kininogènes sont des précurseurs inactifs des kinines, donne naissance sous l'effet des kallibréines à petits peptides vaso-active (kinines) qui augmentent la chaleur locale et la douleur (32).

b. Protéines du complément

Le système du complément a été célèbre par son rôle clé dans l'élimination des pathogènes la réparation tissulaire (47). Il se constitue d'un ensemble de protéines sériques. (48).

I.1.4.3. Métabolites de l'acide arachidonique

Après activation par des ions Ca^{2+} intracellulaires, la phospholipase A2 cytosolique entraîne la libération de l'acide arachidonique qui est métabolisé pour former des eicosanoïdes; médiateurs lipidiques, par 2 voies (44) :

a. Voie de la cyclo-oxygénase

Cette voie a été démontrée par plusieurs études qu'elle conduit à la formation des prostaglandines et des thromboxanes, par l'intermédiaire des COX-1 et COX-2 (cyclo-oxygénase 1 et 2) (44), par conséquent l'acide arachidonique subit une oxydation puis une réduction (26). Les thromboxanes ont été connus par leurs effets pro-inflammatoires en activant l'agrégation plaquettaire, et la production de TNF- α et d'IL-1 β par les monocytes (26).

D'autres études ont illustré les fonctions des prostaglandines dans plusieurs systèmes physiologiques, et jouent un rôle des médiateurs pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires selon la nature de la molécule, du récepteur activé, et l'état cellulaire (49). Les PGE2 et PGI2 (prostaglandine E2, et GI2), sont des vasodilatateurs, la PGE2 est également un inducteur puissant de la fièvre (44). La PGD2 (prostaglandine D2) est produite dans de nombreux organes et entre dans la perception de la douleur et dans l'inflammation(49).

b. La voie de la lipoxygénase

Il a été démontré que les lipoxygénases synthétisent des leucotriènes et des lipoxines qui inhibent l'inflammation et favorisent sa résolution et la réparation tissulaire (44).

I.1.4.3. Facteur d'agrégation plaquettaire (PAF)

Des études ont montré que les plaquettes, les basophiles les neutrophiles, les mastocytes, les macrophages et les cellules endothéliales produisent un médiateur lipidique le PAF qui active le recrutement des leucocytes, la vasodilatation, la vasoconstriction, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'activation plaquettaire (38,44).

I.1.4.4. Cytokines et chémokines

Il a été bien établi que les cytokines sont des signaux produits par des cellules effectrices comme la CTA (cellule présentatrice d'antigène) de manière inductible. Ce sont des médiateurs de communication intercellulaire (50, 51) comme, le TNF- α (facteur de nécrose tumorale- α), IL-1, IL-2, IL-6, IL-3, les CSF (colony stimulating factor) et d'autres (32,52). Ils activent l'endothélium et les leucocytes (44).

Les chimiokines ont été définies par des petits peptides apparentés aux cytokines, synthétisés par les cellules immunitaires en réponse à des inducteurs de l'inflammation. Ils recrutent les monocytes et les PN vers le site de l'infection, stimulent le développement des lymphocytes et l'angiogenèse (32, 44).

I.1.4.5. Radicaux libres dérivés de l'oxygène

Beaucoup d'études ont démontré que les leucocytes et surtout les neutrophiles au foyer de l'inflammation, libèrent des agents hautement bioactifs incluant les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'oxyde nitrique (NO)...(26, 44, 54, 56), afin d'optimiser leur capacité de la clairance du tissu lésé (21), détruisent les pathogènes, régulent l'inflammation (53, 55, 57) et impliquées dans des voies de signalisation pour cliver la pro-IL-1 β en IL-1 β et sa sécrétion.(58).

I.1.4.6. Facteur de transcription nucléaire kappa B

NF-kB contrôle l'expression des gènes impliqués dans la réponse inflammatoire. Il est activé par le stress oxydatif et les stimuli pro-inflammatoires (59).

I.1.5. Types d'inflammation

I.1.5.1. Inflammation aiguë

Il a été connu que l'inflammation aiguë est une réponse physiologique de l'hôte à une lésion pour éliminer l'agent pathogène et à restaurer l'homéostasie (12, 60, 61, 62).

En cas d'infection sévère, l'inflammation aiguë peut entraîner une activation de l'hématopoïèse, une augmentation de la sécrétion hépatique des protéines de phase aiguë qui nécessitent l'intervention du système nerveux central (61). Elle passe par les phases suivantes:

a. Phase vasculaire (Précoce)

Elle a été illustrée par une vasoconstriction de quelques secondes, entraînant une activation des plaquettes et permettant de colmater les brèches provoquées et de synthétiser le thromboxane A₂, impliquer dans l'agrégation plaquettaire et la vasoconstriction (32, 63). Ensuite il s'agit d'une vasodilatation, ces phénomènes résultent à une libération locale d'histamine, de sérotonine et de kinine par les mastocytes (18, 32, 44, 62) suite à l'activation des PRR et la voie NFκB (12).

Cette vasodilatation est responsable de l'augmentation du torrent circulatoire et donc à la rougeur et la chaleur, puis une augmentation de la perméabilité vasculaire (diapédèse) avec la fuite extravasculaire du plasma et des cellules, favorisent la formation d'un œdème interstitiel. D'autre la bradykinine et certaines prostaglandines participent à l'apparition de la douleur (32, 63, 64).

b. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Des études ont démontré qu'elle consiste à une migration des leucocytes vers les territoires lésés (64) pour éliminer les pathogènes et les tissus lésés (32) et que le TNF-α et l'IL-1 provoquent la migration des leucocytes et le flux du plasma vers le site infecté (18).

Les PN libèrent des protéases, des ROS et phagocytent les bactéries ...etc, puis ils sont remplacés par les monocytes (32, 63). Ils peuvent causer des ravages sur les tissus de l'hôte (18), ce qui entraîne la mort des PN par apoptose et leur élimination par les macrophages (32).

Les monocytes (macrophages) qui phagocytent les débris cellulaires et produisent des ROS et des cytokines (63). Ils sont attirés par les facteurs chimiotactique sécrétés par les neutrophiles (32).

c. Phase de réparation (résolution)

Il a été illustré que la suppression de la réponse inflammatoire prévient la progression d'une inflammation chronique (12). D'abord l'homéostasie consiste à la réparation de l'endothélium (32) qui résulte de la réduction ou l'arrêt de l'infiltration tissulaire par les PN et leur apoptose et la contre-régulation des chimiokines et des cytokines (12)

Des études ont établis que la résolution est un processus régulé par des médiateurs lipidiques (60) comme les lipoxines, qui ont un effet anti-inflammatoire; ils inhibent l'afflux des PN et élimine les cellules mortes et les débris tissulaires par les macrophages (18). Les macrophages produisent l'IL-10 et le TGF- β (tumor growth factor-beta) qui induisent la cicatrisation et de régénération tissulaire (21).

I.1.6. Inflammation chronique

Des études ont établi que, lorsque le déclencheur de l'inflammation n'est pas éliminé par la réponse inflammatoire aiguë, la phase de résolution n'est pas induite de manière appropriée et une inflammation chronique peut s'ensuivre (56, 65) dans ces cas, la réponse inflammatoire est localisée au site de l'inducteur inflammatoire. Le meilleur critère de chronicité de l'inflammation est une durée supérieure à 6 semaines (32, 56).

Il a été prouvé que l'inflammation chronique est impliquée dans l'apparition et le développement de plusieurs pathologies comme l'obésité, (59, 66) l'artériosclérose, les maladies neuro-dégénératives (67) le diabète le cancer ...etc (12). Elle est caractérisée par des niveaux élevés des cytokines pro-inflammatoires, et de protéines de la phase aiguë (56), l'augmentation du flux sanguin pendant la lésion tissulaire (68).

I.1.7. Inflammation induite par la carragénine

Il a été connu que la carragénine est un polysaccharide extrait des algues rouges marine (classe des Rhodophycées) (69, 70), construite par des galactanes liées en α -1,3 et β -1,4 pour former des polysaccharides sulfatés anioniques linéaires (71, 72). Selon la substitution du sulfate et la teneur en 3,6 anhydrogalactose, ils furent classés en ; kappa (κ), iota (ι) et lambda (λ) (Figure 1) (72,73).

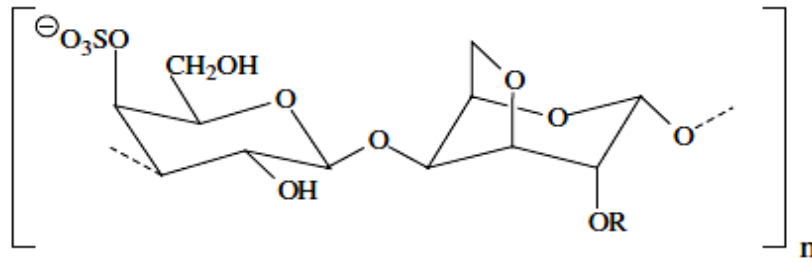


Figure 1: Structure de la carragénine R=SO₃⁻ pour ι- carragénine, R=H pour κ- carragénine (72)

Plusieurs études ont démontré que le carragénine est utilisée pour induire une inflammation biphasique (70), liée à l'activation des COX. L'œdème de la patte du rat provoquée par elle est un outil très sensible pour évaluer l'inflammation aiguë (74), car elle provoque des rougeurs, gonflement, chaleur et des douleurs dans la patte œdémateuse (75, 76) (le mécanisme d'action est développé dans la partie des discussions).

I.1.8. Biomarqueurs de l'inflammation

Le diagnostic d'une inflammation peut se fait par les paramètres suivants :

I.1.8.1. Hémogramme

Il fournit des valeurs des éléments figurés du sang, et d'autres variables supplémentaires (77), comme :

a. Leucocytes

Une hyperleucocytose a été remarqué lors de l'inflammation; surtout la production des PN (32).

a. Hématies

Il a été démontré qu'une hémolyse extrême des hématies qui résulte à une carence en érythropoïétine et en fer séquestré dans les macrophages provoque l'anémie après 3 à 4 semaines d'inflammation. Elle dépend de la sévérité de l'affection (32, 78).

b. Plaquettes

Une hyperplaquettose et des anomalies des plaquettes ont été rapportées (32).

I.1.8.2. Protéines de la phase aiguë

Des études ont prouvé qu'au niveau hépatique, les cytokines modifient l'expression des protéines de la phase aiguë, cette expression dépend de l'amplitude de réponse (79); leurs concentrations sanguines sont modifiées dans les heures ou les jours suivant le stimulus (figure 2) (64,80, 81).

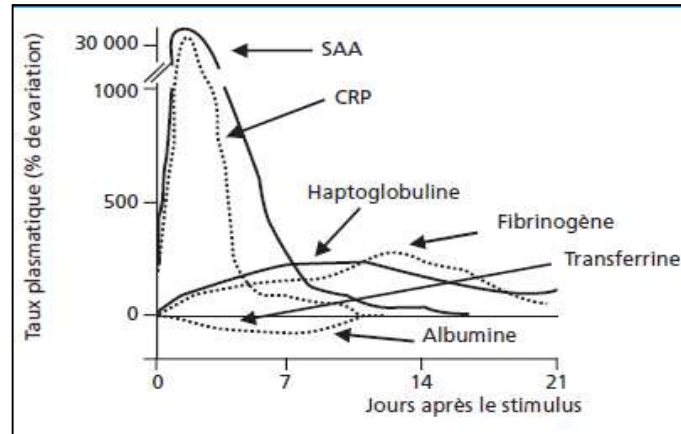


Figure 2 : Protéines de la phase aiguë (79).

Des références ont montré que la concentration de certaines protéines diminue, comme l'albumine, la transferrine et la transferrine (79), tandis que pour d'autres protéines leur concentration augmente tel que la protéine sérique Amyloïde A, l'haptoglobine, le fibrinogène et la protéine C réactive (CRP)... (64, 80, 82, 83).

I.1.9 Génération des espèces réactives de l'oxygène par le processus inflammatoire

I.9.1.1. Généralités sur le stress oxydant durant les processus inflammatoires

Plusieurs études ont confirmé que certaines pathologies sont associées au stress oxydant comme les maladies inflammatoires aiguës et chroniques (84, 85). Des troubles oxydatifs sont produits par les ROS et la suppression du système de défense antioxydant(75).

Il a été affirmé que la production des ROS et de leurs dérivés est physiologique. Lorsque cette production dépasse les capacités de défenses antioxydantes de l'organisme, elle correspond à un état dit le « stress oxydant » (84, 86).

La production des ROS par les leucocytes a été confirmée qu'elle provoque des dysfonctions endothéliales et une perte de la vasorégulation. Ces altérations sont augmentées par la production des cytokines et l'activation plaquettaire (87).

I.9.1.2. Radicaux libres

Il est bien établi que les radicaux libres sont des espèces chimiques contenant un ou plusieurs électrons libres, produits dans le métabolisme cellulaire normal ou pathologique (88).

Des études sur les ROS ont montré qu'ils sont formés dans les organismes vivants de différentes manières; la respiration aérobie normale (89,90), les cellules phagocytaires impliquées dans la réponse inflammatoire, et les peroxysomes (Tableau.2). (86, 88, 91) Ce sont des seconds messagers bien décrits dans divers processus cellulaires (90) et la source du stress oxydatif (92).

Tableau.2. Les principaux ROS, leur génération et leur destination dans un processus inflammatoire.

Dérivés réactifs de l'oxygène	
Anion superoxyde O₂^{•-}	-Généré à partir de l'O ₂ par les oxydases, peut être transformé en peroxyde d'hydrogène par le superoxyde dismutases (SOD) (87): $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \text{ (91).}$
Peroxyde d'hydrogène H₂O₂	-Formé par la dismutation de O ₂ ^{•-} , ainsi par l'action des oxydases. -Il est très diffusible à l'intérieur et entre les cellules. C'est un agent oxydant et réducteur faible (91), il réagit avec le Fe ²⁺ et Cu ⁺ (92), avec les protéines et les peroxydases pour initier la peroxydation lipidique (91).
Radical hydroxyle •OH	-Le radical le plus réactif et le plus dangereux, l'organisme humain n'a aucun mécanisme de défense contre lui, il provoque des modifications de l'ADN, dégradation protéique et peroxydation lipidique (91), et généré par la réaction: $Fe^{2+}/Cu^+ + H_2O_2 + H^+ \longrightarrow Fe^{3+}/Cu^{2+} + \bullet OH + H_2O \text{ (92).}$
Radicaux Peroxyde RO₂[•] alkoxyde RO[•]	-Formé pendant la décomposition des peroxydes organiques et les réactions carbonées radicalaires avec l'oxygène, comme lors de la peroxydation lipidique (104).

Acide hypochloreux HOCl	-Espèces non radicalaire, perméable aux membranes, permet d'oxyder un grand nombre de composés biologiques. -Produit par les phagocytes activés, il réagit avec $O_2^{\bullet -}$ pour former $\cdot OH$ $HOCl + O_2^{\bullet -} \longrightarrow \cdot OH + ^-OH + O_2 \quad (91)$
Radical oxyde nitrique $NO\cdot$	Il a un rôle important dans les pathogenèse inflammatoires (85), il agit dans différents processus comme la régulation immunitaire, de plus il est un puissant vasodilatateur (91). il réagit avec O_2 et $O_2^{\bullet -}$ (92).
Dioxyde d'azote $NO_2\cdot$	-Il provoque la peroxydation lipidique, et généré par la réaction : $2NO\cdot + O_2 \longrightarrow 2NO_2\cdot \quad (91)$.
Peroxonitrite $ONOO^-$	-Un composé non radicalaire mais très oxydatif (87), généré lors des lésions inflammatoires (85). Formé par la réaction: $O_2^{\bullet -} + NO\cdot \longrightarrow ONOO^- \quad (87)$ Il forme le $\cdot OH$ par la réaction: $ONOO^- + H^+ \longrightarrow \cdot OH + NO_2 \quad (91)$

I.1.9.3. Source des radicaux libres dans un état inflammatoire

Parmi les facteurs complexes impliqués dans le processus d'inflammation, il y a notamment les ROS qui se produisent au foyer inflammatoire et aboutissent aux dommages tissulaires (85,87). Ces radicaux libres servent de molécules de signalisation (90).

Il a été démontré que les leucocytes, principalement les macrophages activés (93), et les neutrophiles (44), dans le site de la lésion, libèrent des ROS et des cytokines afin d'éliminer les débris cellulaires et envahir les phagocytoses (26, 29, 56).

La production de ces ROS durant la phagocytose a été confirmée qu'elle est due à l'activation d'un complexe membranaire appelé NADPH oxydase (57, 94); une oxydoreductase des phagocytaires, catalyse la production des ROS par l'oxydation du NADPH selon la réaction suivante (56, 57, 58) :



De plus le NO synthase conduit à une production intense de NO qui, au contact de l'anion superoxyde, forme le peroxyde nitrite (87).

I.1.9.4. Cibles des ROS

a. Acide désoxyribonucléique

Plusieurs études ont affirmé que les ROS principalement $\cdot\text{OH}$ attaque le désoxyribose et les bases azotées provoquant la rupture de l'acide désoxyribonucléique (ADN) (91). La guanine réagit avec $\cdot\text{OH}$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) (90) qui en s'appariant avec la cytosine s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN (95).

b. Protéines

Il a été illustré que l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine sont les plus réactifs avec les ROS. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus (95), ainsi que l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes (90). Ces dommages peuvent entraîner des modifications fonctionnelles (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique) (95).

c. Lipides

Deux sites communs d'attaque des ROS sur les phospholipides ont été déterminés: la liaison insaturée entre deux atomes de carbone et la liaison ester entre le glycérol et l'acide gras (90). $\cdot\text{OH}$ a été connu par sa capacité d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons (91); Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un le $\text{ROO}\cdot$ qui arrache un H^+ à un des acides gras insaturé (AGPI) voisins, pour propager la réaction (95) provoquant une altération de la fluidité membranaire qui aboutit à la mort cellulaire (90).

Les peroxydes générés continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) (95), le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux de la peroxydation des AGPI dans les phospholipides. Il est responsable des lésions des membranes cellulaires (90).

I.1.9.5. Systèmes antioxydants

Les antioxydants sont des composés capables de retarder, inhiber ou empêcher l'oxydation des autres substances chimiques en piégeant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (Figure8) (86, 90, 96).

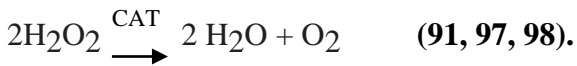
a. Systèmes antioxydants Enzymatiques

Il a été bien établi que les principales enzymes antioxydants sont:

La superoxyde dismutase (SOD) qui assure la première ligne de défense contre le stress oxydant, élimine le $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation (95).



La catalase (CAT), contenue principalement dans les peroxysomes (91), catalyse la réaction suivante:



La Glutathion peroxydases (GPx) est la seule séléno-enzyme dans les cellules des mammifères, synthétisée par les reins et le foie, et catalyse la réduction des peroxydes organiques et inorganiques (95, 91, 99) en utilisant le glutathion réduit (GSH), (99, 100) par la réaction :



b. Systèmes anti-oxydants non enzymatique

Le GSH (acide glutamique-cystéine-glycine) est l'antioxydant cellulaire le plus effectif (91, 101), il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) dans des conditions physiologiques. Le rapport GSH/GSSG est un marqueur de la peroxydation lipidique (95). GSH a été connu comme un chélateur des métaux de transition, régénérateur des vitamines E et C (95). Il réagit avec $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, H_2O_2 (90).

D'autre, la vitamine C était célèbre qu'un excellent piègeur des ROS. Elle inhibe la peroxydation lipidique par régénération de la vitamine E (95) et agit efficacement sur $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $ClO^{\bullet-}$, $\bullet OH$ et $\bullet OOH$ (91).

Les caroténoïdes étaient collectifs par leurs propriétés antioxydants qui sont associées à sa capacité à capturer des radicaux libres. Ce sont des pigments liposolubles, synthétisés par les plantes (91).

Plusieurs travaux ont témoigné l'effet antioxydant des polyphénols, ce sont des excellents piègeurs des ROS et des chélateurs des métaux de transition (95).

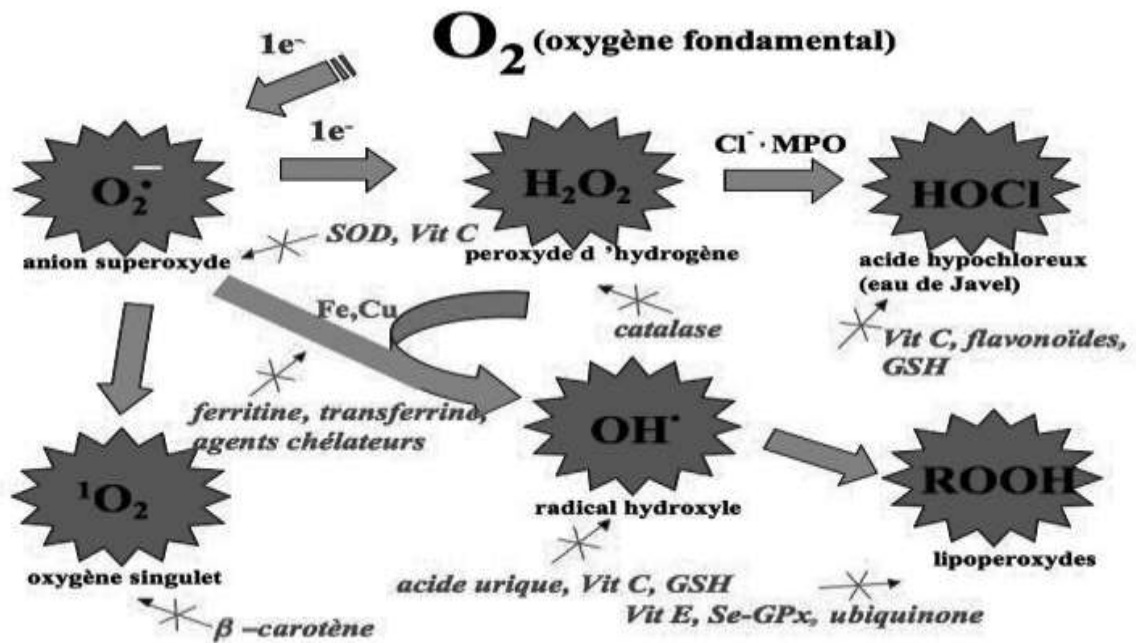


Figure 5 : différentes ROS et les antioxydants régulateurs de leur production (95).

I.1.10. Anti-inflammatoires

I.1.10.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

a. Généralités

Il est bien connu que les corticostéroïdes naturels synthétisés par les surrénales ont une activité glucocorticoïde, comme le cortisol (102), et autre minéralocorticoïde comme l'aldostérone (103).

Des études ont déterminé la synthèse des glucocorticoïdes qui se fait sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien adrénérique (104) et son rôle dans des nombreuses fonctions physiologiques (105) (figure 3). D'abord ce sont des hormones stéroïdiennes, agonistes des récepteurs appelés GR (récepteur des glucocorticoïdes). Ils sont utilisés en thérapeutique pour leurs propriétés anti-inflammatoires. D'autres propriétés sont responsables de leurs effets indésirables (102, 104).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ont constitué une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (104), leur durée d'action est plus longue, leur activité anti-inflammatoire plus importante et leur activité minéralocorticoïde plus faible que celles de la molécule mère (cortisol) (103, 104).

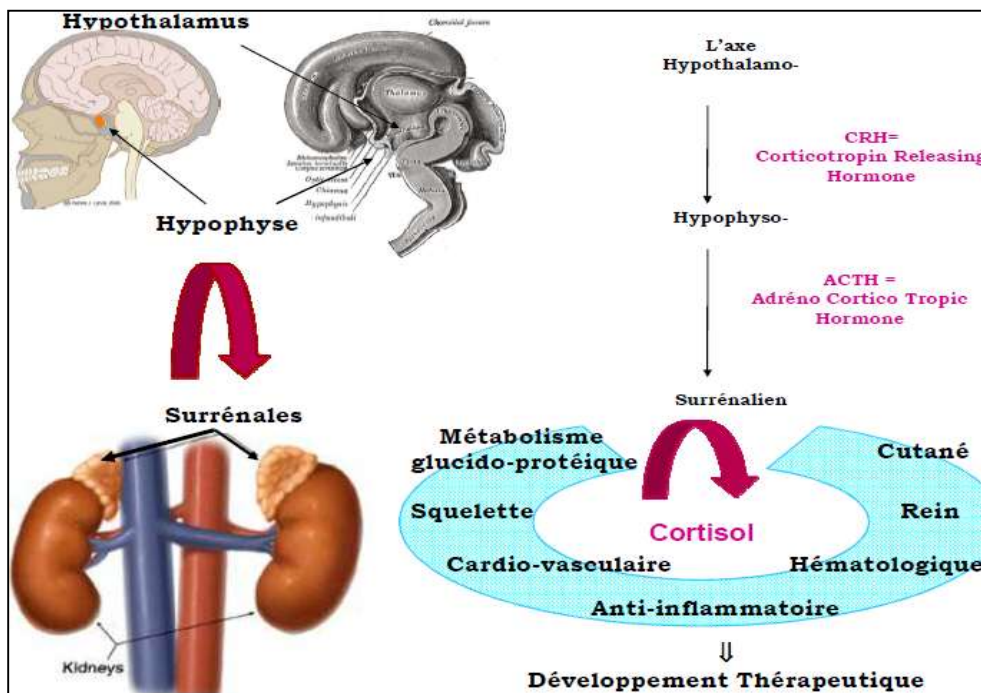


Figure 3: synthèse et effet des glucocorticoïdes (103).

b. Mécanismes d'action

Des études ont démontré que principal mécanisme d'action des glucocorticoïdes repose sur leur liaison avec GR; une protéine pouvant agir comme facteur de transcription ligand-dépendant (105).

Beaucoup d'études ont suggéré que les glucocorticoïdes traversent la membrane et se fixe au GR cytoplasmique (106) et l'activent. Cette étape est suivie d'une translocation du complexe glucocorticoïde-GR vers le noyau.

Le GR se fixe à l'ADN et active la transcription des gènes cibles (105), Il active la synthèse de protéines anti-inflammatoires comme la lipocortine 1 (inhibiteur des phospholipases A2), IL-10 et la protéine IκB. D'autre GR réprime l'activité d'un nombre important de gènes des cytokines pro-inflammatoire (104, 106).

L'action anti-inflammatoire des glucocorticoïdes se manifeste également par une interaction avec d'autres facteurs de transcription (102). L'association avec le facteur de transcription NF-κB inhibe la synthèse de la COX-2, essentielle pour la production des prostaglandines (104).

c. Effets secondaires

Il a été démontré qu'ils apparaissent après une utilisation prolongée des corticoïdes et à des doses élevées (Tableau.1) (103).

Tableau.1. Effets indésirables des AIS (103, 104).

Hypercorticisme iatrogène	Accidents de « sevrage »	Accidents digestifs
Obésité facio-tronculaire, Diabète, hypokaliémie, Hypertension artérielle, Ostéoporose, Retard de croissance, Inhibition de l'axe hypothalamohy- pophysaire...	hypocortisolisme endogène à l'arrêt brutal : Insuffisance surrénale aiguë, Reprise évolutive de l'affection initiale...	Ulcères (gastro-duodéal, ou du colon, œsophage, intestin grêle, du rectum), Pancréatites aiguës/ chroniques

I.1.10.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

a. Généralités

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été définis comme un groupe des médicaments qui permettent de réduire ou de supprimer les conséquences de la réaction inflammatoire (102, 107, 108).

Ils agissent en inhibant COX (109), ces molécules sont malheureusement à l'origine des effets indésirables graves et de nombreux AINS ont été retirés du marché ou à cause de leur toxicité (107).

b. Mode d'action et effets indésirables

Le mécanisme d'action a été suggéré qu'il repose sur l'inhibition compétitive, de la COX (Figure 4). La COX-1 est exprimée dans la plupart des tissus sous l'influence de stimuli physiologiques et synthétise différentes prostaglandines ayant un rôle protecteur sur la muqueuse gastrique et sur l'agrégation plaquettaire. La COX-2 soit exprimée de façon constitutionnelle dans certains organes (reins, cerveau), elle est essentiellement inductible par les cytokines pro-inflammatoires (102, 108, 109).

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines a plusieurs effets indésirables comme le risque de saignement gastro-intestinal et des effets sur la fonction rénale. Entre autres, la synthèse d'une molécule inhibant sélectivement la COX-2 « les coxibs », permet d'inhiber l'action protectrice des prostaglandines de la muqueuse gastrique. Cependant, la mise en évidence d'une augmentation des événements cardiovasculaires liée à leur utilisation a conduit au retrait du marché de quelques molécules (107, 108, 109).

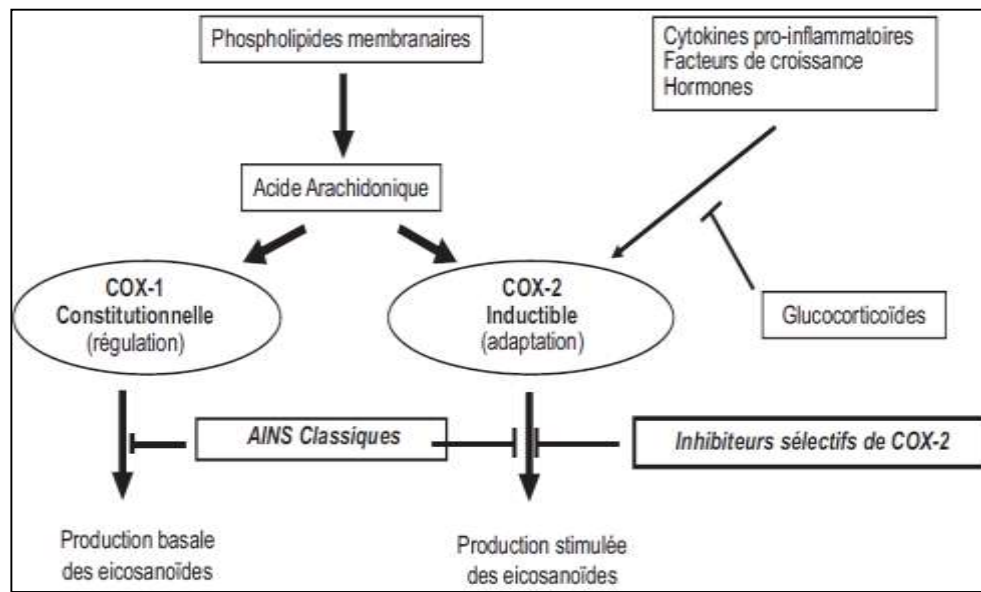


Figure 4: Mécanisme d'action et effets des AINS (109).

I.1.10.3 Plantes médicinales anti-inflammatoire

De nos jours, les drogues anti-inflammatoires sont employées dans le soulagement de l'inflammation (110), Certaines plantes ont été découvertes comme des inhibitrice du COX-1 (111), d'autres ont des capacités antioxydantes car elles contiennent des polyphénoliques, des terpénoïdes, et des vitamines...

Différents travaux ont montré que ces antioxydants naturels possèdent des propriétés anti-inflammatoires, anti-athéroscléroses, antimutagènes,... (112, 113)

Il a été établi que les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires par leur activité antioxydante, l'inhibition des enzymes générant des eicosanoïdes ou la modulation de la production de molécules pro-inflammatoires. Ils sont des modulateurs de l'expression génique pro-inflammatoire, permettant de réduire l'inflammation (114).

I.2. Plantes médicinales

I.2.1. Généralités

La phytothérapie est la plus ancienne forme de médecine connue de l'humanité (115). Selon l'OMS (Organisation mondiale de la Santé), environ 70 à 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour guérir différentes maladies en raison de leurs effets secondaires mineurs (116, 117, 118). Ils ne sont pas seulement limités aux pays en développement (116). Dans la classification médicale moderne, une plante est qualifiée "médicinale" lorsqu'elle présente plusieurs composés pharmacologiquement actifs (119).

Les plantes médicinales sont capables de fournir des métabolites secondaires, ayant des différentes activités biologiques (120). Ils constituent les principales sources des médicaments (121, 122, 123, 124) et malgré les efforts des chimistes qui assurent la synthèse de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (116, 125).

I.2.2. Métabolites secondaires

Il a été bien établi que les métabolites secondaires sont des composés organiques dérivés des principaux métabolites des plantes qui jouent des fonctions spécialisées dans les organismes vivants « composés biologiquement actifs ». Ils ont été reconnus par leur valeur la plus élevée que les métabolites primaires (119). Ils ont été divisés en ces classes suivantes:

I.2.2.1. Polyphénols

Il a été affirmé que les polyphénols qui constituent une famille de molécules caractérisées par la présence de plusieurs groupements phénols, ont un pouvoir antioxydant élevé (126, 127, 128) par conséquent ils permettent la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neuro-dégénératives (129, 130) de nombreuses autres activités biologiques, telles que les activités anti-histaminiques, anti-inflammatoires, antibactériennes et antivirales (105) anti-thrombotiques(131). Son rôle dans les plantes est connu par la défense contre les UV, la pigmentation, et la résistance aux maladies (126). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides polyphénols, à des composés hautement polymérisés, comme les tanins (126). Dans la classification moderne, la

grande catégorie des composés phénoliques est divisée en plusieurs groupes, selon le nombre de sous-unités de phénol présentes (119).

a. Flavonoïdes

Il est connu que les flavonoïdes représentent le plus vaste groupe des polyphénols, ils ont été regroupés en 6 classes (Tableau.3), en fonction de l'état d'oxydation du noyau hétérocyclique (131).

Il a été rapporté que les flavonoïdes permettent la prévention contre les cardiopathies congénitales, le cancer, les maladies neuro-dégénératives, les troubles gastro-intestinaux et autres. Ces effets semblent être liés aux diverses activités biologiques ou pharmacologiques des flavonoïdes (95).

Il a été démontré que les flavonoïdes peuvent affecter diverses fonctions biologiques: la perméabilité capillaire, les processus de la secrétaire cellulaire impliqués dans la réponse inflammatoire, etc. Ils stimulent l'activité des globules blancs et les défenses de l'organisme contre les infections bactériennes et virales (132). De plus, ce sont des antioxydants puissants (109).

Tableau 3 : Classification et sources des flavonoïdes (105, 109, 126, 131).

Classe	Sources
Flavonols	Oignons, le thé...
Flavones	Persil, céleri, agrumes, plantes aromatiques...
Flavanones	the vert...
Isoflavones	plantes légumineuses, le soja...
Anthocyanes	fruits, des légumes...
Flavanols	Pomme, cerise, thé, cacao...

b. Acides phénoliques

Ils ont été divisés en deux classes ; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Tableau.4) (126).

Tableau 4 : Classifications et sources des acides phénoliques (105, 109, 126).

Acides phénoliques	Exemples	Sources
Acides hydroxybenzoïques	l'acide gallique	Thé
	l'acide protocatéchique	framboise, l'huile d'olive
Acides hydroxycinnamiques	l'acide caféique	café
	l'acide férulique	grains de céréales

c. Stilbenes

Le principal représentant est le resvératrol qui a été détecté dans plus de 70 espèces végétales y compris les raisins, les baies et les arachides. Des données détaillées fournissent des preuves d'effets anti-cancérogènes du resvératrol, anti-oxydantes et anti-inflammatoires. (133),

d. Lignans

L'intérêt pour les lignanes et leurs dérivés synthétiques augmente en raison des applications potentielles dans la chimiothérapie anticancéreuse et de divers autres effets pharmacologiques (133).

e. Tanins

Ils sont présents sous la forme de tanins hydrolysables et de tanins condensés (parmi lesquels les proanthocyanidines). Ils ont des effets astringents et sont souvent utilisés dans les préparations topiques afin de réduire les lésions cutanées (134).

I.2.2.2. Alcaloïdes

De nombreux travaux ont montré que les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques azotés et basiques, des preuves ont distingué 3 types des alcaloïdes (119, 135).

a. Classification

Les alcaloïdes vrais ont dérivent des acides aminés, comportant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils ont une grande activité biologique, même à faibles doses, d'autre les proto-alcaloïdes sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi des acides aminés, le troisième type est les pseudo-alcaloïdes qui ne sont pas dérivés d'acides aminés (135).

b. Effet des alcaloïdes

Malgré qu'ils aient été considérés comme des molécules toxiques, ils ont des effets anti-cancéreux, antalgique et anti-inflammatoire (119, 135,136). Ils interviennent dans les mécanismes de défense des plantes contre les herbivores. La solanine, la caféine, chaconine, l'aconitine sont des alcaloïdes présents dans les graines, les feuilles et les fruits de différentes plantes (135).

I.2.2.3. Terpènes

Il a été montré que les combinaisons des unités d'isoprène (combinaisons de base à 5 atomes de carbone (C₅)) produisent des classes des terpènes structurellement et fonctionnellement différentes (119).

a. Classification

Les terpènes ont été connus sous forme de monoterpènes (C₁₀), de diterpènes (C₂₀), de triterpènes (C₃₀), de tétrapentènes (C₄₀), mais également d'hémiterpènes (C₅) et de sesquiterpènes (C₁₅) (119).

b. Effets des terpènes

Ils ont été bien connus par leurs activités biologiques comme les propriétés antimicrobiennes anticancéreuses, des propriétés défensives, la résistance aux maladies causées par les champignons, de plus les stéroïdiens sont toxiques pour de nombreux animaux, mais ils sont utilisés avec des doses soigneusement régulées pour ralentir et renforcer le rythme cardiaque (119,137).

I.2.3. Plantes médicinales de genre *Ephedra*

I.2.3.1. Généralités

L'éphédra a été connue comme une plante médicinale de la famille des Ephedraceae (138), c'est le seul genre de cette famille. Il comprend plus de 50 espèces (139) parmi ceux-ci, *Ephedra fragilis* et *Ephedra Alata* (138,140). Le genre éphédra est caractérisé par des graines non florifères appartenant aux Gnetales, qu'il est le parent vivant le plus proche des angiospermes (132,141, 142).

I.3.3.2. Distribution

Les espèces de ce genre ont été retrouvées dans les zones tempérées et subtropicales d'Europe, d'Asie, d'Amérique, et se propage aussi dans le nord et l'ouest de la Chine, le nord de l'Inde et l'Espagne (115). De plus il est distribué dans les régions tempérées de l'Eurasie, de l'Afrique du Nord, de l'Amérique du Nord et du Sud-Ouest (139,143).

Ces arbustes sont abondants sur les terrains secs, sablonneux tels que les déserts, les pentes rocheuses ou dans les zones arides, les prairies et les zones maritimes avec un climat méditerranéen (139,143).

I.3.3.3. Description

Des études ont confirmé que la plupart de ces espèces sont des arbustes, des grimpeurs ou de petits arbres à feuilles persistantes qui ressemblent à des aiguilles qui sont opposées ou en verticilles de 3. Ils possèdent des écailles évanescentes pouvant dépasser 1 m de hauteur, avec des tiges photosynthétiques fines et jointes (140, 144, 145). La plante d'Ephedra est fortement aromatique, avec un goût amer. La tige séchée est la partie de l'arbuste qui est utilisée (143).

I.3.3.4. Phétochimie de la plante

La composition phytochimique de diverses espèces d'Ephedra n'est pas complètement élucidée, leurs métabolites secondaires comprennent les polyphénols, les huiles essentielles (146), les saponines (143), les alcaloïdes dont l'éphédrine, la pseudoéphédrine, la noréphédrine, la norpseudoéphédrine, la méthyléphédrine et la méthylpseudoéphédrine (115, 132) qui ont des effets sur le système nerveux central, cardiovasculaire, et des effets anti-inflammatoires (136, 144, 146,147, 148).

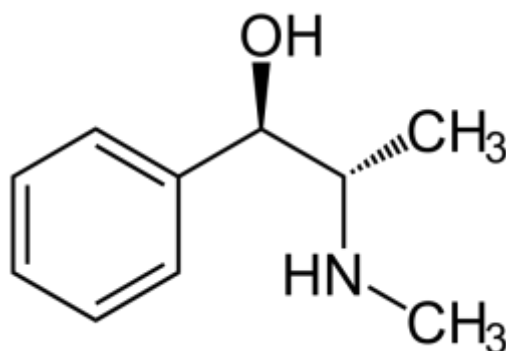


Figure 6: structure d'éphédrine (115).

I.3.3.5. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles

Ephédra était célèbre pour son histoire d'utilisation qui remonte au moins à 2700 av. J-C. Le plus ancien médicament produit à partir de certaines espèces d'éphédra était le ma-huang chinois qui est utilisé pour traiter l'asthme, la toux et la bronchite, l'allergie, le rhume, la fièvre, la grippe, les maux de tête, etc. (132, 139,149).

La plante était aussi utilisée en Russie pour traiter les troubles respiratoires et les rhumatismes pendant de nombreux siècles, de plus les Amérindiens utilisaient l'éphédra à diverses fins médicinales, en particulier les maladies vénériennes (115).

Des études pharmacologiques ont prouvé que l'éphédra possédait des effets antimicrobiens, antioxydants, antidiabétiques, hépatoprotecteurs et cardiovasculaires et des effets anti-inflammatoire (115, 142, 147), de plus elle est utilisée pour les maladies des voies respiratoires (143).

I.3.3.6. Toxicité et les contre-indications

Plusieurs études ont démontré que l'éphédra provoque des effets indésirables qui augmentent par la mauvaise utilisation et les doses toxiques (115). Ils dépendent principalement à l'alcaloïde de types éphédrine (146). Parmi ceci, les tremblements, les céphalées, les accidents vasculaires cérébraux, l'infarctus du myocarde, la douleur thoracique, l'insomnie, les vomissements, la fatigue et les vertiges, la cyanose, l'irritabilité, la nervosité, la tachycardie, etc. De plus l'éphédra ne doit pas être utilisé chez les patients atteints de certaines maladies telles que la thrombose coronarienne, les maladies cardiaques, l'hypertension, les maladies thyroïdiennes, etc (115, 148).

I.3.3.7. Classification taxonomique

Tableau 5: Classification systématique d'*E. alata* / *Ephedrafragilis* (148).

<i>Royaume</i>	<i>Plantae</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Tracheophyta</i>
<i>Division</i>	<i>Gnetophyta</i>
<i>Classe</i>	<i>Gnetopsida</i>
<i>Ordre</i>	<i>Ephédrales</i>
<i>Famille</i>	<i>Ephédraceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Ephedra</i>
<i>Espèces</i>	<i>Ephedraalata</i> / <i>Ephedrafragilis</i> .

I.3.3.8. *Ephedra alata*

a. Description

Ephedra alata (figure 10) (le nom arabe est Alanda) (150) est connu comme un arbuste vivace, rigide, jaune-vert, densément ramifié, 40-100 cm de haut et souvent plus large que haut (139, 151). Cette espèce saharienne endémique présente un système de racines latérales puissant qui peut s'étendre sur plusieurs dizaines de mètres. Elle est réputée pour sa grande tolérance à la déficience hydrique (149). Il était bien établi qu'elle est une espèce dioïque et la plante pionnière la plus importante des dunes mobiles et semi-stables dans les déserts (140).

Plusieurs études ont montré que *E. alata* fleurit à la fin de l'hiver et au printemps tandis que les graines commencent à mûrir de la mi-mai au début d'août en germant mieux au printemps (140).



Figure 10: *Ephedra alata* (150).

b. Distribution

E. alata est distribué en Afrique du Nord (Algérie, Égypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali) et en Asie (Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie et Syrie), dans des climats secs (115, 149, 151).

I.3.3.9. *Ephedra fragilis*

a. Descriptions

Des références ont affirmé que l'*Ephedra fragilis* (figure 11) (Gnetopsida, thé Mormon, Ma Huang) est d'origine asiatique et qu'elle possède plusieurs effets médicaux (147). L'*E. fragilis* est un arbuste à feuilles persistantes dioïques de 4 mètres de hauteur. Ses fruits arrachés disponibles de juin à septembre ont des arilles rouges ou jaunes et portent une seule graine (153).



Figure 11 : *Ephedra fragilis* (154)

b) Distribution

L'*E. fragilis* est présent dans les régions méditerranéennes et la région macaronésienne; sur des plages, des champs, des falaises ou dans des endroits secs sur des substrats calcaires ou gypseux (155).

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de la pédagogie, faculté des sciences de nature et de la vie de l'université de Jijel. Il base sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro et in vivo de 2 plantes algérienne; *Ephedra alata* et *Ephedra fragilis*.

II.1. Matériel végétal

L'étude est effectuée sur la partie aérienne (tiges et feuilles) d'*E. alata* et d'*E. fragilis*, la première est achetée de chez l'herboriste qu'il avait ramenée de la wilaya de kenchela et la deuxième est récolté de la région de Tassoust de la wilaya de Jijel. La reconnaissance botanique des plantes est faite par Mme Khanouf Hannane à l'université de Mohammed Esseddik Ben Yahya, Jijel.

II.2. Matériel animal

Pendant notre étude expérimentale in vivo (fin de juin 2018), on a utilisé 10 souris mâles *Swiss Albinos* ayant un poids variant entre 30 et 38 g, qui proviennent de l'institut pasteur d'Alger.

Les souris sont mises en quarantaine pendant 10 jours. Ils sont placés dans des cages métalliques et en plastiques avec un accès libre d'eau et de nourriture standard (Croquette), au sein de l'animalerie de science de la nature et de la vie de l'université de Jijel, à une température et humidité ambiantes et un cycle naturel de lumière et d'obscurité.

II.3. Etude phytochimique d'*E. alata* et *E. fragilis*

II.3.1. Préparation des extraits bruts méthanoliques

Les parties aériennes des plantes sont séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 15 jours puis elles sont broyées par un broyeur électrique du café pour obtenir une poudre fine utilisée pour l'extraction.

L'extrait méthanolique de chaque plante est réalisé selon la méthode de Nack et Shahidi (2006). Pour cela 30 g de poudre est macéré dans 300 ml de méthanol 80%, le mélange est soumis à une agitation continue pendant 72 heures sur un agitateur magnétique. Le macérât obtenu est filtré par le papier Whatman puis évaporé à 45 °C par un rotavapeur de type BUCHI R-300 (158).

Le rendement des 2 extraits méthanolique est calculé par le rapport entre le poids de l'extrait brut obtenu et le poids de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \text{Pe} / \text{Ps} \times 100.$$

Pe : Poids de l'extrait brut en gramme (g).

Ps : poids de la matière végétale sèche en gramme (g).

II.3.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des 2 plantes est réalisé selon le protocole de Djeridane *et al* (2006) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (couleur jaune) (159). Le principe repose sur le transfert des électrons en milieu alcalin à partir de composés phénoliques (oxydation des phénols) vers des complexes d'acide phosphomolybdique/ phosphotungstique, qui deviennent bleu, cette coloration possède une absorption maximum 765 nm (160).

Pour cela 0,2 ml de chaque extrait de concentration 250 ug /ml est ajouté à 1,5 ml du réactif de folin Ciocalteu dilué à 1/10. Le mélange est incubé 5 minutes à l'obscurité à température ambiante. Ensuite 1,5 ml de la solution Na₂CO₃ (7,5%) est ajoutés. La densité optique est lue à 760 nm par un spectrophotomètre de type (Specord 50 plus) après incubation à l'obscurité à température ambiante pendant 1,5 h.

La teneur en composés phénoliques dans les extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique à différents concentration (annexe 1). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g) (159). Tous les dosages sont réalisés trois fois.

II.3.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux est réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium AlCl₃ citée par Djeridane *et al* (2006) (159). Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme un complexe jaune stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols, Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (161).

Brièvement, 1.5 ml de l'extrait de 2 mg/ml est ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2%). Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée par le spectrophotomètre à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes des extraits est évaluée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine à différents concentration comme standard (annexe 2).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g). Tous les dosages sont réalisés 3 fois.

II.3.4. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols des extraits bruts a été déterminée en suivant la méthode d'Abdel-Hameed (2009) (162). Le dosage est basé sur la chélation des ions Al^{3+} (163).

Pour le dosage, 1 ml de l'extrait (2mg/ml) a été mélangé avec le même volume d' $AlCl_3$ (2%) et 3 ml d'acétate de sodium (CH_3CO_2Na) (5%). La lecture de la densité optique est lue à 440 nm après incubation pendant 30 min à température ambiante à l'obscurité.

Les résultats sont déduits à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine faite en même condition (annexe 3) et sont exprimés en mg d'équivalent en quercétine par g de matière sèche extraite. Tous les dosages sont réalisés en triplicata (162).

II.3.5. Dosage des tanins hydrolysables

Le dosage des tanins hydrolysables est réalisé en suivant la méthode Mole et Waterman décrite en 1987 (164). Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent une Coloration bleue mesurée par spectrophotométrie (165).

Pour cela, 1 ml des extraits de concentration 1mg/ ml est mélangé avec 3.5 ml du $FeCl_3$ (0.01%) dans HCl (0.001M), après Homogénéisation et incubation pendant 10 mn, les absorbances est mesurées à 660 nm. La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique en même conditions. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique par g de matière sèche (mg EAT/g Ms), en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide tannique (Annexe 4) (164).

II.4. évaluation de l'activité anti-inflammatoire et anti-oxydante *in vitro*

II.4.1. Test de stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test se base sur l'effet des extraits de la plante étudiée sur la stabilisation des érythrocytes en ce référent à une solution standard, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de kar *et al* (2012) (166) et Rani *et al* (167).

Le modèle érythrocytaire facile à isoler du sang et sa membrane à similitudes avec d'autres membranes cellulaire (168). Lors les globules rouges sont exposés à des substances nuisibles telles que le milieu hypotonique alors la rupture de sa membrane se produira, provoquant la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant.

Étant donné que les membranes des globules rouges sont similaires aux composants de la membrane lysosomale. L'effet hémolytique de la solution hypotonique est lié à une accumulation excessive de liquide dans la cellule (169, 170).

II.4.1.1. Préparation de la suspension des globules rouges

Le sang collecté (2 ml) à partir des rats mals de type wistar est mélangé avec un volume égal de la solution Alsevers (glucose à 2%, citrate de sodium à 0,8%, l'acide citrique à 0,5% et NaCl à 0,42% dans l'eau distillée) et centrifugé à 3 000 trs/minutes pendant 10 min. Les cellules emballées (culot) est lavées avec de l'eau physiologie 3 fois. Le volume de globules rouges est mesuré afin de préparer une suspension de 5 % (v/v) de globules rouges, avec de l'eau physiologique et concervé à 4°C (166).

II.4.1.2. Hémolyse induite par la chaleur

Les différentes concentrations des l'extraits d'*E. alata* et d'*E.fragilis* et de l'acide salisylique (Aspegic ®) ont été préparées (5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25 µg /ml) dans une solution saline normale (l'eau physiologie). l'acide salisylique est utilisé comme standard et l'eau physiologique est utilisée comme contrôle négatif. Ces souldions sont mélangées séparément avec 1 ml de tampon phosphate iso-salin (10mM, 154 mM NaCl, pH= 7,4), 2 ml de hypo-saline (0.42 %) et 0,5 ml de la suspension des globules rouges à 5 %. Tout les mélanges d'essai est chauffés à 56 ° C pendant 30 min puis centrifugés à 2 500 trs / min pendant 10 min. Les surnageant sont récupérés et la lecture de l'absorbance est fait par le spectrophotomètre à 560 nm. Le pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges ou de l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges a été calculé en utilisant la formule suivante (166):

$$\text{Le pourcentage de stabilisation (\%)} = \frac{A \text{ controle} - A \text{ test}}{A \text{ controle}(-)} \times 100$$

II.4.3. Etude de l'activité anti-radicalaire

Les leucocytes, sur le site de l'inflammation, libèrent des agents hautement bioactifs incluant les radicaux libres oxygénés (56). L'effet anti-radicalaire des extraits est déterminé par la méthode de réduction du radical libre du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) en suivant le protocole de Bougandoura *et al* (173) avec quelques modifications. D'abord le DPPH° montre la capacité du composé d'essai à agir comme un piègeur de radicaux libres. le DPPH° est un radical libre et produit une forte absorption à 515nm, sa couleur passe du violet au jaune lorsque l'électron impair du DPPH°

est couplé avec un hydrogène à partir d'un antioxydant des radicaux libres pour former le DPPH-H réduit (173, 174).

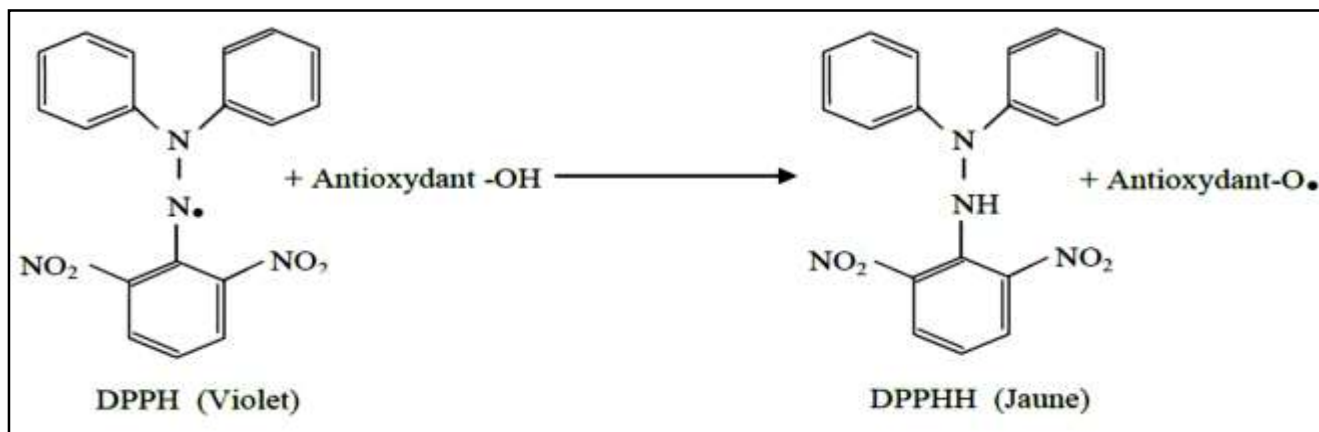


Figure 13: Réduction du DPPH° par un antioxydant (175).

Pour réaliser ce test, 50 μ l de chaque extrait à différentes concentrations (78.12 - 5000 μ g/ml) sont ajoutés à 1.95 ml d'une solution éthanolique du DPPH° (0,025g/l). Après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 515 nm. Le mélange contenant 50 μ l d'éthanol pur et 1.95 ml de DPPH° est considéré comme contrôle négatif. Le même test est effectué sur la vitamine C en utilisant plusieurs concentrations. Le test est répété 3 fois. L'activité anti-radicalaire des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH° et calculée par la formule suivante (173):

$$\text{pourcentage d'inhibition du DPPH}^\circ \text{ I\%} = \frac{A \text{ controle} - A \text{ test}}{A \text{ controle}(-)} \times 100$$

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

II.5.1. Traitement des animaux

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts des plantes *E.fragilis* et *E.alata*, on suit un modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris induite par la carragénine à 1 % décrit par Winter *et al* en 1962 et utilisé par Ndiaye *et al* (2006) qui est adopté l'acide acétyl-salicylique comme standard (176).

Pour cela les souris sont répartis en 5 lots de 2, ils ont mis à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation. Le volume initial (V_0) de la patte arrière droite de chaque souris est mesuré par le pied à coulisse digital (figure 13). Ensuite, les souris sont gavées (figure 14) comme suit :

Lot 1 : reçoit 1ml de l'eau physiologique (contrôle négatif),

Lot 2 : reçoit 1 ml de l'eau physiologie (contrôle positif; qui est injecté par la carragénine et n'est pas traité),

Lot 3 : reçoit 1ml de l'acide acétyl-salicylique (Aspegic ®) à la dose de 150 mg/kg (standard),

Lot 4 : reçoit 1ml de l'extrait d'*E.fragilis* de dose 300 mg/kg,

Lot 5 : reçoit 1ml de l'extrait d'*E.alata* de dose 300 mg/kg,

Après 60 min du gavage, 100 ul de la solution de carragénine à 1% sont injectés par injection sous cutanée sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite de chaque souris des lots 2, 3, 4 et 5 (figure 14) (13, 176).



Figure 13 : Mesure du volume initial de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.



(a)

(b)

Figure 14: Administration orale des extraits (a), Injection de la carragénine sous le coussinet plantaire (b)

II.5.2. Mesure du volume de l'œdème induite par la carragénine

L'évolution de l'œdème causé par l'agent phalogène est mesurée pendant 4h après l'injection par le pied à coulisse digital à différent moment (30, 60, 90,120 puis après 240 min) ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire et de comparer l'effet anti-inflammatoire des extraits en comparant avec le médicament.

L'importance de l'œdème est appréciée par la détermination du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) de la souris selon la formule:

$$\% \text{ AUG} = [\text{Volume de la patte au temps T} - \text{volume initial (Vo)} / \text{Volume initial (Vo)}] \times 100$$

L'activité anti-inflammatoire est évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) par la formule suivante (176) :

$$\% \text{ INH} = [(\% \text{ AUG control positif} - \% \text{ AUG traité}) / \% \text{ AUG control positif}] \times 100$$

II.5.3. Sacrifice et prélèvement du foie et du tissu de la patte

Après 4.5 h de l'injection de la carragénine (5.5 h après le gavage) les souris sont sacrifiées et les foies et les tissus des pattes arrières droites sont, étiquetés et stockés au congélateur à -20 °C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (figure 15).



Figure 15: Sacrifice et prélèvement du foie et du tissu de la patte.

II.5.5. dosage des paramètres du stress oxydatif induit par l'inflammation

II.3.5.1. Préparation de la fraction cytosolique

Pour la détermination des paramètres cytosoliques du foie, la fraction de ce dernier est préparée selon la méthode décrite par Iqbal *et al* en 2003. Pour cela 1 g du foie est coupé, fragmenté et homogénéisés avec 3 volumes du tampon phosphate glacé (0.1M, pH7.4) contenant du KCl à 1,17%. L'homogénat est ensuite centrifugé à 2000 rpm pendant 15 mn à 4°C pour séparer les débris nucléaires. Le surnageant récupéré de cette centrifugation est met au réfrigérateur pendant 20 min à 4°C puis centrifugé à 9600 rpm, pendant 30 mn. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source d'enzymes (177).

D'autre part, comme la masse de tissu de la patte est réduite (quelques milligrammes), la fraction cytosolique de cette dernière est préparé en respectant les étapes de préparation de la fraction cytosolique du foie, et en appréciant le volume du tampon phosphate adéquat pour la masse de chaque patte selon la règle de trois comme suit :

1g	—————→	3 volumes du tampon phosphate (3 ml).
La masse de la patte	—————→	X du tampon.

II.3.5.2. Dosage des protéines du foie

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique détectant le changement de couleur du Bleu de Coomassie à 590 nm, après complexation avec les acides aminés aromatique et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans l'échantillon. Le changement de l'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié donc à la concentration en protéines dans l'échantillon. Pour cela, 1ml de Bleu de Coomassie a été ajouté à 50 µl de l'échantillon dilués au 1/10^{ème}. Ensuite le mélange est incubé à température ambiante pendant 20 min et la DO a été lue à 590 nm. La concentration en protéines est déterminée à partir de la gamme d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA) de concentration (0-1 mg/ml) (annexe 4) (178)

II.3.5.3. Dosage du Malone-dialdéhyde (MDA) du foie et de tissu de la patte

LeMDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par les ROS par. Dans Cette étude, les taux du MDA tissulaire sont évalués selon la méthode décrite par Ohkawa et al en 1979. Le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaude (100°C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré en rose absorbant à 530 nm (figure 16), extractible par les solvants organiques comme le n-butanol (179).

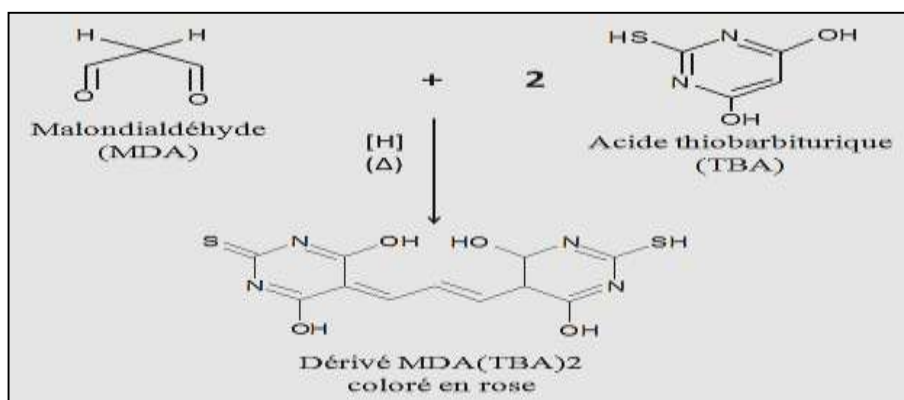


Figure 16: Principe de dosage du MDA (179).

Pour cela, 250 μ l de la fraction cytosolique a été ajouté à 250 μ l d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 0.5ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.67%. Après incubation au bain marie à 100°C durant 15 minutes puis refroidissement, 2 ml de n-butanol ont été additionnés, le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours /min. L'absorbance du surnageant est mesuré à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. La concentration du MDA dans l'échantillon est exprimée en mmol/mg de protéine. Elle est obtenue grâce à une courbe d'étalonnage réalisé avec du 1,1', 3,3'-tetraethoxypropane (TEP) faite dans les mêmes conditions (Annexe 6) (179).

II.3.5.4. Dosage du glutathion hépatique(GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode décrite par Ellman en 1959. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion (figure 16).

Pour cela 20 μ l de la fraction cytosolique a été prélevé et dilué dans 3 ml du tampon phosphate (0.01M, pH 8). Ensuite 20 μ l de DTNB à 0.01 M est ajouté. Le mélange a été incubé pendant 5 minutes à 25° C et les densités sont ensuite mesurées à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions que le dosage, et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par mg de protéine (Annexe 5) (180, 181).

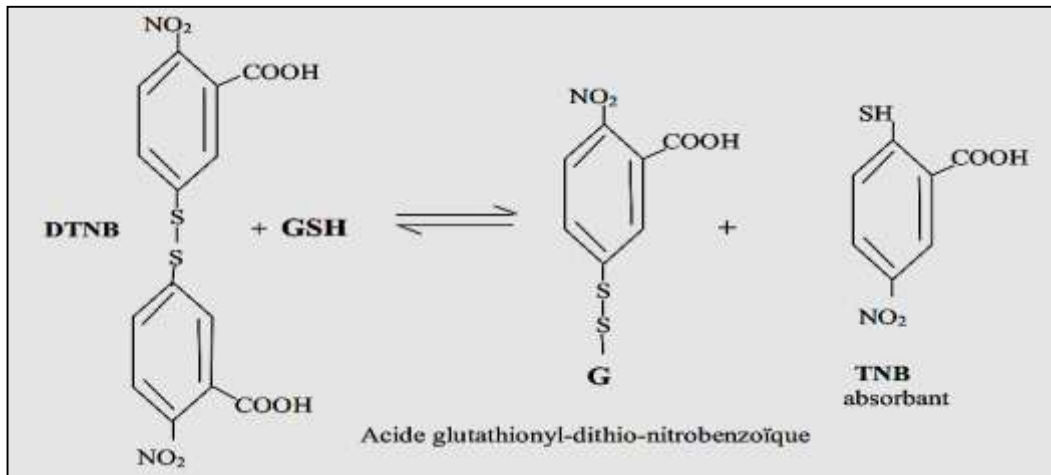


Figure 17 : Principe de dosage de GSH (181).

II.4. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes \pm l'écart-types. L'évaluation statistique est effectuée par le test de Student. La valeur trouvée par ce test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p :

$p > 0.05$: la différence n'est pas significative (ns).

$p < 0.05$: la différence est significative (*) ou (#).

$p < 0.01$: la différence est hautement significative (**) ou (##).

$p < 0.001$: la différence est très hautement significative (***) ou (###).

Comparaison avec le contrôle négatif : (ns), (*), (**) et (***) .

Comparaison avec le contrôle positif (injecté par la carragénine et n'est pas traité): (ns), (#), (##) et (###).

Dans cette étude l'effet anti-inflammatoire des plantes *E. alata* et *E. fragilis* est testé dans le but de valider l'utilisation de ces derniers en médecine traditionnelle.

III.1. Nature phytochimique des plantes *E. alata* et *E. fragilis*

III.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

L'extraction qui est une méthode préliminaire très importante est faite par le méthanol 80%. D'abord le solvant d'extraction est le paramètre qui conditionne le type d'éléments qui vont être extraits. De plus la poudre des 2 plantes est très fine, ce qui augmente la surface de contact avec le solvant, permettant ainsi une meilleure libération des principes actifs (181, 182).

Les extraits obtenus avaient une consistance semi-solide plus ou moins visqueux dont *E.alata* a donné une couleur marron-orange clair avec un rendement de 13.75 %, tandis que *E. fragilis* a donné une couleur plus foncée avec un rendement moins faible qui est de 13.32 % (Tableau 6). A partir des résultats obtenus, le rendement calculé est inférieur à celui rapporté par Kim et al (2008), où le rendement de l'extraction d'*Ephedra sinica* était 17.4%.

Tableau 6: Rendement d'extraction de l'extrait méthanolique de *E. alata* et *E. fragilis*.

Plantes	<i>E. alata</i>	<i>E. fragilis</i>
% de rendement	13.75 %	13.32 %

Les méthodes d'extraction dépendent aussi bien du matériel végétal que des molécules recherchées c'est à dire de la quantité des métabolites secondaires dans la plantes est de l'aspect macroscopique de la poudre; quand la quantité de ces métabolite augmente, et la poudre très fine, le rendement va augmenter. L'extraction est influencée par la méthode choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans cette procédure (183).

III.1.2. Teneur en composés phénoliques des extraits

Les résultats de dosages des polyphénols, flavonoïdes et tanins hydrolysables des extraits des deux plantes sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7: Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique de *E. alata* et *E. fragilis*.

	<i>E. alata</i>	<i>E. fragilis</i>
Polyphénols totaux (mg EAG/ g de l'extrait brut)	248.13 ± 6.05	273.65 ± 6.95
Flavonoïdes totaux (mg EQ/ g de l'extrait brut)	11.11 ± 0.12	10.40 ± 0.16
Tannins hydrolysables (mg EAT/ g de l'extrait brut)	0.030 ± 0.005	0.063 ± 0.010

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique des 2 plantes est riche en polyphénols totaux; d'abord *E. fragilis* est plus riche en polyphénols avec une teneur de 273.65 ± 6.95mg EAG/g d'extrait, contre 248.13 ± 6.05mg EAG/g d'extrait pour *E. alata*. D'autre cette dernière enregistre la teneur la plus élevée des flavonoïdes estimée à 11.11 ± 0.12mg EQ/g d'extrait, contre 10.40 ± 0.16 mg EQ/g d'extrait pour *E. fragilis*. Quant aux tanins hydrolysables, les extraits préparés ont exhibé de faibles quantités 0.030 ± 0.0054 mg EAT/g extrait pour *E.alata* , et 0.063 ± 0.010mg EAT/g extrait pour *E.fragilis*.

Nos résultats sont significativement plus élevés que ceux rapportés par Thaipong et al en 2006 qui montrent que les plantes d'Ephedra sont plus riches en composés phénoliques (101,2 mg / g en utilisant le meilleur solvant d'extraction) que celles de goyave et de prunier rapportées plus tôt (1,26-2,47 mg / g en goyave, 1,25-3,73 mg / g dans les prunes). D'autre Al-Rimawi et al en 2017 a comparé les polyphénols de l'Ephedra palestinienne avec l'Ephedra d'autres pays. Par exemple, Ephedra alata de Jordanie qui contient 16,2 et 11,9 mg GA / g pour les extraits aqueux et méthanoliques, respectivement, ce qui est inférieur aux polyphénols de Ephedra Alata étudié dans cette étude. Il a montré que les polyphénols d'Ephedra Alata, le plus élevé a été trouvé pour le matériel végétal lorsqu'il a été extrait avec 80% d'éthanol (101,2 ± 0,9 mg / g), le solvant d'extraction a un effet sur les polyphénols des extraits d'éphédra.

Comme les composés phénoliques végétaux ont des propriétés multifonctionnelles et peuvent agir sur les radicaux libres, la présence de quantités importantes de ces composés dans nos plantes, favorise

ces dernières comme une source importante d'antioxydants qui, s'ils sont correctement consommés, peuvent réduire les risques de maladies dégénératives (184). D'autre part, l'accumulation de preuves indique que les polyphénols pourraient exercer plusieurs autres effets biologiques spécifiques tels que l'inhibition ou la réduction de cyclooxygénase, la lipoxygénase et la régulation des fonctions plaquettaires ce qui suggère l'effet anti inflammatoire de ce 2 plantes (185).

Concernant les flavonoïdes, nos résultats sont en accord avec ceux de Al-Rimawi et al en 2017 qui sont de $9,8 \pm 0,1$ mg / g. Par contre, nos résultats est plus élevés que ceux de Harisaranraj et al en 2009 d'*Ephedra vulgaris* ($1,48 \pm 0,20$ mg / 100 g) (184). Les flavonoïdes exercent des activités anti-inflammatoires par l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B, et la diminution de la production et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (186) et des effets anti-radicaux (187) se qui suggère que ces 2 plantes ont une activité anti-inflammatoire.

Les tanins hydrolysables sont très faibles dans les extraits méthanolique des plantes *Ephedra alata* et *fragilis* (traces) notre résultat est en accord avec les résultats de Jaml M et al en 2012 où il a aussi démontré qu'*Ephedra gerardiana* ne contient pas des tanins hydrolysables (188).

Ces variations dans la teneur en composés phénoliques dépendent du climat, la localisation géographique, maturité, conditions de stockage et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (189). Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins hydrolysables peuvent servir comme indicateurs importants des capacités thérapeutiques des plantes médicinales (190).

II.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

II.2.1. Effet des extraits des *E. alata* et *E. fragilis* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

L'activité anti hémolytique des extraits des 2 plantes est évaluée en provoquant l'hémolyse par une solution hypotonique et la chaleur qui induisent la désorganisation de la membrane et la libération de l'hémoglobine donnant au surnageant une coloration rouge en fonction de la proportion d'hémolyse.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure (18).

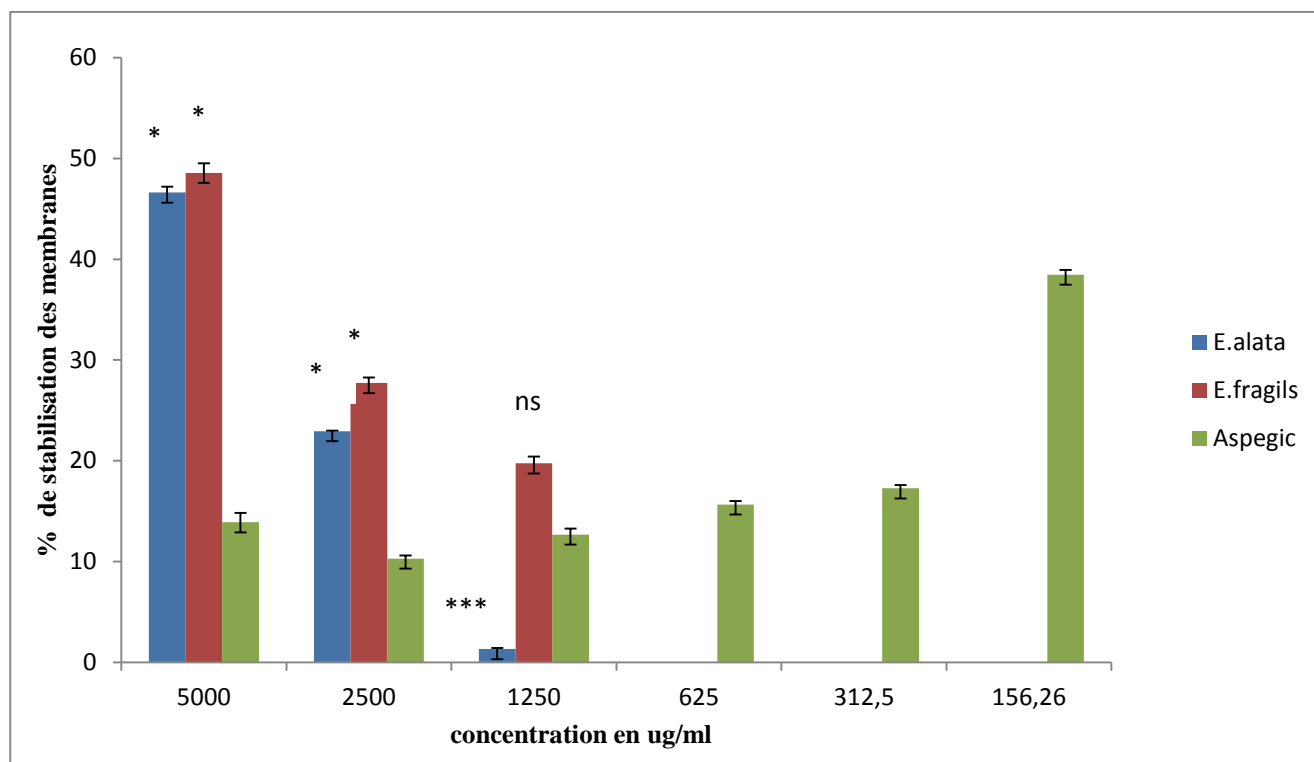


Figure 18: L'activité anti-hémolytique des extraits des plantes *E. alata* et *E. fragilis* en comparant avec l'Aspegic ® avec des différents doses.

Les pourcentages d'inhibition d'hémolyse sont exprimés en moyenne \pm écart type .test de student : (ns) désigne un effet non significatif, * $P < 0,05$ désigne un effet significatif, ** $P < 0,01$ désigne un effet hautement significatif, *** $P < 0,01$ désigne un effet très hautement significatif ; comparaison avec le standard (Aspegic®).

Notre résultat montre une augmentation significative $P < 0,01$ par rapport au standard pour les 2 plantes. Les extraits des 2 plantes ont protégés les globules rouges contre l'hémolyse avec un pourcentage maximum de 48,05 % \pm 0,48 à une concentration de 5mg /ml pour *E. fragilis* ; l'effet de l'anti-inflammatoire standard (Aspegic®) contre l'hémolyse est très important avec les petites concentrations comme 156.26 mg/ml avec 38.48 % \pm 0,46 d'inhibition. Par contre ces plantes n'exercent aucun effet anti-hémolytique aux doses faibles (625, 312.5, 156,26).

Cet effet est due à la richesse en polyphénols notamment l'acide gallique, qui présenté une augmentation des pourcentages d'hémolyse des érythrocytes en fonction des concentrations (191).

Les membranes plasmiques demeurent des structures fluides et le maintien de la fluidité est un pré requis, pour la fonction, la viabilité, la croissance et la reproduction des cellules. De ce fait, des modèles divers ont été proposés et employés pour examiner l'efficacité anti-inflammatoire des extraits de plantes, notamment le test de stabilisation de la membrane de globule rouge, via l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique, ainsi qu'à une température élevée, en raison de la ressemblance de la membrane de lysosome avec celle du globule rouge (192).

L'exposition des érythrocytes aux substances nuisibles, comme le moyen hypotonique aboutit à la lyse de sa membrane accompagnée par l'hémolyse et l'oxydation d'hémoglobine. Dans un milieu isotonique, les hématies tentent de maintenir un équilibre entre la concentration ionique du milieu extracellulaire et celle du milieu intracellulaire. Dans une solution hypotonique, l'afflux d'eau est plus grand que la fuite ainsi, l'eau pénètre dans l'hématie (selon son gradient de concentration), qui se gonfle et devient sphérique. La membrane cellulaire est relativement inélastique et rompt après seulement une augmentation de volume très légère, l'hématie subit ainsi l'hémolyse, qui provoque l'ouverture des pores membranaires, dénommés pores d'hémolyse, laissant la membrane cellulaire vide (193).

La richesse des extraits en composés phénoliques et les flavonoïdes, pourrait contribuer à l'effet anti-inflammatoire prouvé dans cette étude.

III.2.2. Effet anti-radicalaire d'*E. alata* et *E. fragilis*

La figure 19 montre les variations de l'effet scavenger de l'extrait méthanolique d'*E. alata* et *E. fragilis* et de l'acide ascorbique à différentes concentrations contre le radical libre DPPH°.

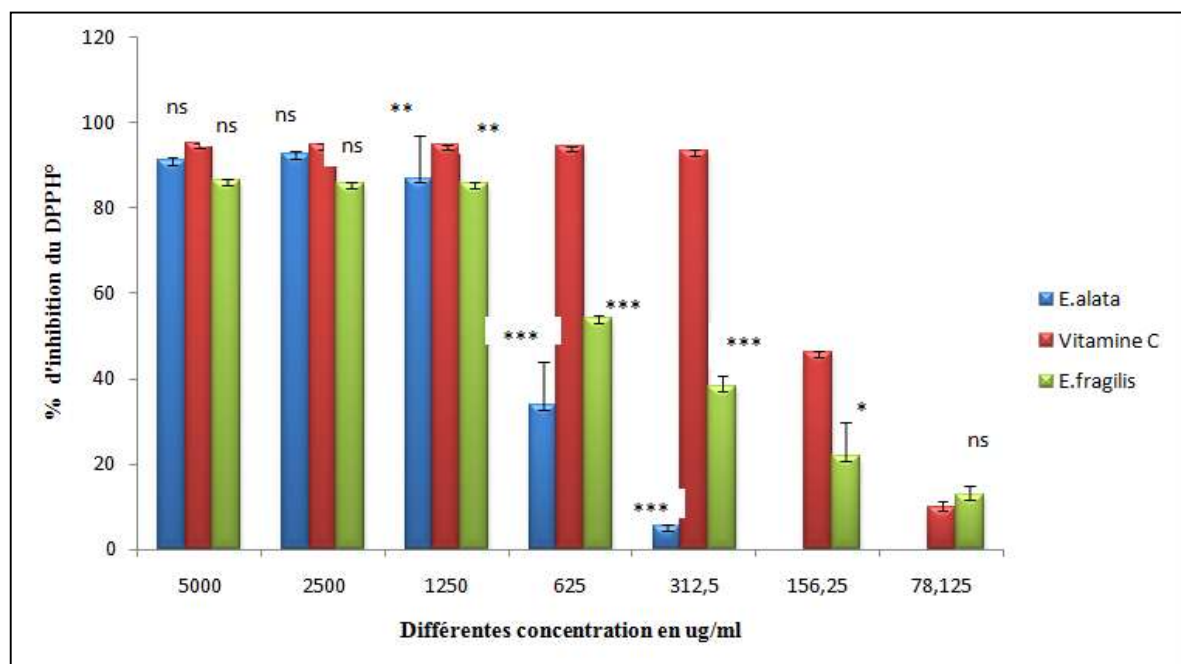


Figure 19: Pourcentage de réduction du radical libre DPPH° par d'*E. alata* et *E. fragilis* et l'acide ascorbique à différents concentrations.

Les pourcentages de réduction du radical libre DPPH° sont exprimés en moyenne \pm écart type. test de student : (ns) désigne un effet non significatif, * $P < 0,05$ désigne un effet significatif, ** $P < 0,01$ désigne un effet hautement significatif, *** $P < 0,01$ désigne un effet très hautement significatif ; comparaison avec le standard (acide ascorbique).

Les résultats ont révélé que les trois échantillons possèdent une activité anti-radicalaire concentration- dépendante. *E. alata* et *E. fragilis* ont donné un effet très important similaires à l'acide ascorbique (différence non sinificatif ns) aux concentrations 5000 et 2500 µg/ml, 91.03 ± 0.78 et $86,21\% \pm 0.86$ respectivement. Une expérience réalisée par Al-Rimawi et *al* en 2017 qui a montré que ephedra exercer un bon effet anti-radicalaire (184). Concernant l *E.alata*, il n'a aucun réduction du DPPH° pour les concentration de 156.25 et 78.125 µg/ml.

En effet des travaux ont suggéré que les molécules polyphénoliques contribuent à l'augmentation de l'activité anti-radicalaire, ils possédaient une activité anti-oxydante et inhibaient fortement la production de ERO (194).

II.3. évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

II.3.1. développement du volume de l'œdème de la patte de la souris induite par la carragénine

L'expérience a été réalisée sur un modèle de l'œdème aiguë de la patte de la souris induit par la carragénine. L'injection de cette substance provoque la libération des médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. L'œdème induit par cet agent phalogène est considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés (195). Cette technique a été utilisée en raison de sa simplicité d'exécution et de sa rapidité d'induction (196).

La figure 20 montre l'évolution de volume de l'œdème induit par la carragénine en absence et en présence de différents traitements.

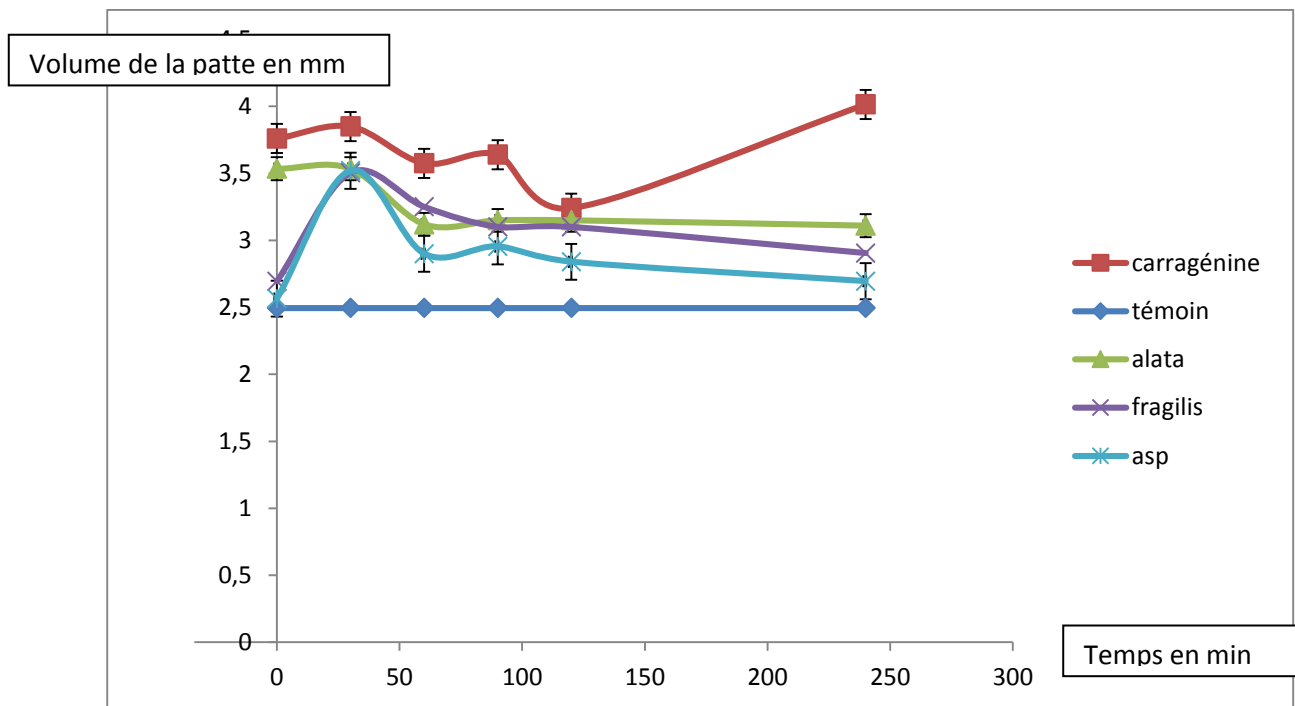


Figure 20 : Effet du d'*E. alata* et *E. fragilis* et de l'Aspegic® sur le volume de l'œdème induit par la carragénine (mm).

Nos résultats, montrent que l'injection de la carragénine à 1% entraîne une augmentation très significative ($P \leq 0,01$) du volume de l'œdème chez tous les lots après 30 min d'injection, la circonférence de la patte atteint son maximum au après 4 h d'injection avec une valeur de $4.015 \pm 0,49$ mm chez les souris traité par la carragénine seule. Cela pourrait être dû à la réponse inflammatoire aiguë induite par ce dernier qui se caractérise par l'infiltration de fluides tissulaires et de plasma entraînant la formation d'œdème et l'accumulation concomitante de leucocytes principalement les neutrophiles (197).

L'administration de l'Aspegic® comme anti-inflammatoire de référence à la dose de 150 mg/kg induit une diminution significative ($P \leq 0,05$) du diamètre de la patte du souris. L'épaisseur de l'œdème est 2.69 ± 0.2 à la fin du traitement. D'autre l'administration d'*E. alata* à la dose de 300mg/kg par voie orale a induit une diminution non significative de l'épaisseur de l'œdème après 4 h du traitement elle devient $3,11 \pm 0,21$ mm et pour la même dose de *E. fragilis*; le volume de l'œdème subit une diminution hautement significatif par rapport au lot du carragénine après 4h de l'injection ($2.695 \pm 0,07$ mm). Notre résultat est en accord avec celle de Ndiaye et al en 2006 qui a déterminé que la carragénine est une provoque une inflammation typiquement liée à l'activation de la cyclooxygénase. Cette inflammation est biphasique. En effet, il est connu que, chez l'animal vivant, la carragénine dans une première phase provoque la synthèse de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine qui entretiennent l'inflammation (176).

Dans une seconde phase, cette molécule de référence induit la synthèse de prostaglandines, des protéases et des lysosomes. Cette dernière étape est sensible aux antagonistes de synthèse des prostaglandines et aux anti-inflammatoires naturels ou de synthèse (176)

Si on procède à une comparaison entre d'*E. alata* et *E. fragilis*, on note que cette dernière possède l'effet anti-inflammatoire le plus efficace. *E. alata* donne un effet comparable ($p > 0.05$) à celui de l'Aspegic alors que *E. fragilis* donne un effet meilleur.

La Figure 21 montre les pourcentages d'inhibition de l'inflammation induite par la carragénine à 1% après les traitements.

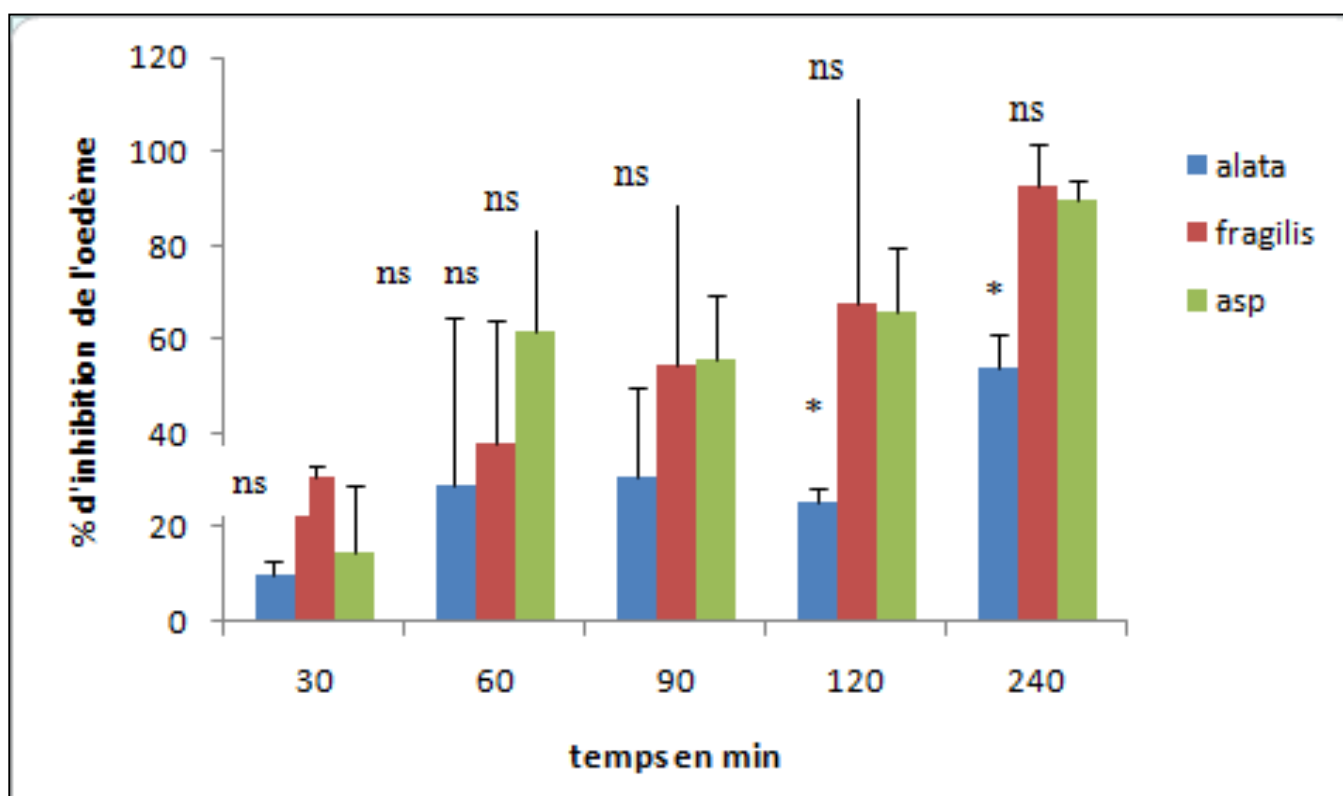


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de l'inflammation induite par la carragénine à 1% après traitement par *E. alata* et *E. fragilis* et de l'Aspegic®.

Le développement de l'œdème de la patte du rat après l'injection de la carragénine a été décrit comme un événement biphasique. La phase initiale de l'œdème a été attribuée à la libération d'histamine, de sérotonine et de substances semblables à la kinine, et la seconde a accéléré la phase de gonflement pour libérer les substances semblables aux prostaglandines (198).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'administration par voie orale de l'aspegic à la dose de (150 mg/kg) entraîne une diminution significative de l'oedème (figure précédente 20). Les AINS agissent en inhibant la cyclooxygénase (COX), qui inhibe la synthèse des prostaglandines, ce qui confère à cette classe de médicaments ses propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires (199). Les AINS peuvent être classés comme inhibiteurs non sélectifs (inhibant COX-1 et COX-2) ou comme inhibiteurs sélectifs de la COX-2. Cependant, la plupart des médicaments anti-inflammatoires sont cliniquement efficaces au cours de la seconde phase de l'inflammation (200). L'Aspégic, comme produit de référence, réduit l'inflammation par l'inhibition des cyclo-oxygénases enzymes responsables de la production des prostaglandines et du thromboxane (201).

Les pourcentages d'inhibition de l'oedème chez les souris des lots traités par *E.fragilis* ou par *E.alata* à la dose de (300 mg/kg) montrent que les deux traitements possèdent une activité anti-inflammatoire importante. Après 4h, *E.fragilis* et *E.alata* montrent respectivement un pourcentage d'inhibition de non significatif et significatif respectivement en comparant avec l'effet du médicament.

Les acides phénoliques, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires des résultats suggèrent que ces derniers exercent un effet anti-inflammatoire en bloquant la libération d'histamine et l'expression des cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines (202, 203).

D'autre part, ces résultats sont en accord avec plusieurs études montrant que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait peut s'expliquer en partie par la présence des composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes (204). Ces derniers sont des composants bien connus des plantes anti-inflammatoires. Certains flavonoïdes ont montré une action inhibitrice dans divers modèles animaux d'inflammation (205).

II.3.2. Effet de l'extrait d'*E.alata* et *E.fragilis* sur les paramètres du stress oxydatif induit par l'inflammation

II.3.2.1. Effet sur le MDA de tissu de la patte des souris

La peroxydation lipidique est le processus de dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes biologiques qui provoque une altération de la fonction membranaire, une détérioration de l'intégrité structurale, une diminution de la fluidité et l'inactivation d'un certain nombre de récepteurs protéiques et d'enzymes liées aux membranes (206). Au cours de ce processus, un grand nombre de sous-produits sont formés qui affectent un site loin de la zone de leur génération, parmi ces dérivés toxiques, le MDA est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique qui a une demi-vie plus longue que celle des radicaux libres. Il diffuse facilement et peut former des liaisons avec les bases d'ADN, il est lui-même mutagène (206).

La figure 21 représente les variations de la concentration du MDA cytosolique après 4.5h de l'injection par la carragénine à 1% et après traitement par *E. alata* et *E. fragilis* et de l'Aspegic®.

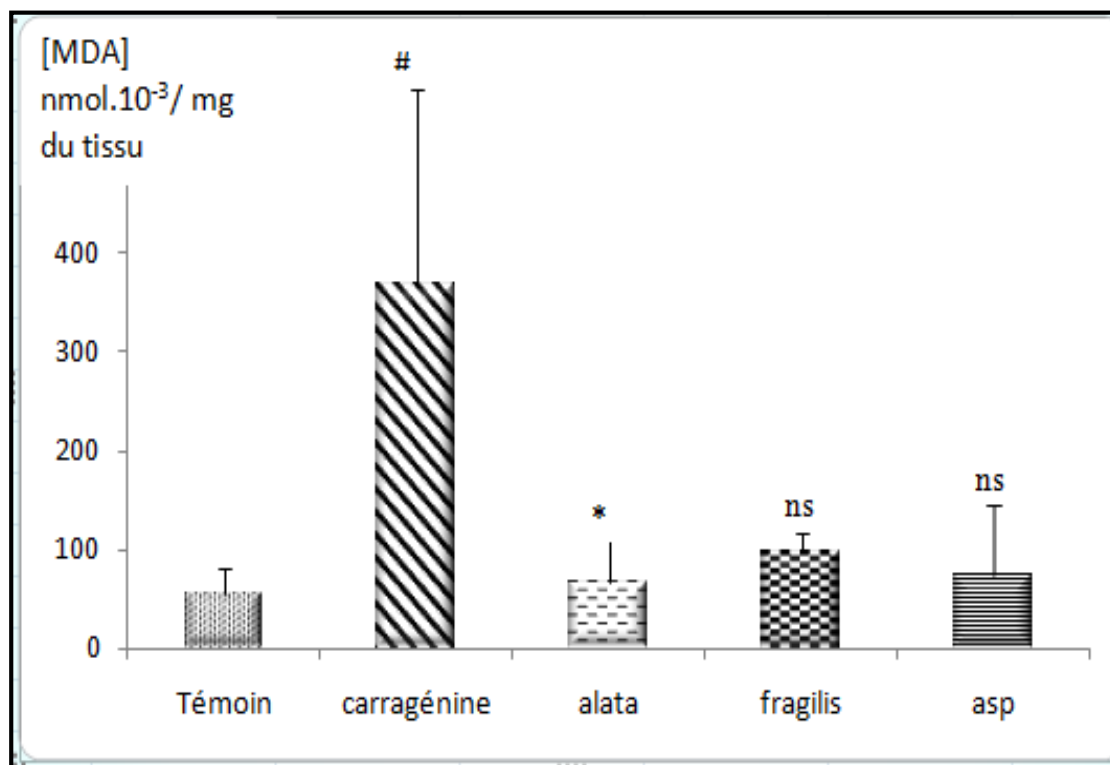


Figure 21: Variations des taux du MDA cytosolique de tissu de la patte après traitement.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison faites entre le groupe traité par la carragénine et Témoin : # $P \leq 0,01$ désigne un effet très significatif. Groupe traité comparé au groupe traité par la carragénine: *** $P \leq 0,001$ désigne un effet hautement significatif.

D'après les résultats obtenus, le lot de la carragénine présentent une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du MDA en comparant avec le témoin. Cette résultat est similaire à celui obtenu par Devi et al en 2007 et Saiah et al en 2017 (207). Le taux de MDA diminue de façon significative ($P \leq 0,05$) chez les souris traités par *E. alata*, et de façon non significatif pour *E. fragilis* et Aspégic par rapport au lot de la carragénine.

L'augmentation des taux du MDA chez les souris traités par la carragénine, est peut être due à l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène ou à la diminution des taux d'enzymes antioxydants. L'inflammation provoque l'accumulation des radicaux libres d'oxygène, qui jouent un rôle crucial dans la physiopathologie de l'inflammation (208).

II.3.2.1. Effet sur le MDA hépatique

Il a démontré que par Décarir en 1997 que l'administration intra-plantaire de forte concentration (100ul; 1%) de la carragénine est suivie stress oxydatif. Ainsi il est possible que la carragénine administré dans les pattes postérieures soit dégradé puis phagocyté par les macrophages. Les fragments serait ensuite en circulation est transporté au foie. Ces 2 phénomènes toxiques pourraient être responsables de l'altération des fonctions hépatiques modifiant le cours normale de la réaction inflammatoire à long terme.

C'est dans cet esprit qu'il a été retenu le choix du foie l'organe le plus détoxifiant pour entreprendre l'étude de l'effet antioxydant des extraits polyphénolés des 2 plantes étudiés (209).

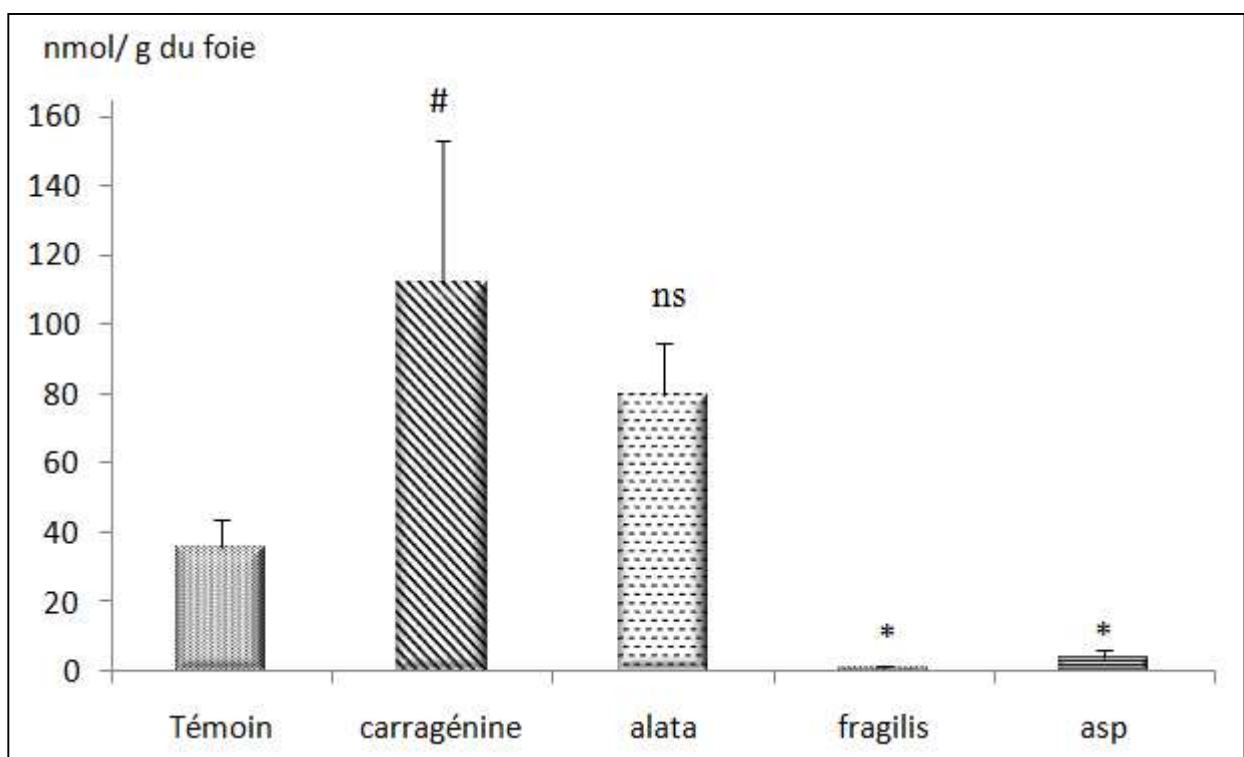


Figure 22: Variations des taux du MDA cytosolique hépatique après traitement.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison faites entre le groupe de la carragénine et le Témoin : # $P \leq 0,01$ désigne un effet très significatif. Groupe traité comparé au groupe de la carragénine: *** $P \leq 0,001$ désigne un effet hautement significatif.

D'après les résultats obtenus, le lot de la carragénine présentent une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du MDA en comparant avec le témoin. Cette résultat est similaire à celui obtenu par Devi et al en 2007 et Saiah et al en 2017 (207). Le taux de MDA diminue de façon significative ($P \leq 0,05$) chez les souris traitées par *E.alata*, et de façons non significatives pour *E.fragilis* et Aspégic par rapport au lot de la carragénine.

II.3.2.2. Dosage du glutathion GSH

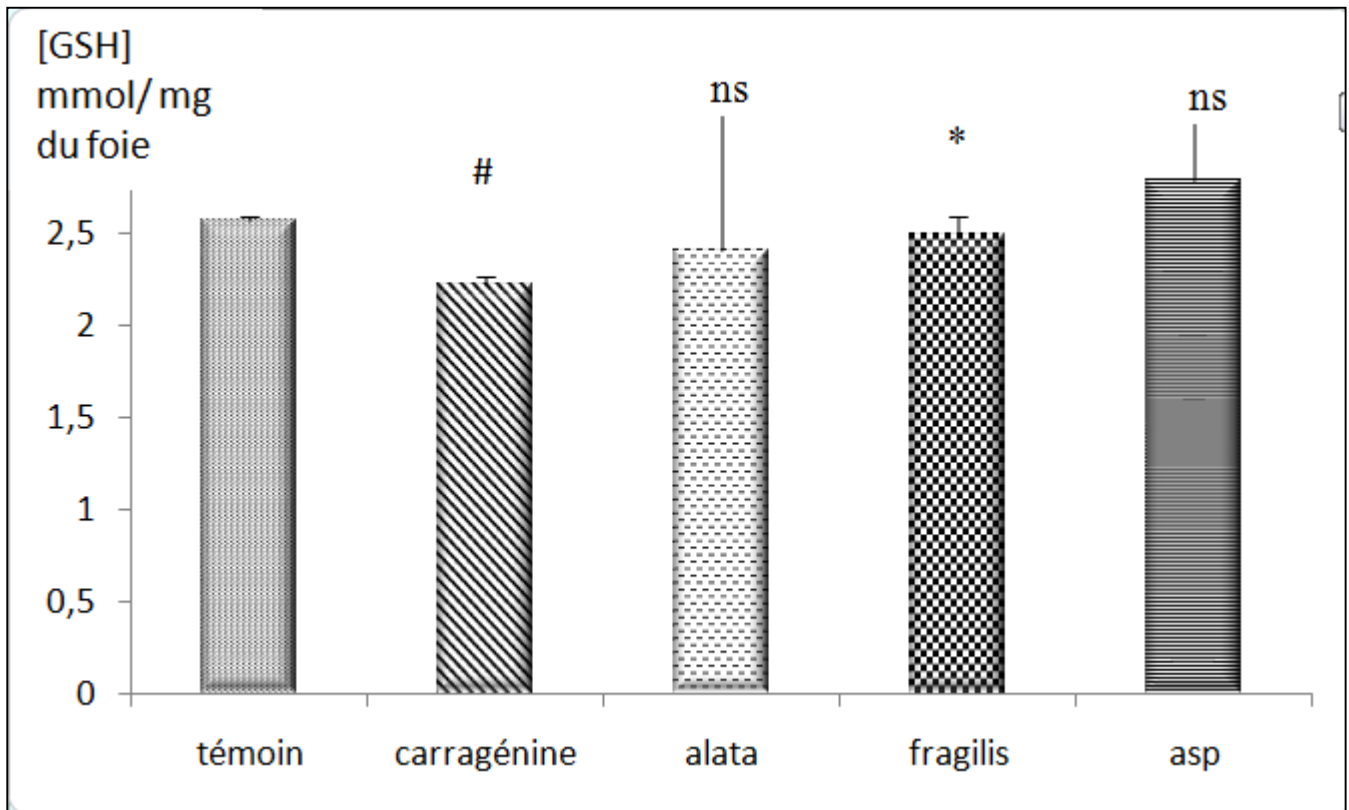


Figure 24: Variation des taux du GSH hépatique après traitement.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test de Student : comparaison faites entre le groupe traité par la carragénine et Témoin : # $P \leq 0,01$ désigne un effet très significatif. Groupe traité comparé au groupe traité par la carragénine: *** $P \leq 0,001$ désigne un effet hautement significatif.

D'après les résultats obtenus, les rats traités par la carragénine présentent une diminution significative ($P \leq 0,05$) par rapport au témoin. Le GSH augmente de façon significative ($P \leq 0,05$) chez les souris traitées par *E. fragilis* et de non significative chez les souris traitées par *E. alata* et Aspégic par rapport aux souris traités par la carragénine seul.

La diminution des taux de GSH par le lot de la carragénine, peut être liée à la consommation de GSH par la GST pour la neutralisation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Cet effondrement est peut-être dû également à sa conjugaison directe avec les espèces radicalaires ou en raison de l'inhibition des enzymes impliquées dans sa régénération. Comme elle peut être due à l'effet scavenger des flavonoïdes des métabolites réactifs toxiques du médicament (207).

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle et du développement de phytomédicaments ; les extraits méthanolique d'*Ephedra alata* et *Ephedara fragilis* ont été investigués pour son activité anti-inflammatoire. Dans notre étude nous pouvons ressortir les points suivants:

L'extraction des composés bioactifs des deux plantes de genre *Ephedra* par macération a fourni un rendement important de l'extrait brut. De plus l'évaluation quantitative des composés polyphénoliques a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols et flavonides.

L'évaluation de activité anti-inflammatoire *in vitro* par évaluation de la stabilisation des membranes des globules rouges a permet de monter que ces deux plantes ont la capacité de protégé les membranes des érythrocytes contre un choc hypotonique suivi d'un choc thermique, en raison de la ressemblance de la membrane de lysosome avec celle du globule rouge.

Le potentiel anti-radicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH, qui montre que les deux plantes présentent des propriétés anti-oxydantes concentration-dépendantes concédérables.

L'effet anti-inflammatoire *in vivo* d'*Ephedra alata* et d'*Ephedara fragilis* montre la capacité de diminué le volume de la patte de la souris induite par la carragénine et l'amélioration de la balance antioxydant-pro-oxydant, par le renforcement des capacités ant-ioxydantes (GSH) responsables de l'inhibition de la peroxydation lipidique.

Globalement, les plantes sélectionnées dans ce travail contiennent des molécules bioactives très intéressantes qui peuvent être purifiées et employées pour d'autres applications thérapeutiques.

Ce travail ne représente donc qu'une étude préliminaire qu'elle est certes prometteuse mais qui nécessite des études complémentaires afin de pouvoir élucider le mécanisme d'action exact de l'effet anti-inflammatoire d'*Ephedra alata* et *Ephedara fragilis* ce à travers :

La détermination de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires par RT-PCR : cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL6, NO, NOS, COX-2 et TNF-alpha.

La détermination des niveaux sanguine des protéines de la phase aigue de l'inflammation.

La purification des principes actifs majoritaires de d'*Ephedra alata* et *Ephedara fragilis* impliqués dans l'activité anti-inflammatoire.

- 1 : Gaziano J. M., Gibson C. M.,** (2006). Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol*, 97 : 23-9.
- 2 : Sawadogo, W. R., Lompo, M., Guissou, I. P., et Nacoulma, O. G.** (2008). Dosage des triterpènes et stéroïdes de *Dicliptera verticillata* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire topique. *Médecine d'Afrique Noire*, 55(12) : 223-229.
- 3 : Jaradat, N. A., Al-Masri, M., Hussen, F., Zaid, A. N., Ali, I., Tammam, A., ... et Rajabi, A.** (2017). Preliminary Phytochemical and Biological Screening of *Cyclamen coum* a Member of Palestinian Flora. *Pharmaceutical Sciences*, 23(3) : 231-237.
- 4 : Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., et Ould El Hadj, M. D.** (2013). Recherche Préliminaire des Sources Végétales Sahariennes à Alcaloïdes pour Usage Bio-Insecticides. *Algerian journal of arid environment*, 258(1624) : 1-10.
- 5 : Hmamouchi, I., Rachidi, M., Abourazzak, F. E., Khazzani, H., Bennani, L., Bzami, F., ... et Allali, F.** (2012). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales marocaines en rhumatologie. *Rev Mar Rhum*, 22(8) : 52-6.
- 6 : : Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., et Ould El Hadj, M. D.** (2013). Recherche Préliminaire des Sources Végétales Sahariennes à Alcaloïdes pour Usage Bio-Insecticides. *Algerian journal of arid environment*, 258(1624) : 1-10.
- 7: J. Hegazi, G. A. E., et El-Lamey, T. M.** (2011). In vitro production of some phenolic compounds from *Ephedra alata* Decne. *J Appl Environ Biol Sci*, 1(8) : 158-163.
- 8: Senchina, D. S., Hallam, J. E., Kohut, M. L., Nguyen, N. A., et Perera, M. A. D. N.** (2014). Alkaloids and athlete immune function: caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Exercise immunology review*, 63(10) : 20.
- 9: Al-Snafi, A. E.** (2016). Antimicrobial effects of medicinal plants (part 3): plant based review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(10) : 67-92.
- 10: Lamblin, N.** (2009). Quelle place pour les marqueurs de l'inflammation?. *La Lettre du cardiologue*, 10 (427) : 22-26.

- 11 : Klein, R. F., et Hays, P. A.** (2001). The 2001 “Research on Drug Evidence” Report [From the 13th ICPO/INTERPOL Forensic Science Symposium].14(5) : 302-292
- 12 : Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., et Zhao, L.** (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6) : 7204-7206.
- 13 : Hafeez, A., Jain, U., Sajwan, P., Srivastava, S., et Thakur, A.** (2013). Evaluation of Carrageenan induced anti-inflammatory activity of ethanolic extract of bark of *Ficus virens* Linn. in swiss albino mice. *J Phytopharmacol*, 2(1) : 39-43.
- 14 : Hafeez, A., Jain, U., Sajwan, P., Srivastava, S., et Thakur, A.** (2013). Evaluation of Carrageenan induced anti-inflammatory activity of ethanolic extract of bark of *Ficus virens* Linn. in swiss albino mice. *J Phytopharmacol*, 2(1) : 39-43.
- 15 : Fablet, C., et Madec, F.** (2009). Proteines de la phase aigue de l'inflammation chez le porc: Interet en sante animale et en sante publique veterinaire. *Revue de Medecine Veterinaire*, 160(1) : 28-32.
- 16 : Zhou, J., Liu, T., Zhang, H., Zheng, G., Qiu, Y., Deng, M., et Yao, G.** (2017). Anti-inflammatory Grayanane Diterpenoids from the Leaves of *Rhododendron molle*. *Journal of natural products*, 81(1) : 151-161.
- 17: Schae, D., et McBride, W. H.** (2010). Links between innate immunity and normal tissue radiobiology. *Radiation research*, 173(4) : 406-417.
- 18 : Barton, G. M.** (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation*, 118(2) : 413-420.
- 19 : Ehrchen, J. M., Sunderkötter, C., Foell, D., Vogl, T., et Roth, J.** (2009). The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. *Journal of leukocyte biology*, 86(3) : 557-566.
- 20 : Delneste, Y., Beauvillain, C., et Jeannin, P.** (2007). Immunité naturelle-Structure et fonction des Toll-like receptors. *médecine/sciences*, 23(1) : 67-74.
- 21 : Dufresne, S.S., Frenette, J., et Dumont, N. A.** (2016). Inflammation et régénération musculaire- Une arme à double tranchant. *médecine/sciences*, 32(6) : 591-597.
- 22 : Jamilloux, Y., et Henry, T.** (2013). Les inflammasomes-Plates-formes de l'immunité innée. *médecine/sciences*, 29(11) : 975-984.

- 23 : Jeannin, P., Jaillon, S., et Delneste, Y.** (2010). Biologie des récepteurs de l'immunité innée: applications cliniques et thérapeutiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2010(424) : 41-51.
- 24 : Muller, W. A.** (2011). Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 6(15) : 323-344.
- 25 : Gaboriau-Routhiau, V., et Cerf-Bensussan, N.** (2016). Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *médecine/sciences*, 32(11) : 961-967.
- 26 : Dumas, A., et Pouliot, M.** (2009). Le neutrophile: ennemi ou ami?. *médecine/sciences*, 25(9) : 699-704.
- 27 : Dubourdeau, M., Pipy, B., et Rousseau, D.** (2010). Rôles de PPAR et de p21WAF1/CIP1 dans la différenciation monocyte/macrophage-Les monocytes circulants prolifèrent-ils?. *médecine/sciences*, 26(5) : 481-486.
- 28 : Dubourdeau, M., Pipy, B., et Rousseau, D.** (2010). Rôles de PPAR et de p21WAF1/CIP1 dans la différenciation monocyte/macrophage-Les monocytes circulants prolifèrent-ils?. *médecine/sciences*, 26(5) : 481-486.
- 29 : DOCTORALES, É.** (2017). Écoles doctorales-Masters (8). *médecine/sciences*, 33(2) : 735-43.
- 30: Théret, M., Chazaud, B., et Mounier, R.** (2014). Quand un régulateur énergétique contrôle la résolution de l'inflammation-L'AMPK induit le changement de phénotype des macrophages au cours de la régénération musculaire. *médecine/sciences*, 30(1) : 35-38.
- 31 : Bouaziz, J. D., Masson, A., Le Buanec, H., Bagot, M., et Bensussan, A.** (2014). Lymphocytes B régulateurs: état des connaissances. *médecine/sciences*, 30(8) : 721-724.
- 32 : Bernard Weill et Frédéric Batteux.**(2003)Immunopathologie et réactions inflammatoires .*boeck*,43(9) : 254
- 33 : Hamze, M., Desmetz, C., et Guglielmi, P.** (2014). Les lymphocytes B-Une cible prometteuse pour traiter l'athérosclérose?. *médecine/sciences*, 30(10) : 874-881.
- 34 : Siri, A., de Boysson, H., et Boursier, G.** (2012). Actualité sur les lymphocytes T régulateurs CD4+. *médecine/sciences*, 28(7) : 646-651.
- 35 : Forget, P., et De Kock, M.** (2009, September). L'anesthésie, l'analgésie et la modulation sympathique augmentent-elles l'incidence des récives néoplasiques après chirurgie? Une revue de la

littérature centrée sur la modulation de l'activité des lymphocytes natural killer. In Annales francaises d'anesthesie et de reanimation . 28 (9) : 751-768

36 : Driss, V., Legrand, F., Loiseau, S., et Capron, M. (2010). L'éosinophile: nouvel acteur de la réponse immunitaire innée?. médecine/sciences, 26(7) : 621-626.

37: Schwartz, C., Eberle, J. U., et Voehringer, D. (2016). Basophils in inflammation. European journal of pharmacology, 778(10) 90-95.

38 : Debili, N., et Vainchenker, W. (2008). De macro à micro: l'histoire de la plaquette. médecine/sciences, 24(5) : 467-469.

39 : Franco, A. T., Corken, A., et Ware, J. (2015). Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood*, blood-(2014)13(6) : 156-130

40: Roohbakhsh, A., et Malaekheh-Nikouei, B. (2016). Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 2015 at a glance. Iranian journal of basic medical sciences, 19(1) : 210-185.

41 : Rasheed, Z., Akhtar, N., Anbazhagan, A. N., Ramamurthy, S., Shukla, M., et Haqqi, T. M. (2009). Polyphenol-rich pomegranate fruit extract (POMx) suppresses PMACI-induced expression of pro-inflammatory cytokines by inhibiting the activation of MAP Kinases and NF-κB in human KU812 cells. *Journal of inflammation*, 6(1) : 155-140.

42 : Caughey, G. H. (2011). Mast cell proteases as protective and inflammatory mediators. In *Mast Cell Biology* 45(5) : 212-234

43 : Milliat, F., et François, A. (2018). Les mastocytes, stakhanovistes de l'immunité-Un rôle énigmatique dans les lésions radiques.... médecine/sciences, 34(2) : 145-154.

44: Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(720) : 428-400.

45 : Gabra, B. H., Couture, R., et Sirois, P. (2003). Dualité fonctionnelle des récepteurs des kinines en physiopathologie. médecine/sciences, 19(11) : 1101-1110.

46 : Wu, Y. (2015). Contact pathway of coagulation and inflammation. *Thrombosis journal*, 13(1) : 17-10.

47 : Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., & Lambris, J. D. (2010). Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature immunology*, 11(9) : 785-740.

- 48 : Daugan, M., Noe, R., Fridman, W. H., Sautes-Fridman, C., et Roumenina, L. T. (2017).** Le système du complément-Une épée à double tranchant dans la progression tumorale. *médecine/sciences*, 33(10) : 871-877.
- 49 : Malki, S., Declosmenil, F., Farhat, A., Moniot, B., Poulat, F., et Boizet-Bonhoure, B. (2008).** La prostaglandine D2-Nouveaux rôles dans la gonade embryonnaire et pathologique. *médecine/sciences*, 24(2) : 177-184.5
- 50: Creusot, R. J., et Moraga, I. (2013).** Superkines, des cytokines aux fonctions mieux ciblées. *médecine/sciences*, 29(4) : 345-349.
- 51 : Bensussan, A., Bizzini, B., Pouletty, P., Gallo, R. C., et Zagury, D. (2008).** Les kinoïdes-Une nouvelle génération de vaccins thérapeutiques. *médecine/sciences*, 24(3) : 306-313.
- 52 : Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 45(7) : 428-400
- 53 : Quintana-Murci, L., Veitia, R., Santachiara-Benerecetti, S., McElreavey, K., Fellous, M., et Bourgeron, T. (1999).** L'ADN mitochondrial, le chromosome Y et l'histoire des populations humaines78(13) : 563-500.
- 54 : González-Gallego, J., García-Mediavilla, M. V., Sánchez-Campos, S., et Tuñón, M. J. (2010).** Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, 104(3) : 15-27.
- 55 : Masson, A., Bouaziz, J. D., Battistella, M., Bagot, M., et Bensussan, A. (2016).** Immunopathologie du psoriasis-From bench to bedside. *médecine/sciences*, 32(3) : 253-259.
- 56 : Pal, S., Bhattacharjee, A., Ali, A., Mandal, N. C., Mandal, S. C., et Pal, M. (2014).** Chronic inflammation and cancer: potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. *Journal of inflammation*, 11(1) : 23-12
- 57 : Al-Qarawi, A. A., Abd Allah, E. F., et Hashem, A. (2012).** Effect of Ephedra alata on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. *Pakistan Journal Of Botany*, 44(1) : 425-428.
- 58 : Dupont, M., Ouachée, A., Royer, J., et Dupuy, C. (2016).** NADPH oxydase-Agent double dans l'inflammation?. *médecine/sciences*, 32(10) : 833-835.

- 59 : Karlsen, A., Retterstøl, L., Laake, P., Paur, I., Kjølrsrud-Bøhn, S., Sandvik, L., et Blomhoff, R.** (2007). Anthocyanins inhibit nuclear factor- κ B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *The Journal of nutrition*, 137(8) : 1951-1954.
- 60 : Romano, M., Cianci, E., Simiele, F., et Recchiuti, A.** (2015). Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation. *European journal of pharmacology*, 76(9) : 49-63.
- 61 : Pecchi, É., Dallaporta, M., Thirion, S., Jean, A., et Troadec, J. D.** (2009). La mPGES-1: elle nous rend malades!. *médecine/sciences*, 25(5) : 451-454.
- 62 : Gilroy, D., et De Maeyer, R.** (2015, May). New insights into the resolution of inflammation. In *Seminars in immunology* 27(3) : 161-168.
- 63 : Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., ... et Moon, R. C.** (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275(5297) : 218-220.
- 64 : Fablet, C., et Madec, F.** (2009). Proteines de la phase aigue de l'inflammation chez le porc: Interet en sante animale et en sante publique veterinaire. *Revue de Medecine Veterinaire*, 16(5) : 281-270.
- 65 : Medzhitov, R.** (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6) : 771-776.
- 66 : García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A., et Martínez, J. A.** (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58(9) : 537-552.
- 67 : Zhang, J., Pitto-Barry, A., Shang, L., & Barry, N. P.** (2017). Anti-inflammatory activity of electron-deficient organometallics. *Royal Society open science*, 4(11) : 170-786.
- 68 : Shivappa, N., Godos, J., Hébert, J. R., Wirth, M. D., Piuri, G., Speciani, A. F., et Grosso, G.** (2018). Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Risk and Mortality—A Meta-Analysis. *Nutrients*, 10(2) : 200-180
- 69 : Leibbrandt, A., Meier, C., König-Schuster, M., Weinmüllner, R., Kalthoff, D., Pflugfelder, B., ... et Unger, H.** (2010). Iota-carrageenan is a potent inhibitor of influenza A virus infection. *PloS one*, 5(12) : 143-120.

- 70 : Hafeez, A., Jain, U., Sajwan, P., Srivastava, S., et Thakur, A.** (2013). Evaluation of Carrageenan induced anti-inflammatory activity of ethanolic extract of bark of *Ficus virens* Linn. in swiss albino mice. *J Phytopharmacol*,13(2) 39-43.
- 71 : Webber, V., Carvalho, S. M. D., Ogliari, P. J., Hayashi, L., & Barreto, P. L. M.** (2012). Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food science and Technology*, 32(4) : 812-818.
- 72 : Iglauer, S., Wu, Y., Shuler, P., Tang, Y., et Goddard III, W. A.** (2011). Dilute iota-and kappa-Carrageenan solutions with high viscosities in high salinity brines. *Journal of Petroleum science and Engineering*, 75(4), 304-311.
- 73 : Iglauer, S., Wu, Y., Shuler, P., Tang, Y., et Goddard III, W. A.** (2011). Dilute iota-and kappa-Carrageenan solutions with high viscosities in high salinity brines. *Journal of Petroleum science and Engineering*, 75(4) : 304-311.
- 74 : Xu, Z., Zhou, J., Cai, J., Zhu, Z., Sun, X., et Jiang, C.** (2012). Anti-inflammation effects of hydrogen saline in LPS activated macrophages and carrageenan induced paw oedema. *Journal of Inflammation*, 9(1) : 256-250
- 75 : Parisi, L., Gini, E., Baci, D., Tremolati, M., Fanuli, M., Bassani, B., ... et Mortara, L.** (2018). Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders?. *Journal of immunology research*(2018) 32(1) : 321-292
- 76 : Epa, C., Itou, R. E., Ossibi, A. E., Attibayeba, O. P. R., et Abena, A. A.** (2015). Effet anti-inflammatoire et cicatrisant des extraits aqueux et éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea* Engl.(Capparidaceae). *Journal of Applied Biosciences*, 94(6) : 8858-8868.
- 77 : Parisi, L., Gini, E., Baci, D., Tremolati, M., Fanuli, M., Bassani, B., ... et Mortara, L.** (2018). Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders?. *Journal of immunology research*,(2018).65(2) : 123-100
- 78 : Godon, A., Genevieve, F., Marteau-Tessier, A., et Zandecki, M.** (2012, March). Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. Partie 3. Hémoglobine, hématies, indices érythrocytaires, réticulocytes. In *Annales de Biologie Clinique* ,70(2) :155.
- 79 : Dupuy, A. M., Terrier, N., Sénécal, L., Morena, M., Leray, H., Canaud, B., et Cristol, J. P.** (2003). La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation?. *Néphrologie*, 24(7) : 337-342.

- 80 : Djuma, J., Kalenga, P., Kazadi, C., Orbegozo, D., et Vincent, J. L.** (2015). Appréciation de la sévérité de l'affection des patients admis en réanimation par la mesure de la CRP. *The Pan African Medical Journal*, 20.
- 81 : Najafzadeh, M., Marra, C. A., Sadatsafavi, M., Aaron, S. D., Vandemheen, K. L., Sullivan, S., ... et Fitzgerald, M. J.** (2008). Cost-Effectiveness of Therapy with Combinations of Long-Acting Bronchodilators and Inhaled Steroids for Treatment of COPD. *Thorax*.56 (3) : 623-610
- 82 : Rasolonjatovo, A. S., Rakotomalala, H. N., Ralandison, D. S., et Rabenja, F. R.** Quelle place accorder à la vitesse de sédimentation des hématies en (2014)
- 83 : Lessing, P. H., et Delmenico, S.** (2007, September). Une vitesse de sédimentation augmentée. In *Forum Med Suisse* 26 (7) : 765-769.
- 84 : Roussel, A. M.** (2009). Who is deficient in antioxidants, and how to know it?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5) : 230-236.
- 85 : Xu, Z., Zhou, J., Cai, J., Zhu, Z., Sun, X., et Jiang, C.** (2012). Anti-inflammation effects of hydrogen saline in LPS activated macrophages and carrageenan induced paw oedema. *Journal of Inflammation*, 9(1) : 230-200.
- 86 : Dai, J., et Mumper, R. J.** (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10): 7313-7352.
- 87 : Taillé, C., Lanone, S., Aubier, M., et Boczkowski, J.** (2002). Stress oxydant et diaphragme: rôle dans la défaillance contractile au cours du sepsis. *Revue des maladies respiratoires*, 19(5) : 593-599.
- 88 : Subhadra Devi, V., Asokkumar, K., Umamaheswari, M., Sivashanmugam, A. T., et Sankaranand, R.** (2010). In vitro antioxidant activity of *Vetiveria zizanioides* root extract. *Tanzania journal of health research*, 12(2): 138-143.
- 89 : Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., et Aktumsek, A.** (2011). Antioxidant capacity and fatty acid profile of *Centaurea kotschyi* (Boiss. & Heldr.) Hayek var. *persica* (Boiss.) Wagenitz from Turkey. *Grasas y aceites*, 62(1) : 90-95.
- 90 : Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., et Pessarakli, M.** (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, (2012),20(9):260-200

- 91 : Vasconcelos, S. M. L., Goulart, M. O. F., Moura, J. B. D. F., Manfredini, V., Benfato, M. D. S., et Kubota, L. T. (2007).** Espécies réactives de oxygène e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova* 67(1)53-49.
- 92 : Perron, N. R., et Brumaghim, J. L. (2009).** A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53(2): 75-100.
- 93 : Zhang, J., Pitto-Barry, A., Shang, L., et Barry, N. P. (2017).** Anti-inflammatory activity of electron-deficient organometallics. *Royal Society open science*, 4(11) : 170-786.
- 94 : Dostert, C., et Pétrilli, V. (2008).** Amiante et inflammation, rôle de l'inflammasome. *médecine/sciences*, 24(11) : 916-918.
- 95 : Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10) : 863-832.
- 96 : Sautereau, N., Penvern, S., Petitgenet, M., Fauriel, J., et Bellon, S. (2011).** Concilier des performances pour une agriculture durable-L'agriculture biologique comme prototype. *75(6) : 560-423*
- 97 : Brioukhanov, A. L., Netrusov, A. I., et Eggen, R. I. (2006).** The catalase and superoxide dismutase genes are transcriptionally up-regulated upon oxidative stress in the strictly anaerobic archaeon *Methanosarcina barkeri*. *Microbiology*, 152(6): 1671-1677.
- 98: Gil, D., Rodriguez, J., Ward, B., Vertegel, A., Ivanov, V., et Reukov, V. (2017).** Antioxidant activity of SOD and catalase conjugated with nanocrystalline ceria. *Bioengineering*, 4(1) : 18-22.
- 99 : Aouacheri, W., Saka, S., et Djafer, R. (2009).** L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 21, No. 3, pp. 125-129). EDP Sciences 32(5) :623-601
- 100 : Lukaszewicz-Hussain, A., et Moniuszko-Jakoniuk, J. (2004).** Liver Catalase, Glutathione Peroxidase and Reductase Activity, Reduced Glutathione and Hydrogen Peroxide Levels in Acute Intoxication with Chlorfenvinphos, an Organophosphate Insecticide Introduction. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(3):251-230
- 101 : Chi, L., Ke, Y., Luo, C., Gozal, D., et Liu, R. (2007).** Déplétion de Glutathion relève dégénération neurones moteurs in vitro et in vivo. *Neuroscience*, 144(3): 991-1003.

- 102 : Samson, J., DESCROIX, V., TORRES, J., BLANCHARD, P., BOULDOUYRE, M., & CATHERINE, J.** (2008). Recommandation pour la prescription des anti-inflammatoires en chirurgie buccale chez l'adulte. *Méd Buccale Chir Buccale*, 14(3) : 129-59.
- 103 : Berrady, R., et Bono, W.** (2010). Comment je préviens les effets secondaires d'une corticothérapie au long cours. *Annales de Médecine et de Thérapeutique*, 2(1) : 81-84.
- 104 : Chaplain, A., Gouello, J. P., et Dubin, J.** (1996). Cellulites cervicales nécrosantes aiguës à porte d'entrée pharyngée: rôle possible des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. A propos de 5 observations. *Revue de laryngologie, d'otologie et de rhinologie*, 117(5) : 377-380.
- 105 : Dejean, C., et Richard, D.** (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de médecine interne*, 34(5) : 264-268.
- 106 : TRANSDISCIPLINAIRES, I. M.** (2008). Item 174—Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. In *Annales de dermatologie et de vénéréologie* 83(135) : 163-167.
- 107 : Tréchet, P., et Jouzeau, J. Y.** (2014). Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Revue Française d'Allergologie*, 54(3) : 212-217.
- 108 : Orliaguet, G., Gall, O., et Benabess-Lambert, F.** (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, 17(5) : 228-237.
- 109 : Lelong, H., Ly, C., et Blacher, J.** (2013). Risque cardiovasculaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Journal Européen des Urgences et de Réanimation*, 25(4) : 191-196.
- 110 : Sawadogo, W. R., Lompo, M., Guissou, I. P., et Nacoulma, O. G.** (2008). Dosage des triterpènes et stéroïdes de *Dicliptera verticillata* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire topique. *Médecine d'Afrique Noire*, 55(4) : 223-229
- 111 : Jeppesen, A. S., Soelberg, J., et Jäger, A. K.** (2012). Antibacterial and COX-1 inhibitory effect of medicinal plants from the Pamir Mountains, Afghanistan. *Plants*, 1(2) : 74-81.
- 112 : Lim, F. L., Yam, M. F., Asmawi, M. Z., et Chan, L. K.** (2013). Elicitation of *Orthosiphon stamineus* cell suspension culture for enhancement of phenolic compounds biosynthesis and antioxidant activity. *Industrial crops and products*, 50(6): 436-442

- 113 : González-Gallego, J., García-Mediavilla, M. V., Sánchez-Campos, S., et Tuñón, M. J. (2010).** Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, 104(3): 15-27.
- 114 : García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A., et Martínez, J. A. (2009).** Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58(9) : 537-552.
- 115 : Al-Snafi, A. E. (2017).** Therapeutic importance of Ephedra alata and Ephedra foliata-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2) : 399-406.
- 116 : Hmamouchi, I., Rachidi, M., Abourazzak, F. E., Khazzani, H., Bennani, L., Bzami, F., ... et Allali, F. (2012).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales marocaines en rhumatologie. *Rev Mar Rhum*, 22(5) : 52-6.
- 117 : Teerthe, S. S., et Kerur, B. R. (2016).** X-Ray Mass Attenuation Coefficient of Medicinal Plant Using Different Energies 32.890 KeV to 13.596 KeV. *Materials Today: Proceedings*, 3(10): 3925-3929.
- 118 : Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., et Lagarde, B. J. (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37(9) : 2496-2507.
- 119 : Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., et Ferreira, I. C. (2015).** Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*, 74(2): 648-670.
- 120 : Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N., & Houali, K. (2018).** Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate aiat (Laghouat, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(1): 147-157.
- 121 : Mehenni, R., Rahmouni, M., et Belhamel, K. (2017).** *Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale: Globularia alypum. Application pharmaceutique: solution hydro alcoolique*79(3)144-111.
- 122 : Laccourreye, O., Werner, A., Laccourreye, L., et Bonfils, P. (2017).** La phytothérapie en pratique clinique en otorhinolaryngologie: apport, limites et risques. *Annales françaises d'Oto-rhinolaryngologie et de Pathologie Cervico-faciale*, 134(2) : 90-95.
- 123 : Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., et Ould El Hadj, M. D. (2013).** Recherche Préliminaire des Sources Végétales Sahariennes à Alcaloïdes pour Usage Bio-Insecticides. *Algerian journal of arid environment*, 258(1624): 1-10.

- 124 : Al-Snafi, A. E.** (2016). Antimicrobial effects of medicinal plants (part 3): plant based review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(10) : 67-92.
- 125 : BENYOUNES, N. B., DAHMANE, T., AKNOUCHE, F., et DEMMOUCHE, K.** (2015). SCREENING PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES ALCALOÏDES DES FEUILLES DE *Peganum harmala* L. RECOLTEES DANS LA REGION DE M'SILA. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*,5 (42) : 21-30.
- 126 : BEHIDJ-BENYOUNES, N., DAHMANE, T., AKNOUCHE, F., et DEMMOUCHE, K.** (2013). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'sila. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 7(38) : 27-37.
- 127 : Bertin, É.** (2014). Les polyphénols, des actions bien au-delà du resvératrol et des effets anti-oxydants!. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49(4) : 139-140.
- 128 : Dias, M. I., Sousa, M. J., Alves, R. C., et Ferreira, I. C.** (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and Products*, 82(3): 9-22.
- 129 : Szewczyk, K., Lewandowska, U., Owczarek, K., Sosnowska, D., Gorlach, S., Koziolkiewicz, M., ... et Hrabec, E.** (2014). Influence of polyphenol extract from evening primrose (*Oenothera Paradoxa*) seeds on proliferation of Caco-2 cells and on expression, synthesis and activity of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(3): 181-191.
- 130 : Renard, C. M. G. C., Caris-Veyrat, C., Dufour, C., et Le Bourvellec, C.** (2014). Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innov. Agron*, 42(3) : 125-37.
- 131 : Amiot, M. J., Riollet, C., et Landrier, J. F.** (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5) : 476-482.
- 132 : Chebouat, E., Dadamoussa, B., Gharabli, S., Gherraf, N., Allaoui, M., Cheriti, A., ... et Zellagui, A.** (2014). Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre*, 6(3): 27-30.
- 133 : D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R.** (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4): 348-325.

- 134 : Salminen, J. P., et Karonen, M.** (2011). Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology*, 25(2): 325-338.
- 135 : Yinyang, J., Mpondo, E. M., Tchatat, M., Ndjib, R. C., Ottou, P. M., et Dibong, S. D.** (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Bios* 16(5) : 650-612
- 136 : Senchina, D. S., Hallam, J. E., Kohut, M. L., Nguyen, N. A., et Perera, M. A. D. N.** (2014). Alkaloids and athlete immune function: caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Exercise immunology review*, 20(6):236-211.
- 137 : Gershenzon, J., et Dudareva, N.** (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature chemical biology*, 3(7): 408-385.
- 138 : Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A. A., Sawahreh, R. A., et Odeh, I.** (2017). Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and alternative medicines*, 14(2): 130-141.
- 139 : Al-Snafi, A. E.** The chemical constituents and pharmacological effects of *Foeniculum vulgare*-A review.
- 140: Gorai, M., Laajili, W., Santiago, L. S., et Neffati, M.** (2015). Rapid recovery of photosynthesis and water relations following soil drying and re-watering is related to the adaptation of desert shrub *Ephedra alata* subsp. *alenda* (Ephedraceae) to arid environments. *Environmental and experimental botany*, 109(10) 113-121.
- 141 : Abeer, H.** (2011). *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, 5(16): 2297-2303.
- 142 : Parsaeimehr, A., Sargsyan, E., et Javidnia, K.** (2010). A comparative study of the antibacterial, antifungal and antioxidant activity and total content of phenolic compounds of cell cultures and wild plants of three endemic species of *Ephedra*. *Molecules*, 15(3): 1668-1678.
- 143: Hegazi, G. A. E., et El-Lamey, T. M.** (2011). In vitro production of some phenolic compounds from *Ephedraalata* Decne. *J Appl Environ Biol Sci*, 1(8): 158-163..
- 144 : Hegazi, G. A. E., et El-Lamey, T. M.** (2011). In vitro production of some phenolic compounds from *Ephedraalata* Decne. *J Appl Environ Biol Sci*, 1(8): 158-163.

- 145 : Ehtesham-Gharaee, M., Hoseini, B. A., Khayyat, M. H., Emami, S. A., Asili, J., Shakeri, A., ... et Behravan, J. (2017).** Essential oil diversity and molecular characterization of Ephedra species using RAPD analysis. *Research Journal of Pharmacognosy*, 4(3) : 27-21.
- 146 : Ibragic, S., et Sofić, E. (2015).** Chemical composition of various Ephedra species. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 15(3) : 21.
- 147 : Attard, E., et Vella, K. (2009).** Effects of ephedrine and Ephedra fragilis crude extracts on human peripheral lymphocytes. *Pharmacognosy Research*, 1(2) : 38-42.
- 148 : McCooeye, M., Ding, L., Gardner, G. J., Fraser, C. A., Lam, J., Sturgeon, R. E., et Mester, Z. (2003).** Separation and quantitation of the stereoisomers of ephedra alkaloids in natural health products using flow injection-electrospray ionization-high field asymmetric waveform ion mobility spectrometry-mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 75(11) : 2538-2542.
- 149 : Ghanem, S., et El-Magly, U. I. (2008).** Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal Ephedra alata male plant. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 3(1): 7-15.
- 150: Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., et Bousselsela, H. (2014).** Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de Marrubium vulgare L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2) : 64-74.
- 151 : Jaradat, N., Hussen, F., et Al Ali, A. (2015).** Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of Ephedra alata Decne. *J Mater Environ Sci*, 6(6) : 1771-8.
- 152 : Rodríguez-Pérez, J., Larrinaga, A. R., et Santamaría, L. (2012).** Effects of frugivore preferences and habitat heterogeneity on seed rain: a multi-scale analysis. *PLoS One*, 7(3): 33246-3322 .
- 153 : Rodríguez-Pérez, J., Larrinaga, A. R., et Santamaría, L. (2012).** Effects of frugivore preferences and habitat heterogeneity on seed rain: a multi-scale analysis. *PLoS One*, 7(3): 33246-33219.
- 154 : Celedón-Neghme, C., Santamaría, L., et González-Teuber, M. (2016).** The role of pollination drops in animal pollination in the Mediterranean gymnosperm Ephedra fragilis (Gnetales). *Plant ecology*, 217(12): 1545-1552.

- 155 : Caruso, G., Uzunov, D., Gangale, C., et Pignotti, L. (2012).** Distribution of the genus Ephedra (Ephedraceae) in Calabria (S Italy). *Botanica Serbica*, 36(1) : 15-21.
- 158: NackM et Shahidi F (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(8): 1523–1542
- 159: Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006.**
Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, 97(5): 654-660.
- 160 : Ainsworth EA et Gillespie KM (2007).** Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(36): 875-877.
- 161: Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH.** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002; 50(10): 3010-3014
163: Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L. I., et Barka, N. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d’*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus*. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(3) :45-31 .
- 164: BOUTERFAS, K., MEHDADI, Z., LATRECHE, A., HAZEM, Z., et BOUREDJA, N.** Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31) : 230-200.
- 165: Sérémé, A., Millogo Rasolodimby, J., Guinko, S., et Nacro, M. (2008).** Concentration en tanins des organes de plantes tannifères du Burkina Faso. *J. Soc. Ouest.-Afr. Chim*, 25(55) : 61-166
- 167 :. Rani, A.A., Punitha, S.M.J., Rema, M. (2014).** Anti-inflammatory activity of flower extract of *cassia auriculata* – an in-vitro study. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 4(1):57-60.
- 168: Shobana, S. et Vidhya, R. (2016).** Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum* (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5): 1182–1196

169: Habibur Rahman., Chinna Eswaraiah, M., Vakati, K. et Madhavi, P. (2012).

In-vitro studies suggest probable mechanism of Eucalyptus oil for anti-inflammatory and anti-arthritic activity. *Int J Phytopharm*, 2(3): 81-83.

170: Labu, Z.K., Laboni, F.R., Tarafdar, M., Howlader, M.S.I. et Rashid, M.H.

(2015). Membrane stabilisation as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of *Spondias pinanata* (family: Anacardiaceae).

PhOL, 2(8): 44-51.

171: Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., et Khebri, S. (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* *Lebanese Science Journal*, 11(1) : 69-81.

172: Wided, K., Hassiba, R., et Mesbah, L. (2014). Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pak J Pharm Sci*, 27(6) : 1891-1897.

173 : Bougandoura, N., et Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technology*, 36 (9) : 14-22

174 : Kumar G P et Singh S B (2011). Antibacterial and Antioxidant Activities of Ethanol Extracts from Trans Himalayan Medicinal Plants. *European Journal of Applied Sciences*, 3(5) : 53-57.

175: Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *NigellasativaL.* (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigellasativa L.*). *J.M.E.S.C.N*, 2015; 6 (4):1111-1117

176: Ndiaye, M., Gy, S. Y., Dièye, A. M., Touré, M. T., et Faye, B. (2006). EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE DE FEUILLES D'ANNONA RETICULATA (ANNONACEAE) SUR L'ŒDÈME AIGU DE LA PATTE DE RAT INDUIT PAR LA CARRAGÉNINE. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 14(6) :179-186.

- 177 : Jamil, M., Mirza, B., Yasmeen, A., et Khan, M. A.** (2012). Pharmacological activities of selected plant species and their phytochemical analysis. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(37):5013-5022.
- 178 : Caveney, S., Charlet, D. A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., et Starratt, A. N.** (2001). New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). *American journal of botany*, 88(7) : 1199-1208.
- 179 : Cerdán, M., Sánchez-Sánchez, A., Jordá, J. D., Amat, B., Cortina, J., Ruiz-Vicedo, N., et El-Khattabi, M.** (2016). Characterization of water dissolved organic matter under woody vegetation patches in semi-arid Mediterranean soils. *Science of the Total Environment*, 553(9) : 340-348.
- 180 : Ottaviano, F. G., Tang, S. S., Handy, D. E., et Loscalzo, J.** (2009). Regulation of the extracellular antioxidant selenoprotein plasma glutathione peroxidase (GPx-3) in mammalian cells. *Molecular and cellular biochemistry*, 327(6) :1-2
- 181: Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Lema, J.M.** (2000). Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 : 3890-3997.
- 182 : Ignat I, Volf I etPopa IV** (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(10): 1821-1835
- 183: Bonnaille C., Salacs M., Vassiliova E et Saykova I.** (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir des pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L). *Revue de génie industriel*. 7(2) : 35-45.
- 184 : BOUTERFAS, K., MEHDADI, Z., LATRECHE, A., HAZEM, Z., et BOUREDJA, N.** Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31) : 465-322.
- 185 : D Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R.** (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4) : 348.

- 186 : Amiot, M. J., Riollet, C., et Landrier, J. F. (2009).** Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5) : 476-482.
- 187 : Mbaihougadóbé, S., Ngakegni-Limbili, A. C., Gouollaly, T., Koane, J. N., Ngaiissona, P., Loumpangou, C. N., ... et Ouamba, J. M. (2017).** Evaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18(2) : 28-35.
- 188: Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., et Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4) : 654-660.
- 189 : Dhawan, V. (2014).** Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations. In *Studies on Respiratory Disorders* 55(2). 27-47.
- 190 : Viuda-Martos M., Fernández-López J et Pérez-Álvarez JA. (2010).** Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health. *A Review Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9: 635–654
- 191: Moreno, M. M., Garidel, P., Suwalsky, M., Howe, J., et Brandenburg, K. (2009).**
The membrane-activity of ibuprofen, diclofenac, and naproxen: a physicochemical study with lecithin phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*, 1788(6) : 1296-1303.
- 192 : Rahmani, S., Cheriti, A., Belboukhari, N., et Sekkoum, K. (2016).** evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *limoniastrum feei* (plumbaginacea). *algerian journal of arid environment "ajae"*, 6(1), 80-86.
- 193: Vidhya, R., et Udayakumar, R. (2016).** phytochemical screening and evaluation of in vitro haemolytic, thrombolytic and antiinflammatory activities of *aerva lanata* (L.). *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 6(7), 5965-5973.

- 194: Madrigal-Carballo S., Rodriguez G., Krueger C., Dreher M et Reed J.** (2009). “Pomegranate (*Punica granatum*) Supplements: Authenticity, Antioxidant and Polyphenols Composition. *Journal of Functional Foods*. 1(3): 324-329.
- 195 : Morris CJ.** (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods in Molecular Biology*. 225(13): 115-121.
- 196 : Chatter Riahi SR., Tarhouni et Kharrat R.** (2013). Criblage de l’effet anti-inflammatoire et analgesique des algues marines de la mer mediterrannee. *Les Archives de l’Institut Pasteur de Tunis*. 59(12)19-28
- 197 : Kumar S., Boehm J et Lee JC.** (2003). MAP kinases: molécules de signalisation clés en tant que cibles thérapeutiques pour les maladies inflammatoires. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2(9): 717-726.
- 198 : Wantana R., Tassanee N et Subhadhirasakul S.** (2009). Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *Journal of Natural Medicines*. 23(6): 290-6.
- 199 : Pereira-Leite C., Nunes C., Jamal SK., Cuccovia IM et Reis S.** (2016). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy: A Journey Toward Safety. *Medicinal Research Reviews*. 37(4): 802–859
- 200 : Olajide OA., Awe SO., Makinde JM., Ekhelar AI., Olusola A., Morebise O et Okpako DT.** (2000). Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Alstonia boonei* stem bark. *Journal of Ethnopharmacology*. 71(1-2): 179-186.
- 201 : Bamane FH., Jihan MB et Omayma ARM.** (2012). Antioxidant activities and flavonoid contents of selected plants belonging to family Loranthaceae. *African Journal of Biotechnology*. 11(78): 14380-14385.
- 202 : BenSaad LA., Kim KH., Quah CC., Kim WR et Shahimi M.** (2017). Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17: 47.
- 203 : Kim SH., Jun CD., Suk K., Choi BJ., Lim H., Park S et Shin TY.** (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicological Sciences*. 91(1): 123-131.
- 204 : Zarfeshany A., Asgary S et Javanmard SH.** (2014). Potent health effects of pomegranate.

Advanced Biomedical Research. 3: 100.

205 : Kim HP., Lim H et Kwon YS. (2017). Therapeutic potential of medicinal plants and their constituents on lung inflammatory disorders. *Biomolecules and Therapeutics*. 25(2): 91–104.

206 : Sibi PI et Ann SP. (2016). Gastroprotective effect of plumbagin and ethanolic extract of plumbaginales in experimentally-induced ulcer. *Journal of Herb Med Pharmacology*. 5(3) :92-98.

207: Devi RS., Narayan S., Vani G et Devi CSS. (2007). Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chemico-Biological Interactions*.167:71–83.

208 : Szelenyi I et Brune K. (1988). Possible role of oxygen radicals in ethanol induced gastric mucosal damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences*. 33 : 865–871.

209 : Décarir A., 1997. Role des kinines et de leurs récepteurs dans l'inflammation locale et systémique induite par la carragénine . thèse du doctorat. Université de Montréal.

210 : Firuzi O., Mladenka P., Petrucci, R., Marrosu G et Saso L. (2004). Hypochlorite scavenging activity of flavonoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.56: 801–807.

Annexe 1 :

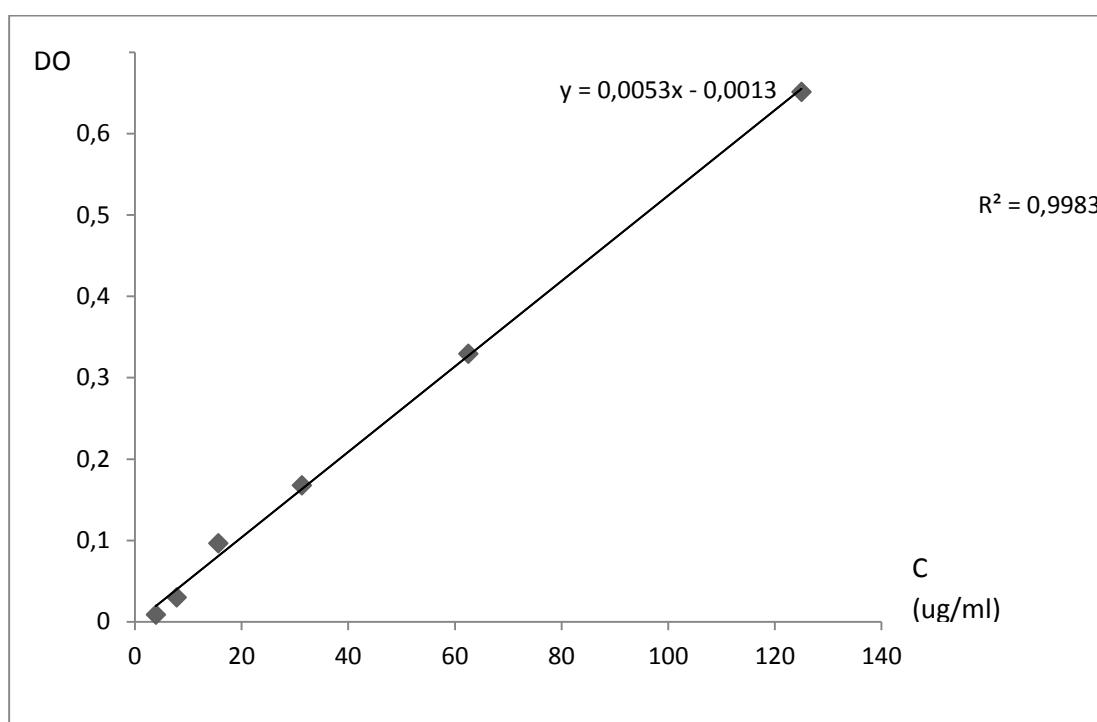


Figure1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Annexe 2 :

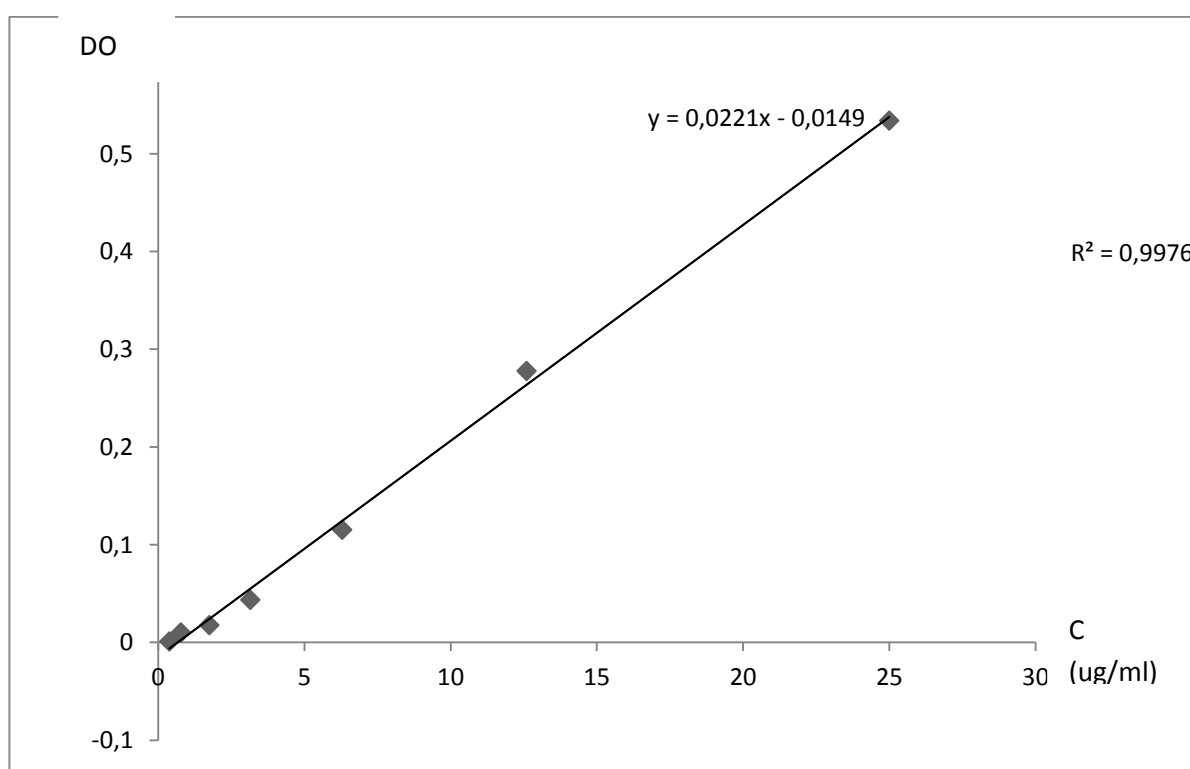


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la Quercitine

Annexe 3 :

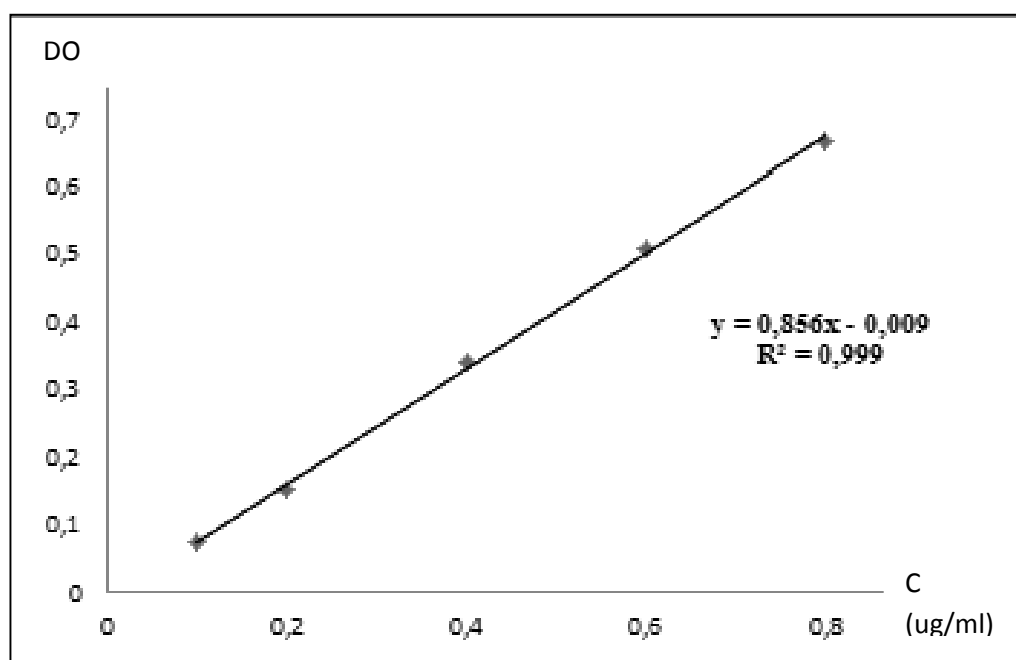


Figure 3 : Courbe d'étalonnage d'acide tannique

Annexe 4 :

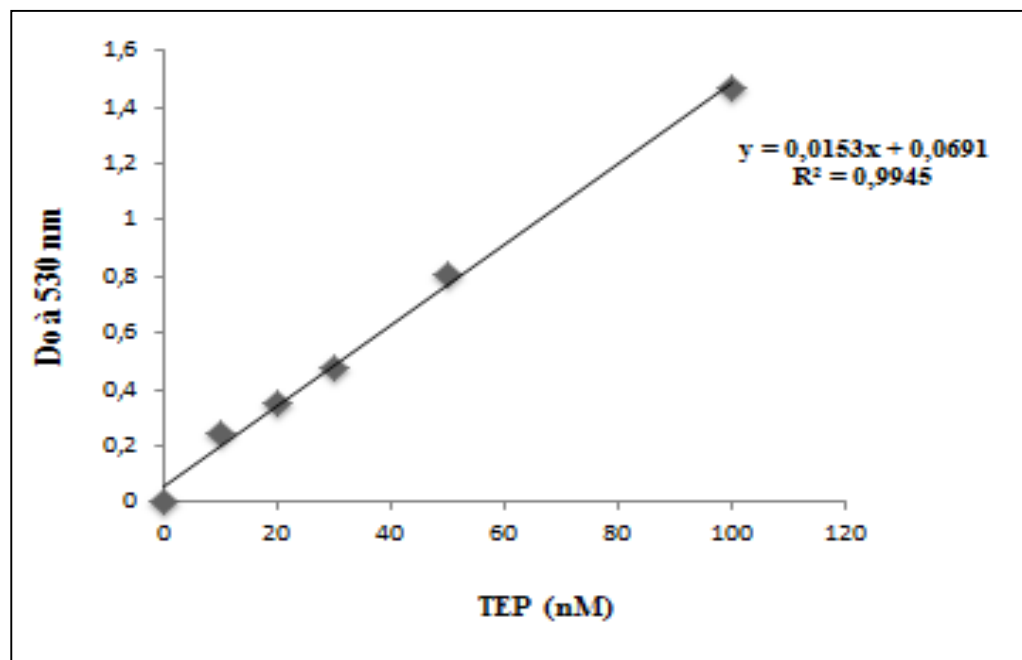


Figure 4 : Courbe d'étalonnage TEP

Annexe 5 :

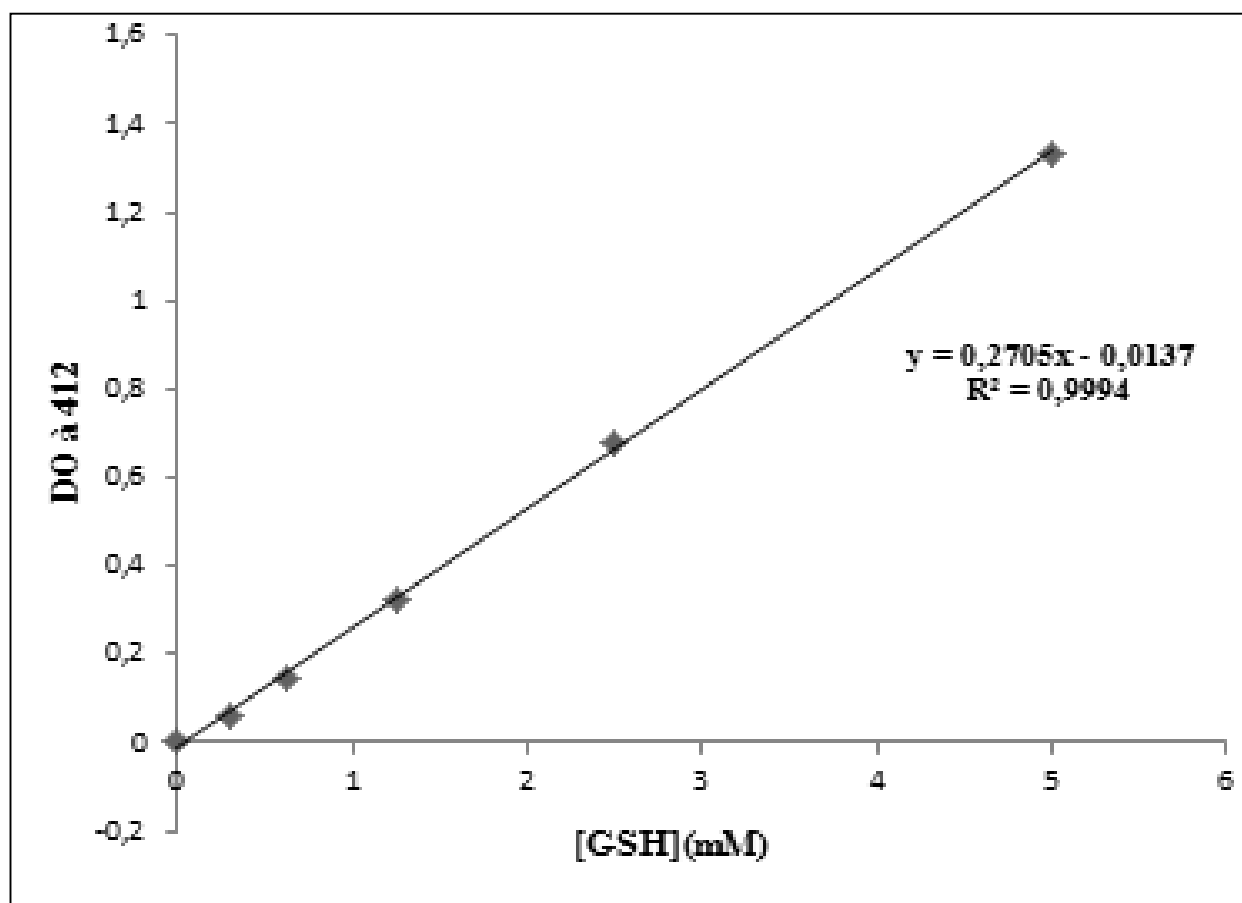


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du GSH.

Evaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* et *in vivo* de deux plantes de genre *Ephedra*

Résumé : Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire et anti-oxydante *in vivo* et *in vitro* des extraits des parties aériennes d'*Ephedra alata* et d'*Ephedra fragilis* utilisées en médecine traditionnelle. La quantité en polyphénols et en flavonoids est élevée dans les deux plantes. L'effet anti-hémolytique le plus élevé a été observé avec à une concentratin de 5000ug/ml, de plus le test du pouvoir scavenger du DPPH° a montré que les deux plantes présentent un effet anti-radicalaire. *In vivo*, on a testé l'activité anti-inflammatoire chez les souris, induite par la carragénine à 1% qu'a montré que ces plantes ont réduit l'épaisseur de l'oedème de la patte de la souris. Une élévation du MDA comme le principal marqueur de la peroxydation lipidique et une diminution des systèmes de défense antioxydant (GSH) chez les souris enflammés par contre aux souris traités par les extraits des d'*Ephedra alata* et d'*Ephedra fragilis*, ces données confirment que l'extrait de ces derniers présentent une activité anti-inflammatoire, anti-oxydante et peut devenir une nouvelle alternative thérapeutique.

Mots clés : Inflammation, Carragénine, Anti-inflammatoire, Anti-hémolytique, Antioxydant, Flavonoïdes, Polyphénols, *Ephedra alata*, *Ephedra fragilis*

Summary: The aim of this study is to evaluate the anti-inflammatory and antioxidant activities *in vivo* and *in vitro* in the extracts of the aerial parts of *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis* which are widely used in traditional medicine. The amount of phenolic compounds and flavonoids was high in both plants. The highest anti-haemolytic effect was observed in a concentration of 5000 µg / ml .the DPPH assay showed that both plants have an anti-radical effect. In addition, the anti-inflammatory activity in mice induced by 1% carrageenin showed that these plants reduced the size of the paw edema of the mouse. A high level of MDA as the main marker of lipid peroxidation and a decrease in against the mice that received the extracts of *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*, these data confirm that the extract of these plants have anti-inflammatory and antioxidant activitis. For that they can become a new therapeutic alternative.

Key words: Carragenin, Anti-inflammatory, Anti-hemolytic, Antioxidant, Flavonoids, Polyphenols, *Ephedra alata*, *Ephedra fragilis*.

المخلص:

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهابات والمضادات للاكسدة لمقتطفات من الأجزاء الهوائية للنبتين *Ephedra alata*, *Ephedra fragilis* والتي تستخدم في الطب التقليدي. كمية البوليفينول والفلافونيدات عالية في كلا النباتين. لوحظ أن كلا مستخلصي النبتتين مضاد لتحلل الكريات الحمراء للدم بنسبة كبيرة مع تركيز 5000 ميكروغرام / مل. و كذلك اختبار ال DPPH ° أظهر أن كلا النباتين يظهران تأثيراً مضاداً للراديكالية. بالإضافة إلى ذلك ، أظهر النشاط المضاد للالتهابات في الفئران الناجم عن 1 % carragénine أن هذه النباتات خفظت سمك ونمة مخلب الفأر. لوحظ ارتفاع في MDA باعتبارها علامة رئيسية من بيروكسيد الدهون وانخفاض أنظمة الدفاع المضادة للاكسدة (GSH) في الفئران الملتهبة على عكس الفئران المعالجة بمستخلص النبتتين. هذه لنتائج تبين أن مستخلص النبتتين *Ephedra alata*, *Ephedra fragilis* لهما نشاط مضاد للالتهاب و مضاد للاكسدة.

كلمات البحث: الكاراجينان، مضادة للالتهابات، مضاد لانحلال كريات الدم الحمراء، مضادة للاكسدة الفلافونويدات، بوليفينول *Ephedra alata*, *Ephedra fragilis*.