

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE

N°...../SNV/2021

THESE

Présenté par

AMROUN Djouher

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3ÈME CYCLE

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: PHYSIOLOGIE ANIMALE

THÈME

**Effets anti-inflammatoire, toxicologique et analyse phytochimique
des extraits de *Erica arborea***

Soutenue publiquement le 18/07/2021

DEVANT LE JURY

Président	AMIRA Smain	Pr UFA Sétif 1
Directeur	DAHAMNA Saliha	Pr UFA Sétif 1
Co-encadreur	KHENNOUF Seddik	Pr UFA Sétif 1
Examineurs	BENDJEDDOU Dalila	Pr UNIV Guelma
	MERGHEM Mounira	MCA UFA Sétif 1

Laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques (LPAMC)

2020/2021

Remerciements

Avant toutes choses, je tiens à exprimer ma gratitude envers DIEU, le tout puissant, pour m'avoir donné le courage, la patience et la persévérance afin d'achever ce travail.

Cette thèse nous donne l'occasion d'exprimer nos remerciements à plusieurs personnes dont l'appui a été décisif pour la réalisation ce travail.

Je tiens à remercier vivement le **Pr. Dahamna Saliha** ainsi que le **Pr. Khennouf Seddik** qui m'ont aimablement et chaleureusement accueillies au sein de leur laboratoire de recherche. Ils ont veillé à ce que je dispose de toutes les conditions pour mener à bien mon de travail. Qu'ils reçoivent l'expression de ma profonde gratitude pour la confiance qu'ils m'ont toujours accordée, leur esprit d'équipe, leur soutien, leur rigueur scientifique, disponibilité, leurs conseils et leurs incessants encouragements apportés lors de la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements aux membres des jurys qui ont accepté de juger ce travail :

Je remercie monsieur le **Pr. AMIRA Smain**, Université Ferhat Abbas Sétif 1, d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie également le Pr. **BENDJEDDOU Dalila**, de l'Université 8 Mai Guelma, et Dr. **MERGHEM Mounira**, de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, d'avoir acceptées de juger ce travail et de participer aux jurys de cette thèse. Soyez assurée de ma profonde gratitude.

Je voudrais également adresser mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'Anatomie Pathologique et spécialement **Pr. Abdellouche, Dr.Sarsaf** de m'avoir permis réaliser une partie importante de mon travail qui consiste en la réalisation des coupes histologiques.

Je remercie également les membres de l'équipe du laboratoire de Biochimie de l'établissement hospitalier spécialisé CAC de Sétif, spécialement le **Pr. Amrane Mounira** qui m'ont permis d'effectuer les dosages des différents paramètres hématologiques et biochimiques.

J'adresser mes remerciements au **Pr. Sylvie Michel** et **Dr. Boutefnouchet Sabrina** de m'avoir chaleureusement accueilli au sein leur laboratoire (CiTCoM UMR 8038 CNRS, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Équipe Produits Naturels, Analyses et

Synthèses (PNAS), Université Paris Descartes, Paris, France) et m'ont permis d'effectuer les analyses phytochimiques et ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire.

Je remercie chaleureusement les membres de notre équipe de laboratoire de Phytothérapie Appliquée au Maladies Chroniques, en particulier à Hamoudi Meriem (ma sœur de cœur) Ghedjati Samira, Nouri Alloua, Saoudi Soulef, Mayouf Nozha et Mehrous Soulef, qui m'ont permis de travailler dans un environnement de calme d'entraide et de partage.

Je remercie vivement tous mes enseignants en particulier: Daoud Harzallah, Baghiani Abderrahmane, Gemaz Thoraya, Abdelouahab Katia, Djirar Abdenacer

Je tiens également à adresser mes remerciements à Mr. SAMAH Salah et Mr. Zaidi Yahia.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à la communauté scientifique espérant qu'il lui sera utile.

Je dédie ce travail,

À mon défunt père Djamal Amroun,

Tu étais et tu seras à jamais mon modèle, ma source d'inspiration, la force qui me pousse à aller de l'avant et à me surpasser à chaque fois. Papa j'aurai tant voulu t'avoir à mes côtés en ce jour pour qu'on puisse savourer cette réussite pour laquelle nous avons œuvré ensemble. J'espère que là où tu es, tu es fière de moi. Repose en paix mon regretté Papa, puisse dieu t'accorder sa miséricorde et son vaste paradis et nous donne à nous le courage d'aller de l'avant.

À ma chère et tendre maman

La femme la plus courageuse et la plus brave qui puisse exister. Merci d'avoir œuvré pour ma réussite. Merci pour ton amour, ton assistance, ta présence dans ma vie, et pour tous les sacrifices consentis, recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mon frère et mes sœurs,

Ismail, Mina, Amal, Amel et Ines

À mon époux et ma belle-famille,

Je vous remercie pour votre soutien, votre compréhension, et de m'avoir facilité les choses pour mener à bien mon travail

A mes oncles Amirouche et Tarik, et mes tantes Samira, Malika et Djamila

Merci d'avoir été présents (es) et soutenus (es)

A toute la famille

Amroun, Bouaridj, Mallek, Rezgui, Belkessam

A tous ceux que j'aime et m'ont soutenu dans mon travail.

Djouher

Liste des travaux

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes :

Publications

Amroun, D., Hamoudi, M., Khenouf, S., Boutefnouchet, S., Harzallah, D., Amrane, M., Dahamna, S. (2020). *In-vivo* anti-inflammatory activity and safety assessment of the aqueous extract of Algerian *Erica arborea* L. (Ericaceae) aerial parts, *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113881. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113881>

Hamoudi M., **Amroun D.**, Khenouf S., & Dahamna S. (2020). Antioxidant Evaluation and Polyphenol Contents of Hydro EtHanolic Extract's Fractions from *Ephedra nebrodensis*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5-s), 314-319. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5-s.4377>

M Hamoudi., **D Amroun.**, A Baghiani., S Khenouf., S Dahamna. (2021). *In vitro* Antioxidant, Anti-inflammatory (*in vitro* and *in vivo*) and analgesic activities of hydroalcoholic extracts of *Ephedra nebrodensis* from Eastern Algeria. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. In progress.

Communications

- ✓ **AMROUN D**, Dahamna S, Hamoudi M, Khenouf S, Amira S, 2017. Evaluation of the antioxidant activity of the aqueous and hydro-methanolic of *Erica arborea*. Journées Internationales de **Biotechnologie (JIB/IDB 2017)** de l'Association Tunisienne de **Biotechnologie (A.T.Biotech)**. 18-22 Décembre, Yasmine EL Hammamet, Tunisie.
- ✓ **AMROUN D**, Dahamna S, Hamoudi M, Khenouf S, Amira S , 2018. Activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea*. **2nd International Conference on Bioanalysis: Food and Health (ISTFEH). Higher Institue Of Applied Sciences And Technology (ISSAT)**, 15 Décembre. Mahdia, Tunisie.
- ✓ **AMROUN D**, Dahamna S, Hamoudi M, Khenouf S, Amira S , 2019. Effet de la prise aigue de l'extrait hydro-éthanolique d'*Erica arborea* sur le poids corporel, paramètres biochimiques et hématologiques. **VII^{eme} Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Resouces** de l'Association Tunisienne de **Biotechnologie (AT-BVR)**, 20-23 Mars. Tabarka, Tunisie.
- ✓ **AMROUN D**, Hamoudi M, Khenouf S, Dahamna S, 2019. Evaluation de l'innocuité de l'extrait aqueux d'*Erica arborea* (ericaceees) sur les rats males Wistar. **Séminaire International Environnement et Toxicologie (Sinentox'2019)**. Université Frère Mentouri Constantine1, Laboratoire de Biologie et Environnement, 18-19 Février. Constantine, Algérie.

ملخص

Erica arborea المعروفة محليا بالخلنج ، عبارة عن شجيرة تنتمي إلى عائلة *Ericaceae* . تستخدم أجزائها الهوائية في الطب التقليدي الجزائري لأغراض مضادة للالتهابات، مدرة للبول، مضادة للميكروبات ومضادة للقرحة. إلى حد علمنا، لم تجرى أي دراسات النشاطية المضادة للالتهاب، المضادات للأكسدة، التقدير السمي على الحيوانات ، و التحليل الكيميائي للنبات، للمستخلص المائي (AQ)، الإيثانولي (EtOH) والمستخلص الهيدروإيثانولي (70% EtOH) لهذه النبتة. لهذا الغرض ، تم تصميم هذه الدراسة لتقييم التأثير الفرماكولوجي (الصيدلاني)، تقييم الخصائص المضادات للأكسدة ، تسليط الضوء على سمية هذه المستخلصات، وتعميق المعرفة في التركيب الكيميائي لهذه المستخلصات. من خلال النتائج، أبدى التقييم الفرماكولوجي لمستخلصات *E. arborea* تأثير معتبرا كمضاد للالتهابات، حيث أظهر مستخلص AQ أفضل تأثير مضاد للالتهابات مقارنة للمستخلصات الأخرى. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات النبتة من خلال أربعة اختبارات: اختبار إزاحة جذر DPPH ، ABTS، اختبار التبييض β -caroten و اختبار القدرة الإرجاعية . أظهرت النتائج أن المستخلصات المختبرة لها نشاط قوي مضاد للأكسدة و قد يعود ذلك إلي نوعية وكمية المركبات الفينولية والفلافونويد. لم تؤدي السمية الحادة لمستخلصات AQ و EtOH و 70% EtOH إلى حدوث وفيات أو آثار جانبية لدى الجرذان و هذا يشير إلى أن الجرعة المميتة 50 (DL 50) تفوق 5000 مغ/كغ. أظهرت السمية الشبه حادة (28 يومًا) للمستخلص AQ (500 / 1000 مغ/كغ) انخفاضًا معنويًا في مستويات ثلاثي الجليسيريدات لدى الجرذان الذكور والإناث، بينما لم يلاحظ أي تغيرات في المؤشرات البيوكيميائية والدموية الأخرى. كما أظهرت النتائج النسيجية المرضية بعض التغيرات في أنسجة الكبد والكلى لدى الجرذان المعاملة من كلا الجنسين بالجرعتين 500 و 1000 مغ/كغ من مستخلص AQ . كشف تحليل التركيب الكيميائي للمستخلصات عن وجود كمية عالية من المركبات الفينولية، وأدى تحليل HPLC-DAD-MS إلى تحديد كل من حمض الكلوروجينيك *p-O-5* - كوماريل كنيك و *p*-كوماريك هيكسوسيد وكذلك خمسة جليكوزيدات فلافونول: ميريسيتين بنتوسيد ، كيرسيتين -3-O- جلوكوزيد ، ميريسيتين -3-O- رامنوزيد ، كيرسيتين -3-O- بنتوسيد ، وكيرسيتين -3-O- رامنوزيد.. كخاتمة، يمكن اعتبار المستخلصات غير سامة في حالة الاستخدام الحاد بينما يُظهر مستخلص AQ سمية معتدلة في السمية شبه الحادة. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها مخبريا فعالية الاستخدام التقليدي للمستخلص المائي للخلنج في علاج الاضطرابات الالتهابية. يمكن أن تكون نبتة الخلنج مصدرًا واعدًا للمركبات الطبيعية التي يمكن دمجها في نظامنا الغذائي والتطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: *Erica arborea* ، تأثير مضاد للالتهابات، النشاط المضاد للأكسدة، السمية الحادة وفوق الحادة ، مركبات الفينولية، الفلافونويد، HPLC –DAD-MS.

Abstract

Erica arborea known as Akhlenj is a shrub, belonging to *Ericaceae* family that its aerial parts are used in Algerian traditional medicine for anti-inflammatory, diuretic and antiulcer purposes. To our knowledge, no studies reveal the combination between *in-vivo* anti-inflammatory activity, antioxidant effect, toxicological evaluation, and phytochemical characterization of the aqueous (AQ), ethanolic EtOH and hydro-ethanolic (EtOH 70%) extracts of this plant. For this purpose, this study was designed to evaluate the pharmacological activity cited above, the antioxidant effect, highlight on the toxicity of these extracts, and deepen the knowledge on and phytochemical composition of these extracts. The anti-inflammatory activity of the extracts was assessed using carrageenan induced paw edema and croton oil induced ear edema. This pharmacological investigation revealed that the *E. arborea* extracts possess a strong anti-inflammatory effect where the AQ extract displayed the best effect. The antioxidant activity of the different extracts have been evaluated by association of four tests: DPPH scavenging test, radical cation ABTS⁺, β -carotene bleaching test and reducing power. The results showed that the extracts have a strong antioxidant activity that can be attributed to the quality and quantity of the phenolic and flavonoid compounds. Acute administration of the AQ, EtOH and EtOH 70% extracts did not reveal any mortality or side effects indicating that the lethal dose 50 (LD₅₀) is above 5000 mg/kg. Repeated administration (28 days) of the AQ extract (500 and 1000 mg/kg) showed a significant reduction in triglyceride levels in male and female rats, while no significant changes in other biochemical and hematological parameters were observed. Histopathological damages were observed in liver and kidney tissues of animals of both sexes treated with 500 and 1000 mg/kg dose of the AQ extract. HPLC-DAD-MS analysis led to the identification of phenolic acids and derivatives such as chlorogenic acid 5-*O*-*p*-coumaroylquinic acid and *p*-coumaric hexoside acid and five flavonol glycosides: myricetin pentoside, quercetin-3-*O*-glucoside, myricetin-3-*O*-rhamnoside, quercetin-3-*O*-pentoside, and quercetin-3-*O*-rhamnoside. The extracts can be considered non-toxic in acute administration while the AQ extract shows moderate toxicity in sub-acute administration. The results obtained in the anti-inflammatory study corroborate the traditional use of *E. arborea* aqueous extract to treat inflammatory disorders. This plant can be considered as promising source of natural compounds that can be incorporated into our diet and pharmaceutical applications.

Key words: *Erica arborea*, anti-inflammatory activity, antioxidant activity, acute toxicity, sub-acute toxicity, antioxidant activity, phenolic compounds, Flavonoids, HPLC-DAD-MS.

Résumé

Erica arborea connue sous le nom vernaculaire Akhlendj, est un arbuste de la famille des *Ericaceae* dont les parties aériennes sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne comme agents anti-inflammatoire, diurétique, antimicrobien et antiulcéreux. A notre connaissance, aucune étude ne combine entre l'effet anti-inflammatoire, antioxydant, toxicologique, et la caractérisation phytochimique des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de cette plante. A cet effet, notre thématique de recherche a pour objectifs d'évaluer l'activité pharmacologique citée précédemment, l'effet antioxydant, d'établir le profil toxicologique, et de prendre connaissance des composés phytochimiques de ces extraits. L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in-vivo* des trois extraits a été réalisée en utilisant deux modèles expérimentaux : l'œdème plantaire provoqué par la carragénine et l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton. L'administration orale des trois extraits (250 et 500 mg/kg) réduit significativement l'œdème plantaire et auriculaire. Cependant, l'extrait AQ montre un effet plus important. L'activité antioxydante des différents extraits d'*E. arborea* a été déterminée par l'association de plusieurs tests tels que le test du DPPH, ABTS, test du blanchiment du β -carotène et le pouvoir réducteur. Les résultats ont montré que les extraits possèdent une forte activité antioxydante qui peut être attribuée à la qualité et quantité des composés phénoliques et flavonoïdes. L'évaluation toxicologique des différents extraits a permis de démontrer que leur administration aiguë n'induit ni mortalité ni effets indésirables indiquant que la DL_{50} est supérieure à 5000 mg/kg. L'administration répétée (28 jours) de l'extrait AQ (500 et 1000 mg/kg) a montré une réduction significative des niveaux de triglycérides chez les rats mâles et femelles alors qu'aucune altération significative des autres paramètres biochimiques et hématologiques n'a été observée. Des dommages histo-pathologiques ont été observés dans les tissus hépatiques et rénaux des rats des deux sexes traités avec la dose 500 et 1000 mg/kg de l'extrait AQ. L'analyse HPLC-DAD-MS a permis d'identifier des acides phénolique dont l'acide chlorogénique, l'acide *p*-coumarique hexaside et l'acide 5-*O-p*-coumaroylquinique et cinq flavonols glycosides : myricétine pentoside, quercétine-3-*O*-glucoside, myricétine-3-*O*-rhamnoside, quercétine-3-*O*-pentoside et quercétine-3-*O*-rhamnoside. Nos extraits peuvent être considérée comme non toxiques en administration aiguë tandis que l'extrait AQ présente une toxicité modérée en administration subaiguë. Les résultats obtenus lors de l'étude anti-inflammatoire corroborent l'utilisation traditionnelle de l'extrait AQ d'*E. arborea* pour traiter les troubles inflammatoires. Ainsi, cette plante peut être considérée comme une source prometteuse de composés naturels qui peuvent être incorporés dans notre alimentation et les applications pharmaceutiques.

Mots clefs : *Erica arborea*, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante, toxicité aiguë, toxicité subaiguë, polyphénols, flavonoïdes, HPLC-DAD-MS.

Liste des figures

Figure 1: Passage de l'inflammation aiguë à l'inflammation chronique.	7
Figure 2: Classification des AINS selon leur structure.	9
Figure 3: Structure de base des flavonoïdes et leurs classes	21
Figure 4: Structure des acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques	23
Figure 5: Structure chimique du resvératrol (El khawand <i>et al.</i> , 2018).	25
Figure 6 : Groupes des lignanes (Ar=Aryl).....	25
Figure 7: Organisation du lobule hépatique	31
Figure 8: Coupe d'un rein	33
Figure 9: Schéma de la structure du néphron.....	34
Figure 10: Photos de la partie aérienne d' <i>Erica arborea</i> (Feuilles et fleurs).....	37
Figure 11: Photo d' <i>Erica arborea</i> prise en pleine forêt de Yakouren.	40
Figure 12: Photos de la partie aérienne (fleurs et feuilles) d' <i>Erica arborea</i>	40
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	44
Figure 14: Courbe d'étalonnage de la quercétine.	45
Figure 15: Teneur en composés phénoliques (TCP) des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i>	57
Figure 16: Teneur en flavonoïdes totaux (TFT) des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i>	57
Figure 17: Plaques CCM des extraits AQ (A), EtOH (B) et EtOH 70% (C) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> révélées à la vanilline.....	58
Figure 18: Plaques CCM des extraits AQ (D), EtOH (E) et EtOH 70% (F) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> révélées au réactif de Neu.	58

Figure 19: Plaques CCM des extraits AQ (G), EtOH (H) et EtOH 70% (I) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> observées sous lampe UV à 254 nm.	58
Figure 20: Plaques CCM des extraits AQ (J), EtOH (K) et EtOH 70% (L) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> pulvérisées au réactif de Neu, séchées puis observées sous lampe UV à 366 nm.	59
Figure 21: Profil chromatographique de l'extrait AQ de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> détecté à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS.	60
Figure 22: Profil chromatographique de l'extrait EtOH de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> détecté à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS..	61
Figure 23: Profil chromatographique détecté à 280 nm de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> analysé par HPLC-DAD-MS	62
Figure 24: Activité anti-radicalaire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea vis-à-vis</i> du radical libre DPPH·	63
Figure 25: Activité anti-radicalaire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea vis-à-vis</i> du radical libre ABTS ^{·+}	64
Figure 26: Pourcentage d'inhibition du blanchiment du β-carotène par les extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i>	65
Figure 27: Pouvoir réducteur des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i>	66
Figure 28: Effet de la prise unique des extraits AQ (A), EtOH (B) et EtOH 70% (C) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> sur le poids corporel des rats mâles et femelles.....	67
Figure 29: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait AQ (2000 et 5000 mg/kg) de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	68

Figure 30: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses uniques de l'extrait AQ de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	69
Figure 31: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait EtOH de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	69
Figure 32: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses uniques de l'extrait EtOH de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	70
Figure 33 : Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	70
Figure 34: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses unique de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine)..	71
Figure 35 : Évolution du poids corporel des rats mâles et femelles traités par l'extrait AQ de la partie aérienne <i>d'E. arborea</i> pendant 28 jours de traitement.	72
Figure 36: Prise alimentaire et ingestion d'eau chez les rats mâles durant la période de traitement à l'extrait AQ..	73
Figure 37: Prise alimentaire et ingestion d'au chez les rats femelles pendant la période de traitement à l'extrait AQ..	73
Figure 38: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles (A) et femelles (B) administrés avec l'extrait AQ (250, 500 et 1000 mg/kg) pendant 28 jours observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine).	78

Figure 39: Effet anti-inflammatoire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH70%) de la partie aérienne d'E. arborea sur l'œdème auriculaire induit par l'huile de croton chez la souris.. 79

Figure 40: Evolution de l'inflammation (œdème plantaire) en fonction du temps pour les différents groupes : A : extrait aqueux (AQ) ; B : extrait éthanolique (EtOH) ; C : extrait hydro-éthanolique (EtOH 70%) ; D : Acide chlorogénique 0.2 % (Acd chlo) et quercétrine 1%..... 82

Figure 41: Effet anti-inflammatoire des extraits AQ (A) , EtOH (B), EtOH 70% (C) de l'acide chlorogénique (0.2%) et de la quercétrine (1%) (D) sur l'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris.. 83

Liste des tableaux

Tableau 1: Médiateurs de l'inflammation leur origine cellulaire et leurs effets biologiques... 8	8
Tableau 2: Classification des AINS selon leur inhibition sélective des COX 9	9
Tableau 3 : Classification des espèces réactives..... 12	12
Tableau 4: Sources endogènes des ERO/ERN..... 13	13
Tableau 5: Critères de classification de la toxicité aiguë selon le SGH 28	28
Tableau 6: Rendement d'extraction, couleur et aspect des extrais AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> 56	56
Tableau 7: Identification putative des composés phénoliques contenus dans l'extrait AQ détectés à 280 nm des extraits AQ analysés par HPLC-DAD-MS. 60	60
Tableau 8: Identification putative des composés phénoliques contenus dans l'extrait EtOH détectés à 280 analysés par HPLC-DAD-MS 61	61
Tableau 9: Identification putative des composés phénoliques contenus dans l'extrait EtOH 70% détectés à 280 nm analysés par HPLC-DAD-MS..... 62	62
Tableau 10: Poids relatif des organes des rats mâles et femelles traités à l'extrait aqueux (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours..... 74	74
Tableau 11: Paramètres hématologiques des rats mâles et femelles traités à l'extrait AQ de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours.75	75
Tableau 12: Paramètres biochimiques des rats mâles et femelles traités à l'extrait AQ de la partie aérienne d' <i>E. arborea</i> (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours.76	76
Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème plantaire chez les souris traitées par les extraits AQ, EtOH, EtOH 70%, de l'acide chlorogénique, de la quercétrine et du Diclofenac (100 mg)..... 81	81

Liste des abréviations

·OH : Radical hydroxyl

¹O₂ : Oxygène singulet

ABTS^{·+} : 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Acd chlo : Acide chlorogénique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturé

AH : Artère hépatique

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

ALT : Alaline aminotransférase

AQ : Aqueux

ARN : Acide ribonucléique

AST : Aspartate aminotransférase

BC : Ballonisation cellulaire

BHT : Hydroxytoluène butylé

CAT : Catalase

CB : Canal biliaire

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

COX : cyclo-oxygénase

CV : Congestions vasculaires

Dic : Diclofenac

DL₅₀ : Dose létale 50

DPPH •• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent acide gallique

EB : Espace de BOWMAN

EP : Espace porte

EQ : Equivalent quercétine

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EtOH : Extrait éthanolique

EtOH 70% : Extrait hydro-éthanolique

FDA : Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

GPx : Glutathion peroxidase

GR : Glomérule

GSH : Glutathion

GSSG : Disulfure de glutathion

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂O₂• : Peroxyde d'hydrogène

HAT : Transfert d'atomes d'hydrogène

HNO₂ : Acide nitreux

HO₂• : Hydroperoxyl

HOCL : Acide hypochlorure

HPLC-DAD-MS : Chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à barettes de diodes et à la spectrométrie de masse

IF : Infiltrat inflammatoire

IL : Interleukine

IRC : Insuffisance rénale chronique

J : Jours

LP : Littérature publiée

LSN : Limite supérieur normal

MBPs : Protéines de liaison aux métaux

MeOH : Méthanol

ms : Masse

N₂O₃ : Trioxyde de diazote

N₂O₄ : Peroxyde d'azote

NO⁻ : Anion nitroxyl

NO⁺ : Cation nitroxyl

NO• : Monoxyde d'azote

NO^{2•} : Dioxyde d'azote

NO^{3•} : Ion nitrate

O₂^{•-} : Superoxide

O₃ : Ozone

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONAB : Office National des Aliments du Bétail

ONOO[•] : Peroxynitrite

P : Plaque

PAL : Phosphatase alcaline

PC : Poids corporel

PKc : Protéine kinase C

PLA2 : Phospholipase A2

PRO : Poids relatif des organes

QUER : Quercetine

R : Retressissement de l'espace de BOWMAN

RAF : Formation d'adduit radicalaire

RO[•] : Radical alkoxy

ROO[•] : Radical peroxy

S : Semaine

SD : Standard deviation

SE : Standard externe

SEM : Erreur standard moyenne

SGH : Système Général Harmonisé

SOD : Superoxyde dismutase

SPELET : Transfert d'électrons par perte de protons séquentielle

TCP : Teneur en composés phénoliques

TFT : Teneur en flavonoids totaux

TNF : Facteur de nécrose tumorale

t_r : Temps de rétention

UV : Ultra-violet

VCL : veine centro-lobulaire

VP : Veine porte

λ max : maximum d'absorbtion

Sommaire

Introduction.....	1
1 Inflammation.....	5
1.1 Généralités.....	5
1.2 Médiateurs de l'inflammation.....	7
1.3 Thérapeutique de l'inflammation.....	7
1.3.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	7
1.3.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS.....	10
1.3.3 Les anti-inflammatoires d'origine naturelle.....	10
2 Stress oxydatif.....	11
2.1 Espèces réactives de l'oxygène et espèces réactives de l'azote.....	11
2.2 Sources des ERO/ERN.....	12
2.3 Conséquences du stress oxydatif/nitrosatif.....	13
2.4 Système de défense antioxydant.....	15
2.4.1 Système antioxydants endogènes.....	15
2.4.1.1 Enzymatique.....	15
2.4.1.2 Non-enzymatique.....	16
2.4.2 Système antioxydants exogènes.....	17
3 Métabolites secondaires et polyphénols.....	19
3.1 Structure et classification des polyphénols.....	20
3.1.1 Flavonoïdes.....	20
3.1.2 Polyphénols non-flavonoïdes.....	22
3.1.2.1 Acides phénoliques.....	22
3.1.2.2 Tanins.....	23
3.1.2.3 Stilbenes.....	24
3.1.2.4 Lignanes.....	25
3.1.2.5 Xanthones.....	26

4	Toxicité des plantes médicinales	26
4.1	Evaluation de la toxicité des plantes médicinales	27
4.1.1	Test de toxicité aiguë.....	28
4.1.2	Test de toxicité subaiguë	29
4.2	Organes cibles.....	30
4.2.1	Le foie : anatomie, histologie et fonctions	30
4.2.2	Hépatotoxicité des plantes médicinales.....	31
4.2.3	Rein : anatomie, histologie et fonction.....	32
4.2.4	Néphrotoxicité des plantes médicinales	34
5	<i>Erica arborea</i>.....	36
5.1	Caractéristiques de l'espèce <i>Erica arborea</i>	36
5.1.1	Noms vernaculaires	36
5.1.2	Taxonomie.....	36
5.1.3	Description botanique et répartition.....	37
5.2	Utilisation traditionnelle	37
5.3	Composition phytochimique.....	38
5.4	Aspect socio-économique d' <i>E. arborea</i>	38

Matériel et méthodes

1	Matériel.....	40
1.1	Matériel végétal	40
1.2	Animaux d'expérimentation	41
1.3	Réactifs et appareillage.....	41
2	Méthodes.....	42
2.1	Préparation des extraits bruts d' <i>E. arborea</i>	42
2.1.1	Extrait aqueux (AQ).....	42
2.1.2	Extrait éthanolique (EtOH)	42

2.1.3	Extrait hydro-éthanolique (EtOH70 %)	42
2.2	Mise en évidence des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les extraits d' <i>E. arborea</i>	43
2.2.1	Analyses spectrophotométriques	43
2.2.1.1	Détermination de la teneur totale en polyphénols	43
2.2.1.2	Détermination de la teneur en flavonoïdes	44
2.2.2	Analyses chromatographiques	45
2.2.2.1	Chromatographie sur couche mince	45
2.2.2.2	HPLC-DAD-MS	46
2.3	Activité antioxydante <i>in-vitro</i> des extraits d' <i>E. arborea</i>	46
2.3.1	Test de l'effet scavenger du radical DPPH	46
2.3.2	Test de piégeage du radical ABTS ⁺	47
2.3.3	Test de blanchissement du β-carotène	48
2.3.4	Pouvoir réducteur	49
2.4	Études <i>in-vivo</i>	49
2.4.1	Études toxicologiques des extraits d' <i>E. arborea</i>	49
2.4.1.1	Evaluation de la toxicité aiguë des extraits d' <i>E. arborea</i> chez le rat	49
2.4.1.1.1	Observations	50
2.4.1.1.2	Poids corporel	50
2.4.1.1.3	Etude histopathologique du foie et des reins	50
2.4.1.2	Evaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait AQ d' <i>Erica arborea</i> chez le rat	51
2.4.1.2.1	Poids corporel, prise alimentaire et ingestion d'eau	51
2.4.1.2.2	Prélèvements sanguins	51
2.4.1.2.2.1	Analyse des paramètres hématologiques	51
2.4.1.2.2.2	Analyse des paramètres biochimiques	52
2.4.1.2.3	Poids relatif des organes	52
2.4.1.2.4	Étude histopathologique du foie et des reins	52

2.4.2	Effet anti-inflammatoire	52
2.4.2.1	Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton	52
2.4.2.2	Œdème de la patte induit par le carragénine	53
3	Analyse statistique	54

Résultats

1	Rendement des extractions.....	56
2	Mise en évidence des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les extraits d'<i>E. arborea</i>	56
2.1	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	56
2.2	Chromatographie sur couche mince	57
2.3	HPLC-DAD-MS	59
3	Activité antioxydante <i>in-vitro</i> des extraits d'<i>E. arborea</i>	63
3.1	Piégeage du radical DPPH [•]	63
3.2	Piégeage du radical ABTS ^{•+}	63
3.3	Test du blanchiment du β-carotène.....	64
3.4	Test du pouvoir réducteur.....	65
4	Études toxicologiques.....	66
4.1	Toxicité aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%	66
4.2	Effet de la prise aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% sur le poids corporel des animaux	66
4.3	Effet de la prise aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d' <i>E. arborea</i> sur l'histologie du foie et des reins.....	68
4.4	Toxicité subaiguë de l'extrait AQ	71
4.4.1	Effet de la prise subaiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% sur poids corporel des animaux	71
4.4.2	Effet du traitement subaigu à l'extrait AQ sur la prise alimentaire et l'ingestion d'eau chez les rats mâles et femelles	72

4.4.3	Effet de la prise subaiguë de l'extrait AQ sur le poids relatif des organes	74
4.4.4	Analyses hématologiques et biochimiques du plasma des rats	75
4.4.5	Histopathologie des tissus hépatiques et rénaux	77
5	Activité anti-inflammatoire <i>in-vivo</i> des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%	79
5.1	Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton	79
5.2	Œdème de la patte induit par le carragénine.....	79

Discussion

1	Extraction et rendement	85
2	Identification des composés phytochimiques des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d' <i>E. arborea</i>	86
3	Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et activité anti-oxydante des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d' <i>E. arborea</i>	86
4	Evaluation toxicologique des extraits AQ, EtOH et EtOH 70 %	88
5	Etude de l'effet anti-inflammatoire des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d' <i>E. arborea</i>	91
	Conclusion.....	94
	Références Bibliographiques.....	97

Introduction

Au cours de ces dernières années, l'incidence des maladies inflammatoires est en nette progression et devient un véritable fléau mondial. Dans les conditions normales, l'inflammation est un processus physiologique auto-limitatif, toutefois, dans certain cas pathologique l'inflammation peut persister et s'avérer incontrôlable laissant place à l'apparition de diverses maladies inflammatoires chroniques telles que le psoriasis, l'athérosclérose et l'arthrite (Ricklin et Lambris, 2013; Bardaa *et al.*, 2020).

Le stress oxydatif est en grande partie responsable de l'apparition de plusieurs maladies chroniques telles que les maladies inflammatoires, l'hypertension, le cancer, le diabète, le vieillissement et les troubles neuro-dégénératifs (Nardi *et al.*, 2016). La relation interdépendante entre l'inflammation et le stress oxydant est de nos jours bien connue. En effet, une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) au cours du processus inflammatoire fait d'eux de véritables médiateurs qui contribuent à initier ou accentuer l'inflammation (Biswas, 2016). Actuellement, le traitement conventionnel de l'inflammation repose principalement sur la prescription d'anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes. Leur utilisation prolongée provoque plusieurs effets indésirables dont des troubles gastro-intestinaux et cardiovasculaire, c'est pourquoi la recherche de nouvelles molécules d'origine naturelle relativement efficaces, non toxiques et moins coûteuses substitutives à ses traitements est devenue l'une des premières préoccupations du monde pharmaceutique (Cordaro *et al.*, 2020)..

A l'heure actuelle, le recours aux plantes médicinales pour leur effets thérapeutiques suscite un grand intérêt dans les pays développés et émergents (Agisho *et al.*, 2014). En effet, l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2013) indique que 80 % de la population mondiale utilisent ces végétaux pour traiter plusieurs pathologies. Les herbes thérapeutiques représentent une source incontournable de molécules bioactives tels que les polyphénols. Ces derniers constituent un groupe de composés naturels dotés d'importantes propriétés antioxydante et anti-inflammatoire (Saxena *et al.*, 2013; Ansari *et al.*, 2020).

L'Algérie est riche en remèdes fait à base de plantes médicinales, et détient un grand savoir-faire en phytothérapie traditionnelle (Bouzabata, 2016). Cette pratique ancestrale revient d'une part, à son couvert végétal riche en plantes médicinales et aromatiques, et d'autre part à sa localisation géographique stratégique qui, au fil des siècles, a permis un brassage de différentes cultures: Berbère, gréco-romaine, et islamique (Hadjadj *et al.*, 2015). De nos jours, la pratique de la médecine traditionnelle algérienne est intimement liée à son

héritage médical arabo-musulman, en effet, certaines plantes médicinales telles que : *Pheonix dactylifera* L., *Ficus carica* L., *Olea europrea* L., *Allium sativum* sont directement tirées des textes religieux et leur utilisation restent toujours d'actualité (Bouzabata et Yavuz, 2019). Par ailleurs, la médecine traditionnelle algérienne n'a pas évolué dans un cadre règlementé, aucune politique n'a été mise en place pour l'intégrer au système de santé actuel (Bouzabata, 2016). Ainsi, en l'absence de textes légaux, les herboristes et tradipraticiens, n'ayant généralement suivis aucunes formations spécialisées, se considèrent comme des professionnelles de la santé et prétendent avoir des remèdes naturels et saints à tous types de maladies y compris les plus ravageuses tel que les cancers (Hammiche *et al.*, 2013). Par conséquent, il est devenu important de surveiller l'utilisation de ces plantes afin de détecter les éventuels effets toxicologiques (Gautam et Goel, 2014).

Parmi les plantes utilisées dans la médecine populaire algérienne, on distingue l'espèce *Erica arborea* (Ahmed *et al.*, 2017), communément appelée Akhlenj, c'est un arbuste de la famille des *Ericaceae* qui peut atteindre jusqu'à 4 mètres de hauteur (Bessah *et al.*, 2014). Elle est traditionnellement utilisée pour ses effets anti-inflammatoire, astringent (Gokhan Zengin *et al.*, 2019), diurétique, et antiulcéreux (Guendouze-Boucheffa *et al.*, 2015). Les flavonoïdes et les polyphénols sont les principaux composés phytochimiques présents dans cette plante (Guendouze-Boucheffa *et al.*, 2015). Des études récentes font état de la présence de plusieurs substances phénoliques comprenant la quercétrine (Pavlović *et al.*, 2013), de l'acide férulique (Luís *et al.*, 2011) et de la myricétine (Marquez-García *et al.*, 2009).

A notre connaissance peu d'études ont été entreprises pour confirmer l'usage traditionnel de l'*E. arborea* en tant qu'agent anti-inflammatoire, pour établir l'effet antioxydant, le profil toxicologique et pour l'analyse des constituants phytochimiques des extraits aqueux, éthanolique et hydro-éthanolique de sa partie aérienne. C'est pourquoi notre étude vise à atteindre les objectifs suivants:

- Caractérisation phytochimique des extraits AQ ; EtOH et EtOH 70% par chromatographie sur couche mince et HPLC-DAD-MS.
- Activité antioxydante *in-vitro*
 - Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%.
 - Tester la capacité des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% à piéger les radicaux DPPH.

- Tester la capacité des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% à piéger les radicaux ABTS.
 - Tester la capacité des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% à éviter le blanchiment du β - carotène.
 - Tester le pouvoir réducteur des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%.
- Etudes *in-vivo*
- Evaluation de la toxicité aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%.
 - Evaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait AQ.
 - Etude de l'effet anti-inflammatoire des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%.

Synthèse
bibliographique

1 Inflammation

1.1 Généralités

L'inflammation est la réponse biologique de l'organisme orchestrée par le système immunitaire face à une variété de stimuli et de conditions nocives tels que les irritants, les infections, les dommages cellulaires et les irradiations par les rayons ultraviolets (Phull et Kim, 2017). C'est un événement intrinsèquement bénéfique qui conduit à l'élimination des agents agresseurs et à la restauration de la structure des tissus et de la fonction physiologique (Ricciotti *et al.*, 2011).

D'après Pahwa *et al.* (2020), l'inflammation peut être divisée en trois catégories selon la durée du processus inflammatoire dans le temps. Ainsi, l'inflammation aiguë survient immédiatement après la blessure et dure quelques jours, alors que l'inflammation chronique peut durer des mois ou même des années lorsque l'inflammation aiguë n'est pas résorbée. L'inflammation subaiguë constitue la période de transformation de la forme aiguë vers la forme chronique qui peut durer de 2 à 6 semaines.

L'immunité innée est la première ligne de défense contre les stimuli inflammatoires qu'ils soient d'origine endogène ou exogène. L'inflammation aiguë est maintenant reconnue comme étant un mécanisme essentiel de la réponse immunitaire innée (Xiao, T.S, 2017). Elle est caractérisée par la succession de trois phases : vasculaire, cellulaire et résolution.

Durant la phase vasculaire, la sécrétion de médiateurs inflammatoires vasoactifs tels que l'histamine et la sérotonine par les basophiles et les mastocytes induit une augmentation du flux sanguin conduisant ainsi à l'apparition de rougeurs et de la chaleur. Il s'en suit une augmentation de la perméabilité capillaire favorisant le passage du plasma vers le foyer de l'inflammation ce qui aboutit à la formation de l'œdème. L'association de la vasodilatation, sécrétion de médiateurs moléculaires et de l'expression des molécules d'adhésion donne lieu au recrutement des phagocytes circulants par diapédèse. La phase suivante étant la phase cellulaire, consiste en la mobilisation des phagocytes circulants (neutrophiles, monocytes et macrophages) qui ont pour principale rôle l'élimination des agents pathogènes (Febvre-James, 2019).

Cependant, il arrive parfois que la réponse immunitaire innée ne soit pas suffisante pour l'élimination des stimuli inflammatoires, à cet effet, l'instauration d'une réponse immunitaire adaptative devient nécessaire. Au cours de ce processus, l'activation des lymphocytes T CD4

par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (cellules dendritiques et macrophages) induit leur différenciation en Th producteurs de cytokines. Deux types de réponses peuvent être déployés :

- La réponse à médiation cellulaire qui a pour objectif d'éliminer les cellules tumorales ou infectées. Les Th se différencient sous l'effet de IL-12, de l'interféron γ (INF- γ) ou en contact direct avec les CPA en Th1 producteur d'interleukine 2 (IL-2). Ce dernier activerait les LT CD₈ cytotoxiques qui éliminent les cellules cibles par apoptose.
- La réponse à médiation humorale au cours de laquelle des anticorps spécifiques à l'antigène sont synthétisés. Sous l'effet de l'interleukine 4 (IL4), les Th se différencient en Th2 producteurs de l'IL4 et de l'IL13, ce qui activerait les lymphocytes B qui à leur tour produiront des anticorps qui neutraliseront l'antigène pouvant être d'origine bactérienne, virale ou toxine (Febvre-James, 2019).

La résolution représente la dernière phase de l'inflammation au cours de laquelle les conditions physiologiques normales sont rétablies et ceci par le biais de la diminution de la production des médiateurs pro-inflammatoires, la sécrétion des glucocorticoïdes par les glandes surrénales et enfin par l'élimination de l'infiltrat leucocytaire. Cette phase est également reliée à la réparation tissulaire durant laquelle l'architecture et la fonction des tissus sont retrouvées. Toutefois, il est probable que l'inflammation soit mal gérée et non régulée et n'aboutit pas à une résolution efficace cédant la place à l'apparition de l'inflammation chronique (Hajjaj, 2017). Au cours de ce processus, d'innombrables molécules sont impliquées notamment les cytokines pro-inflammatoires (TNF α , l'IL-1 et l'IL-6), des prostaglandines et de l'oxyde nitrique (NO), mais aussi de plusieurs types de cellules, dont les neutrophiles, les monocytes, les macrophages, les mastocytes et les lymphocytes T. Cet assortiment de molécules agit en synergie pour optimiser la réponse inflammatoire et assurer la protection de l'organisme (Diallo, 2019). Dans le cas contraire, l'inflammation chronique peut être néfaste au sein et autour du tissu ou de l'organe favorisant l'apparition de certaines pathologies telles que le cancer, le diabète, les troubles cardiovasculaires, les maladies auto-immunes et les troubles neurodégénératifs (Ginwala *et al.*, 2019). La figure 1 ci-dessous résume le passage de l'inflammation aiguë à l'inflammation chronique.

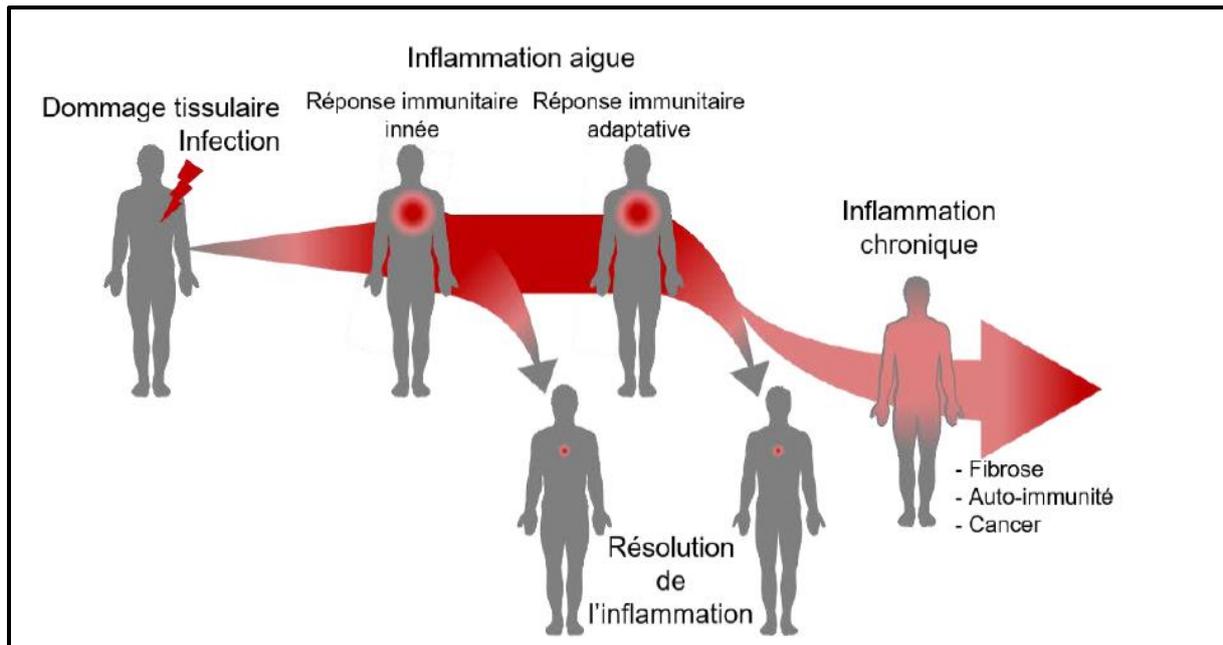


Figure 1: Passage de l'inflammation aiguë à l'inflammation chronique (Febvre-James, 2019).

1.2 Médiateurs de l'inflammation

Le processus inflammatoire est un phénomène qui met en jeu plusieurs molécules dites médiateurs de l'inflammation. Ces derniers agissent sur les acteurs de l'inflammation et interviennent dans la modulation et la régulation du processus inflammatoire. Le tableau 1, résume l'origine cellulaire et les effets biologiques des principaux médiateurs impliqués dans la réponse inflammatoire.

1.3 Thérapeutique de l'inflammation

A l'heure actuelle, les anti-inflammatoires commercialement approuvés et communément utilisés pour soulager l'inflammation sont classés en trois catégories : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les glucocorticoïdes (SAID) et les anti-inflammatoires d'origine naturelle (Romano *et al.*, 2015).

1.3.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS appartiennent à une large classe d'agents thérapeutiques aux propriétés anti-inflammatoires et analgésiques (Fokunang *et al.*, 2018). Ils représentent la classe médicamenteuse la plus utilisée sur tout chez les patients âgés de plus de 65 ans (Sostres *et al.*, 2010).

Tableau 1: Médiateurs de l'inflammation leur origine cellulaire et leurs effets biologiques (Diallo, 2019).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets biologiques
Histamine	Mastocytes, Basophiles et Plaquettes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, activation endothéliale et douleur.
Cytokines (IL-1, IL-6)	Macrophages, Mastocytes et neutrophiles	Activation endothéliale, diapédèse.
Cytokines IL-4, IL-10	Macrophages, Mastocytes et neutrophiles	Inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires et leurs effets délétères.
Tumor necrosis factor α (TNF α)	Macrophages et Mastocytes	Recrutement des globules blancs, diapédèse, effet microbicide et élimination de l'agent pathogène.
Oxyde nitrique (NO)	Macrophages et mastocytes	Effet cytotoxique sur l'agresseur et induction d'effet cytotoxique et relaxation du muscle
Prostaglandines, prostacylines et Thromboxanes	Acide arachidonique	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, douleur, fièvre, agrégation plaquettaire

Ils exercent leurs effets principalement en bloquant la synthèse des prostaglandines à partir de leur précurseur, l'acide arachidonique. Ce dernier est un composant phospholipidique des membranes cellulaires qui est libéré de celle-ci sous l'effet de la phospholipase A2 et métabolisé par la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase pour produire des métabolites lipidiques tels que les prostanoides (prostaglandines, prostacycline et thromboxane) et le leucotriènes, respectivement (Aghazadeh-Habashi *et al.*, 2017). La classification des AINS reposait initialement sur leur structure chimique où les plus populaires d'entre eux sont les principalement les dérivés de l'acide salicylique, de l'acide acétique, de l'acide énoïque, de l'acide anthranilique ou de l'acide propionique (figure 2). Toutefois, avec le développement des recherches scientifiques, cette classification s'est élargie à leur propriété inhibitrice sélective des enzymes COX 1 et COX 2 (tableau 2) (Bindu *et al.*, 2020). Selon Badri *et al.* (2016), le Diclofénac et l'Ibuprofène sont les AINS les plus utilisés dans le monde. Ils sont suivis par le Naproxène (22 %), l'Indométhacine (5 %), le Piroxicam (3 %), le Kétoprofène (2 %) et le Bénorylate (1 %).

Tableau 2: Classification des AINS selon leur inhibition sélective des COX (Bindu *et al.*, 2020)

Catégories	Sélectivité vis-à-vis de l'isoforme de la COX	AINS représentatif
Catégorie 1	COX 1 et COX 2	Indométacine, aspirine, Diclofenac, Naproxène, Ibuprofène
Catégorie 2	Sélectivité de 5 à 50 fois pour la COX 2	Meloxicam, Celecoxib, Nimesulide, Etodolac
Catégorie 3	Sélectivité supérieure à 50 fois pour la COX 2	NS-398
Catégorie 4	Faible sélectivité pour le COX 1 et la COX 2	Sulfalazine, Salicyclate de sodium, Nabumetone

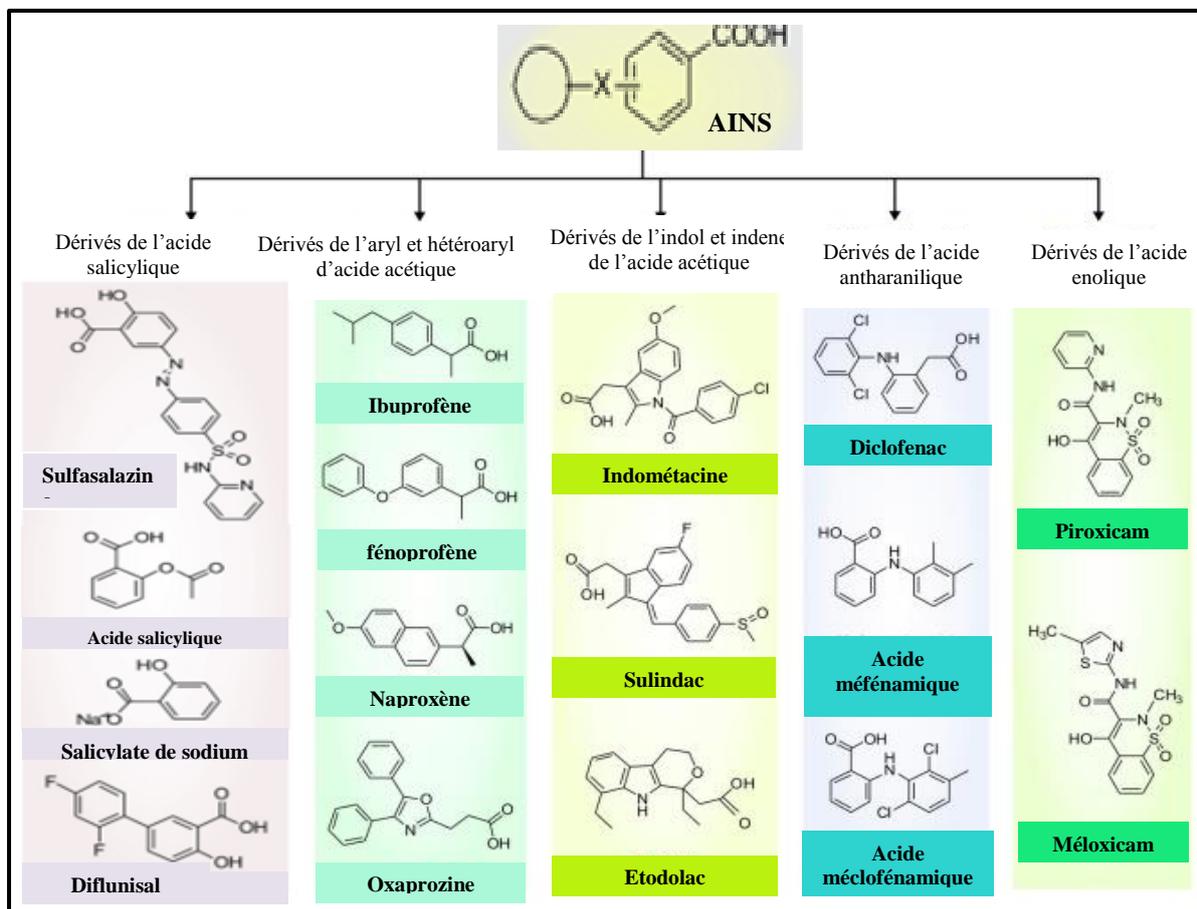


Figure 2: Classification des AINS selon leur structure (Bindu *et al.*, 2020).

1.3.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS

Les anti-inflammatoires stéroïdiens constituent une vaste classe d'agents thérapeutiques dont la structure est analogue à celle du cortisol, principale glucocorticoïde surrénalien (Faure, 2009). Ces glucocorticoïdes synthétiques sont d'importants composés qui mènent à amplifier ou substituer, en cas d'insuffisance surrénalienne, l'effet anti-inflammatoires, immunosuppresseur et les actions physiologiques des glucocorticoïdes endogènes (Scherholz *et al.*, 2019). Leur effet anti-inflammatoire découle principalement de leur possibilité à réprimer l'excès d'expression des gènes pro-inflammatoires codant pour les cytokines, les chimiokines, les molécules d'adhésion cellulaire, les enzymes inflammatoires et les récepteurs pour atténuer le processus inflammatoire et rétablissant ainsi l'homéostasie (Cruz-Topete et Cidlowski, 2015). Bien que les AIS disposent d'un puissant effet anti-inflammatoires, leur utilisation à dose élevée et durant une période prolongée est accompagnée de l'apparition d'une multitude d'effets indésirables tels que l'hypertension, l'hyperglycémie, l'ostéoporose, les troubles de l'humeur et le syndrome de Cushing poussant à l'arrêt immédiat du traitement (Ayrold *et al.*, 2014 ; Ronchetti *et al.*, 2018).

1.3.3 Les anti-inflammatoires d'origine naturelle

Depuis l'antiquité, l'être humain a recourt à l'usage des plantes médicinales retrouvées dans son environnement pour se soigner. Ces plantes synthétisent un assortiment de biomolécules qui exhibent divers effets biologiques parmi lesquels on distingue l'effet anti-inflammatoire (Nunes *et al.*, 2020). Actuellement, le traitement conventionnel de l'inflammation repose principalement sur l'usage des AINS et AIS qui à long terme induit l'apparition de graves effets secondaires sans compter les couts élevés du traitement. Ainsi, en raison de leur diversité chimique unique, les composés naturels offrent une alternative à ces traitements, justifiant l'intérêt croissant que portent les chercheurs pour l'identification et l'isolation de nouveaux agents anti-inflammatoires à partir des plantes médicinales pour développer et mettre au point de nouveaux médicaments destinés à traiter les maladies inflammatoires (Olajide et Sarker, 2020) . Selon Wang et Zeng. (2019), les produits naturels provenant de plantes ayant des effets anti-inflammatoires comprennent principalement les polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, monoterpènes, diterpènes, triterpènes, phénylpropanoïdes, lignanoïdes, coumarines et anthraquinones.

2 Stress oxydatif

Le stress oxydatif/ nitrosatif est défini comme l'incapacité des systèmes antioxydants à neutraliser et à éliminer la surproduction des espèces réactive de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERN). L'équilibre redox étant ainsi perturbé peut induire des dommages oxydatifs/nitrosatifs aux seins des constituants cellulaires (ADN, protéines, lipides et sucres) (Rahman *et al.*, 2012).

2.1 Espèces réactives de l'oxygène et espèces réactives de l'azote

Les EROs et les ERNs sont des sous-produits des processus métaboliques normaux de tous les organismes en aérobies. Ces deux espèces réactives peuvent être classées en deux groupes de composés, à savoir les espèces radicalaires communément appelés radicaux libres et les espèces non-radicalaires (Del Río, 2015). Par définition, les radicaux libres sont des espèces chimiques contenant au moins un électron non apparié situé dans la couche de valence ou en orbite extérieure, ce qui les rend instable et très réactifs. Afin d'atteindre leur stabilité, ils s'associent aux électrons d'autres molécules qui deviennent elles-mêmes des radicaux libres, amorçant une cascade de réactions en chaîne qui finit par endommager la cellule vivante. Les espèces non radicalaires, quant à elles, ne présentent pas d'électrons non appariés mais sont très réactives et peuvent être les précurseurs des radicaux libres dans les organismes vivants (Phaniendra *et al.*, 2015).

Les principales ERO et ERN sont représentées dans le tableau 3. Parmi ces espèces réactives, le superoxyde, le monoxyde d'azote et le peroxyde d'azote sont les espèces les plus étudiées (Rahman *et al.*, 2012). Les ERO sont principalement produites sous forme de superoxyde suite à la réduction d'un électron de l'oxygène par différentes oxydases, notamment la dihydro nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase, les xanthine oxydases, la cyclooxygénase ainsi que par la chaîne de transport des électrons mitochondriaux au cours de la phosphorylation oxydative, essentielle à la production d'ATP (Rahman *et al.*, 2012). Le superoxyde sert en outre de précurseur à la formation du radical hydroxyle, connu pour être le radical le plus réactif. Il est produit par les réactions de Fenton et Haber Weiss à partir de peroxyde d'hydrogène et d'espèces métalliques (fer, cuivre). Le superoxyde réagit facilement avec le monoxyde d'azote donnant lieu au peroxyde d'azote, une ERN à très forte réactivité (Milatovic *et al.*, 2019).

Tableau 3 : Classification des espèces réactives (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Espèces réactives	Espèce radicalaires	Espèces non-radicalaires
ERO	Superoxide $O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogene H_2O_2
	Hydroperoxyl $HO_2^{\cdot-}$	Oxygène singulet 1O_2
	Radical hydroxyl $\cdot OH$	Ozone O_3
	Radical peroxy ROO^{\cdot}	Acide hypochlorure $HOCl$
	Radical alkoxy RO^{\cdot}	
ERN	Monoxyde d'azote NO^{\cdot}	Acide nitreux HNO_2
	Dioxyde d'azote NO_2^{\cdot}	Cation nitroxyl NO^+
	Ion nitrate NO_3^{\cdot}	Anion nitroxyl NO^-
		Peroxynitrite $ONOO^-$
		Peroxyde d'azote N_2O_4
		Trioxyde de diazote N_2O_3

2.2 Sources des ERO/ERN

Les cellules et les organes d'un organisme aérobie subissent une exposition continue aux oxydants (ERO/ERN) dont la provenance peut être aussi bien exogène qu'endogène (intracellulaire) (Sies, 2018). Les sources exogènes peuvent inclure les rayons UV (oxydation directe des composants cellulaires), les ultrasons, les médicaments (comme les narcotiques, les anesthésiques, l'adrémicine, la nitroglycérine et le bénomycinem), les aliments (contenant des oxydants comme les métaux de transition, les aldéhydes, les acides gras et les peroxydes), les radiations γ -, les polluants, les xénobiotiques et les produits chimiques toxiques (alcool, phosphine, gaz moutarde) (Ahmad *et al.*, 2017). Au niveau intracellulaire, les ROS/RNS peuvent être générés par diverses sources et mécanismes. Tandis que la chaîne de transport des électrons mitochondriaux représentent le principal site de formation des espèces réactives, de nombreuses enzymes retrouvées dans divers compartiments intracellulaires (organelles) peuvent également générer des ERO/ERN (tableau 4) (Hameister *et al.*, 2020).

Tableau 4: Sources endogènes des ERO/ERN (Hameister *et al.*, 2020).

Organelles	Source
Mitochondrie	Chaîne de transport des électrons
Reticulum endoplasmique	Oxidation microsomale, flavoprotéines, enzymes CYP
Membrane plasmique	Lipooxygénase, prostaglandine synthase, NADPH oxydase
Peroxisome	Oxidases, flavoprotéines
Cytoplasm	Xanthine oxydase, isoformes de la NO synthase,
Lysosomes	Myeloperoxydase

2.3 Conséquences du stress oxydatif/nitrosatif

Le stress oxydatif/nitrosatif présente une dualité étroitement liée aux variations des concentrations des ERO/ERN et à l'état des mécanismes de compensation qui visent à les réguler (Di Meo *et al.*, 2016). En effet, dans le cas où leurs concentrations sont faibles à modérées, les ERO/ERN sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques vitaux. Ils jouent un rôle dans diverses cascades de signalisation, telles que la réponse à la stimulation des facteurs de croissance et le contrôle des réponses inflammatoires, ils participent à la régulation de nombreux processus cellulaires, notamment la différenciation, la prolifération, la croissance, l'apoptose et la régulation du cytosquelette (Brieger *et al.*, 2012). Ils interviennent également dans la défense contre les agents infectieux, le maintien du tonus vasculaire, le contrôle de la ventilation et de la production d'érythropoïétine. En outre, de nombreuses réponses médiées par les ROS/RNS protègent les cellules contre le stress oxydatif/nitrosatif et maintiennent "l'homéostasie redox". (Kurutas, 2015).

Bien que la production d'espèces réactives peut être bénéfique dans certaines circonstances, la plupart des recherches entreprises ROS/RNS se concentrent sur leurs effets néfastes (Hameister *et al.*, 2020). De fortes concentrations des ERO/ERN mènent à l'apparition d'un stress oxydatif/nitrosatif qui à son tour pourrait entraîner l'endommagement des biomolécules telles que les acides nucléiques, les lipides et les protéines, inhibant ainsi leurs fonctions normales ce qui pourrait compromettre la viabilité des cellules ou induire une variété de réponses cellulaires entraînant finalement la mort des cellules par nécrose ou apoptose (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Les ROS/RNS peuvent endommager les acides nucléiques par oxydation. Le radical $\cdot\text{OH}$ représente le principale ERO qui interagit directement avec tous les composants de l'ADN tels

que les bases purine et pyrimidine et le squelette de sucre désoxyribose. Cette interaction provoque un certain nombre d'alternances notamment des cassures simple et double au sein du brin d'ADN. Le radical OH^\bullet agit par extraction des atomes d'hydrogène produisant un certain nombre de purines modifiées ainsi que des sous-produits de bases pyrimidiques et des liaisons croisées entre l'ADN et les protéines. D'autre part, les ERN, et surtout le peroxy-nitrite (OONO^-), interagit avec la guanine pour produire des lésions nitratives et oxydatives de l'ADN telles que la 8-nitroguanine et la 8-oxodésoxyguanosine, respectivement. Les dommages oxydatifs/nitrosatif de l'ADN induisent des lésions mutagènes qui sont impliqués dans la carcinogénèse et le vieillissement (Phaniendra *et al.*, 2015).

L'oxydation des protéines peut être induite par des espèces radicalaires telles que O_2^- , $^\bullet\text{OH}$, peroxyde, ainsi que par des espèces non radicalaires telles que H_2O_2 , O_3 , HOCl , oxygène singulet, OONO^- . Les ROS engendrent l'oxydation des différents acides aminés présents dans les protéines, provoquant la formation de liaisons croisées protéine-protéine, ce qui entraîne leur dénaturation et la perte de leur fonctionnement, la perte de l'activité enzymatique, la perte de la fonction des récepteurs et des protéines de transport (Phaniendra *et al.*, 2015). Les acides aminés les plus sensibles à l'oxydation par les ERO sont ceux qui possèdent des groupes aromatiques en chaîne latérale, comme la phénylalanine et l'histidine, et ceux qui contiennent des groupes sulfhydryle, tels que la méthionine et la cystéine (Deavall *et al.*, 2012). Au cours de l'oxydation, plusieurs résidus d'acides aminés tels que l'arginine, la proline, l'histidine et la lysine forment de manière irréversible des produits carbonyles qui représentent un marqueur du stress oxydatif. La subsistance des produits carbonyles amène à la formation d'agrégats protéiques qui peuvent être hautement cytotoxiques, altèrent les fonctions cellulaires et conduisent à la nécrose ou à l'apoptose (Deavall *et al.*, 2012).

Les lipides membranaires, en particulier les phospholipides contenant des acides gras insaturés sont très sensibles à l'oxydation par les espèces réactives (Sousa *et al.*, 2017). La peroxydation des lipides membranaires induite par le stress oxydatif/nitrosatif peut être très néfaste car elle entraîne l'altération des propriétés biologiques de la membrane plasmique telles que le degré de fluidité, et peut conduire à l'inactivation des récepteurs ou des enzymes transmembranaires, qui à leur tour peuvent altérer la fonction cellulaire normale et augmenter la perméabilité des tissus (Kurutas, 2015).

2.4 Système de défense antioxydant

Un antioxydant est par définition toute substance qui, à faible concentration retarde ou prévient l'oxydation des biomolécules telle que les protéines, les lipides et l'ADN (Sindhi *et al.*, 2013).

Afin de se protéger des dommages liés au stress oxydatif/nitrosatif, l'organisme humain dispose d'un système de défense antioxydant endogène. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. A cet effet, l'incorporation d'antioxydants exogènes, retrouvés notamment dans l'alimentation communément appelés antioxydants alimentaires, est nécessaire pour consolider l'effet du système de défense antioxydant endogène.

2.4.1 Système antioxydants endogènes

Le système de défense antioxydant endogène peut être enzymatique ou non-enzymatique (Aguilar *et al.*, 2016).

2.4.1.1 Enzymatique

✓ Superoxyde dismutase (SOD)

Le SOD représente la plus puissante enzyme antioxydante endogène qui constitue la première ligne de défense contre les ROS. Il catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2) réduisant ainsi la nocivité de l'anion superoxyde. C'est une métalloprotéine qui requiert la présence d'ions métalliques tels que le fer (Fe), le zinc (Zn), le cuivre (Cu) et le manganèse (Mn). À cet égard, les SOD sont classés en trois formes et qui comprennent (i) le Fe-SOD que l'on trouve couramment chez les procaryotes (ii) le Mn-SOD qui est présent chez les procaryotes et les mitochondries des eucaryotes (iii) Cu/Zn-SOD est prédominant chez les eucaryotes localisé essentiellement dans le cytosol et peroxysomes (Ighodaro et Akinloye, 2017).

✓ Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme qui catalyse la conversion de H_2O_2 en eau (H_2O) et en oxygène moléculaire (O_2), protégeant ainsi la cellule des dommages oxydatifs engendrés par le H_2O_2 (Glorieux et Calderon, 2017). C'est une enzyme retrouvée principalement dans les peroxysomes, dont la structure est tétramérique contenant de la porphyrine où chaque sous-unité est reliée à la NADPH la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le H_2O_2

(Aguilar *et al.*, 2016). Son activité est très élevée dans le foie et les érythrocytes (Aguilar *et al.*, 2016) et elle est coordonnée avec la concentration en H₂O₂ (Tehrani et Moosavi-Movahedi *et al.*, 2018).

✓ **Glutathion peroxydases (GPx)**

Le GPx est une enzyme intracellulaire importante dont l'activité nécessite généralement la présence d'un micronutriment le sélénium qui agit comme cofacteur et du GSH réduit, qui au cours de cette réaction, est converti en GSSG (glutathion oxydé) (Bhagat *et al.*, 2016). Le GPx agit en catalysant la réduction de l'H₂O₂ en eau et les peroxydes de lipides en leurs alcools correspondants, principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol. Cette enzyme joue un rôle plus crucial dans l'inhibition du processus de peroxydation lipidique, et protège ainsi les cellules d'un éventuel stress oxydatif (Ighodaro et Akinloye, 2017).

2.4.1.2 Non-enzymatique

Les principaux antioxydants endogènes non enzymatiques que l'on retrouve au sein du corps humain sont le glutathion (GSH), des protéines, et les piègeurs à faible poids moléculaire tels que le Co-enzyme Q 10 et l'acide urique (Poljsak *et al.*, 2013).

✓ **Glutathion**

Le glutathion (GSH) est un tripeptide, γ -L-glutamyl-L-cystéinyl-glycine, présent dans tous les tissus des mammifères à des concentrations allant de 1 à 10 mM où la concentration la plus élevée dans le foie. Il constitue le thiol non protéique le plus abondant qui défend contre le stress oxydatif (Lu, 2013). Ses propriétés antioxydantes sont dues à la présence du groupe thiol actif sous la forme d'un résidu cystéine, il agit donc comme un antioxydant soit en interagissant directement avec les ROS/ RNS et les électrophiles, soit en agissant comme cofacteur pour diverses enzymes (Lushchak, 2012). Dans les cellules, le glutathion est maintenu sous forme réduite par glutathion réductase et réduit à son tour d'autres métabolites et enzymes, ainsi qu'en réagissant directement avec oxydants. En raison de sa forte concentration et de son rôle central en maintenant l'état redox de la cellule, le glutathion est l'un des les plus importants antioxydants cellulaires (Kabel, 2014).

✓ **Protéines**

Ce sont des protéines extra et intracellulaires, telles que l'albumine, la céruloplasmine, les métallothionéines, la ferritine, la myoglobine, la transferrine et la lactoferrine. Les MBPs (MetalBinding Proteins) telles que la transferrine, la ferritine et la lactoferrine sont des chélateurs du fer qui peuvent être des inhibiteurs de radicaux libres dans la réaction de Fenton. La céruloplasmine agit comme un inhibiteur d'espèces réactives en se liant aux ions libres de cuivre (Cu^{2+}) et de fer (Fe^{2+}). L'albumine est une protéine antioxydante multifonctionnelle qui se lie aux métaux Fe II et Cu II et peut également agir comme un véritable piègeur réagissant avec les radicaux hydroxyles. La myoglobine est principalement un piègeur efficace de NO (Mironczuk-Chodakowska *et al.*, 2018).

✓ **Co-enzyme Q 10**

Le coenzyme Q10 est retrouvé dans toutes les cellules et membranes où il joue un rôle important u sein de la chaîne respiratoire et dans d'autres métabolismes cellulaires. Le coenzyme Q10 agit en empêchant la formation de radicaux peroxydes lipidiques, et peut neutraliser ces radicaux même après leur formation (Carocho et Ferreira, 2013).

✓ **Acide urique**

Chez l'humain l'acide urique représente le produit final du métabolisme des nucléotides puriques. Il est connu pour empêcher la surproduction des oxydants oxo-hémiques qui résultent de la réaction de l'hémoglobine avec les peroxydes. D'autre part, il empêche également la lyse des érythrocytes par peroxydation et est un puissant piègeur d'oxygène singulet et des radicaux hydroxyles (Carocho et Ferreira, 2013).

2.4.2 Système antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes proviennent de l'apport alimentaire en fruits et légumes. Les antioxydants comme les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques sont considérés comme les principaux éléments du système antioxydant exogènes (Pisoschi et Pop, 2015).

✓ **Vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique est l'un des antioxydants hydrosolubles les plus omniprésents dans le cytosol et le liquide extracellulaire qui peut interagir directement avec

les radicaux libres, prévenant ainsi les dommages oxydatifs (Ryan *et al.*, 2010). La vitamine C neutralise les radicaux hydroxyles, alcoyle et superoxyde dans les milieux biologiques, mais aussi les ERN, en formant de l'acide semidishydroascorbique et prévient ainsi la décomposition oxydative des biomolécules essentielles. Bien que l'acide ascorbique ne soit pas un piègeur direct des radicaux lipophiles, il a un effet synergique en combinaison avec le tocophérol, dans l'élimination des radicaux peroxydes lipidiques. Au niveau de l'interphase lipide-aqueuse, l'acide ascorbique réagit avec le radical tocophéroxyde oxydé lié à la membrane, le réduisant et régénérant le tocophérol actif, capable d'accomplir ses rôles d'antioxydants (Pisoschi et Pop, 2015).

✓ **Vitamine E**

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe naturellement sous 8 formes dont α -, β -, γ -, et δ tocophérol (α T, β T, γ T, δ T) et α -, β -, γ -, et δ -tocotriénol (α TE, β TE, γ TE, δ TE). On les retrouve dans notre alimentation dans les arachides (noix, amandes, pistaches), certaines graine (graines de tournesol et de sésame) et dans les huiles végétales comme l'huile d'olive, de maïs et de soja (Jiang, 2014). La fonction antioxydante de la vitamine E consiste à piéger les radicaux peroxyde ce qui met fin aux réactions en chaîne d'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI). Lorsque les hydroperoxydes de lipides (ROOH) sont oxydés en radicaux peroxyde (ROO^{\cdot}), ces derniers réagissent 1000 plus rapidement avec le α -tocophérol (Vit E-OH) qu'avec les AGPI. De cette façon, α -tocophérol agit comme un antioxydant de rupture de chaîne, empêchant l'auto-oxydation supplémentaire des AGPI dans les membranes et les lipoprotéines plasmatiques. Le radical tocophéroxyde (Vit E-O) réagit avec la vitamine C ou d'autres donneurs d'hydrogène (AH), tels que les thiols, en particulier le glutathion, amenant la vitamine E à son état réduit (Traber, 2007 ; Traber et Atkinson, 2007 ; Traber et Stevens, 2011).

✓ **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments responsables de la coloration jaunes-orangés de plusieurs fruits et légumes quotidiennement consommés tels que les carottes, tomates, citrouilles, poivrons. Ce sont des antioxydants exogènes lipophiles présentant une activité envers les ROS produits dans les systèmes biologiques. Parmi eux, on trouve l'oxygène singulet, l'anion superoxyde produit dans les mitochondries, les radicaux hydroxyles à très courte durée de vie, agissant près de leur site de formation, le radical perhydroxyle

responsable de l'initiation de l'auto-oxydation des lipides. De plus, les ERN peuvent être les molécules cibles de l'activité antioxydante des caroténoïdes (Xavier et Pérez-Gálvez, 2016).

✓ **Polyphénols**

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des molécules qui proviennent du métabolisme secondaire des végétaux, synthétisés dans le but de se défendre contre les agressions environnementales et d'assurer leur croissance (Bouchouka, 2016). Les polyphénols sont à l'origine des effets biologiques des plantes médicinales et préviennent l'apparition des maladies. Cette propriété est principalement due à leur effet antioxydant (Mojze *et al.*, 2016). En effet, plusieurs études rapportent sur l'activité antioxydantes des polyphénols (Wu *et al.*, 2020). Le chapitre suivant sera consacré aux polyphénols et les traitera sous tous leurs aspects.

3 Métabolites secondaires et polyphénols

Les plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques dont la grande majorité ne sont pas directement impliqués lors leur du métabolisme de base mais, qui leur sont nécessaires pour leur survie dans l'environnement (Naikoo *et al.*, 2019). Ces composés, dénommés métabolites secondaires, sont souvent répartis de manière différente entre des groupes taxonomiques limités au sein du règne végétal, contrairement à leurs aux métabolites primaires (acide aminés, acide gras et carbohydrates) qui sont omniprésents dans toutes les plantes et qui sont essentiels et indispensables à leur croissance et développement (Anulika *et al.*, 2016).

Les polyphénols ou composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes et les plus répandus au sein du règne végétal (Cong-Cong *et al.*, 2017), en effet, selon Tungmunnithum *et al.* (2018), plus de 8000 composés phénoliques ont été identifiés comme substances naturelles provenant d'origine végétale. Ils sont synthétisés exclusivement dans les plantes vasculaires et dans une grande variété d'espèces parmi elles les monocotylédones, les dicotylédones, les fougères et les conifères, au niveau des différents tissus végétaux à savoir les feuilles, le cône, le pot de semences, le bois, le limbe, le stipe et l'écorce (García *et al.*, 2016).

L'interaction permanente des plantes avec leur environnement représente la raison principale de l'émergence des polyphénols (Lattanzio, 2013). A cet effet, leur présence et leur

accumulation dans les tissus végétaux est considérée comme une réponse adaptative des plantes aux conditions environnementales défavorables (Ahmed E *et al.*, 2017). Leur biosynthèse se fait à partir de l'acide shikimique et de la phénylalanine en suivant la voie shikimate/phénylpropanoïde (sharma *et al.*, 2019).

Au niveau intracellulaire ils assurent plusieurs fonctions. D'après Saltveit. (2017) ils agissent comme support mécanique, protègent la plante du rayonnement solaire ultraviolet nocif, empêchent les déperditions d'eau, attirent les pollinisateurs et les disséminateurs de graines, émettent des signaux qui induisent des réactions défensives aux stress biotiques ou abiotiques, suppriment la croissance de plantes concurrentes proches (allélopathie), et offrent une protection contre les herbivores et les agents pathogènes. Lorsqu'ils sont contenus dans les aliments (fruits et légumes), les polyphénols ajoutent de la saveur, de la couleur, de l'odeur ou d'autres effets tels que l'astringence modifiant ainsi la sensation en bouche d'un aliment (Pandey et Rizvi, 2009).

3.1 Structure et classification des polyphénols

La structure chimique des polyphénols est caractérisée par la présence d'au moins un cycle aromatique (cycle benzène) auquel sont rattachés un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH). Ils se présentent principalement sous des formes conjuguées à un mono ou poly saccharide, ou en association à d'autres composés tels que les acides carboxyliques et organiques, les amines, les lipides et peuvent entretenir des liaisons avec d'autres phénols (Pandey et Rizvi, 2009). Cette description comprend un grand nombre de composés hétérogènes, par conséquent, les polyphénols peuvent être simplement classés en deux principaux groupes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Singla *et al.*, 2019).

3.1.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les métabolites secondaires les plus représentatifs des polyphénols. Cette classe de composés est largement retrouvée dans les légumes, les céréales, les plantes médicinales, l'écorce, les racines, les tiges, les fleurs, le thé et le vin (Panche *et al.*, 2016). Leur squelette de base est caractérisé par la présence de 15 atomes de carbone, disposés sous la forme C6-C3-C6, formant ainsi deux cycles aromatiques A et B reliés au milieu par trois atomes de carbone, qui peut ou non donner lieu à un troisième cycle. Les cycles sont dénommés A, B et C (Santos *et al.*, 2017).

La classification des flavonoïdes repose sur le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C et en fonction du carbone du cycle C auquel le cycle B est attaché. Ainsi, les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C. Ces sous-groupes sont les suivants : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols ou catéchines, anthocyanines et chalcones (figure 3) (Panche *et al.*, 2016). Au niveau des plantes, les flavonoïdes sont le plus souvent sous forme de glycoside mais peuvent être aussi sous forme d'aglycone (Akhlaghi et Sahar, 2017).

Les flavonoïdes constituent une partie intégrante de notre alimentation. Les formes les plus retrouvés sont les flavonols, les isoflavones et les flavones. Ils sont responsables de la couleur, du goût des fruits et des légumes ainsi que leurs produits dérivés tels que le thé et le vin, et permettent de prévenir l'oxydation du gras et protéger les enzymes d'une éventuelle dégradation (Kumar et Pandey, 2013).

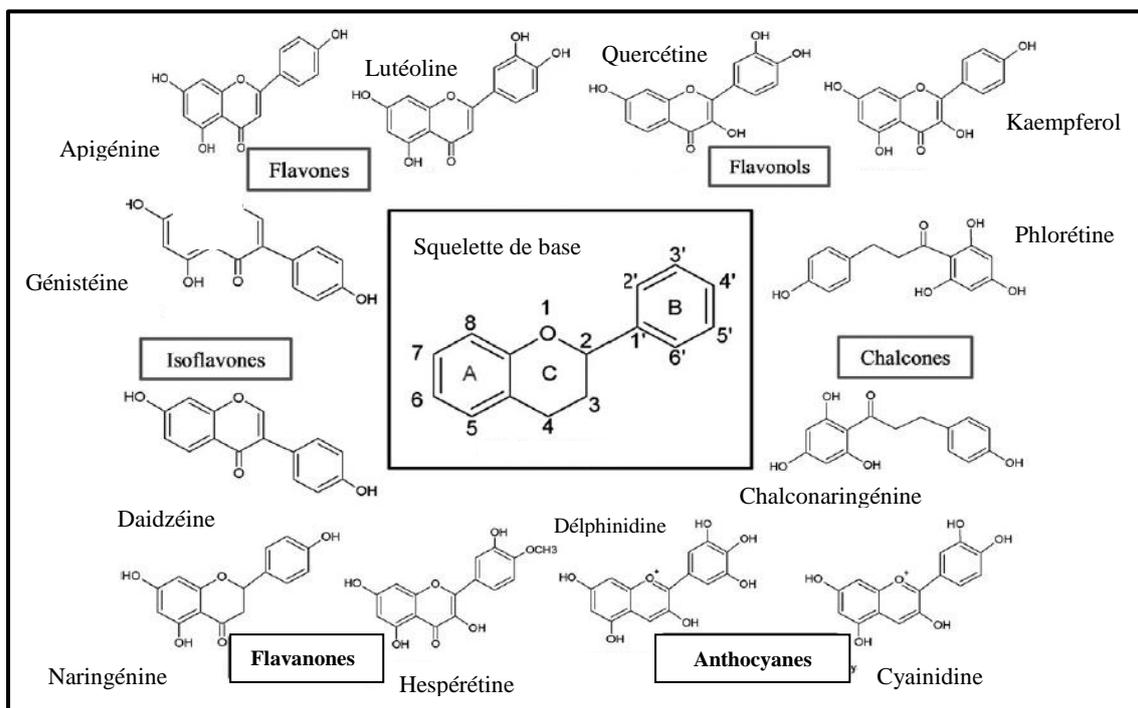


Figure 3: Structure de base des flavonoïdes et leurs classes (Pancher *et al.*, 2016).

On accorde ses dernières années un intérêt croissant aux effets thérapeutiques que peuvent induire la consommation des plantes médicinales. Cet effet pourrait être associé à leur composition phytochimique en l'occurrence à leurs composés phénoliques et plus précisément les flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013). En effet, un large spectre d'activités biologiques incluant l'effet antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique, antibactérien, antiviral, hépatoprotecteur, et anticancéreux, leur est attribués (Serafini *et al.*, 2010; Kumar et Pandey, 2013; Górnjak *et al.*, 2017; Zakaryan *et al.*, 2017; Krak. 2019 ; Caro-Ordieres *et al.*, 2020).

3.1.2 Polyphénols non-flavonoïdes

Cette catégorie de molécules regroupe plusieurs composés chimiques classés selon leur structure dans les groupes suivants : les acides phénoliques, les tannins, les stilbenes, les lignanes et xanthones (Durazzo *et al.*, 2019).

3.1.2.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques représentent la principale classe des polyphénols non-flavonoïdes, se distinguant des autres composés phénoliques par leur structure chimique contenant un groupe carboxyle avec un ou plusieurs groupes hydroxyles liés au cycle aromatique (Bhattacharya *et al.*, 2010). Deux classes d'acides phénoliques peuvent être distinguées; les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C1-C6) tels que l'acide gallique, p-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide syringique et l'acide protocatéchoïque et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C3-C6), tels que l'acide p-coumarique, acide caféique, acide férulique, acide sinapique et acide cinnamique (figure 4) (Chandrasekara *et al.*, 2019).

Les acides hydroxybenzoïques sont des composés bioactifs que l'on retrouve dans les boissons (jus de fruits, thé, bière, vin), les baies, les herbes et les épices. Tandis que les acides hydroxycinnamiques sont retrouvés dans les légumineuses, le cacao, les fruits, les huiles, les herbes, les épices, les noix, les légumes et les céréales. En outre, les boissons comme le café, la bière et le vin consistent également des sources alimentaires importantes. Les acides hydroxycinnamiques sont généralement les acides phénoliques les plus abondants dans les aliments d'origine végétale (Russel et Duthie, 2011). Parmi eux, les acides para-coumarique, caféique, férulique et sinapique sont les plus abondants. Ils sont le plus souvent présentés sous forme estérifiée avec de l'acide quinique et tartrique ou de divers dérivés des hydrates de carbone. Les acides chlorogéniques constituent les esters les plus abondants (Sova et Saso, 2020).

De nombreuses études épidémiologiques et résultats expérimentaux décrivent les différents effets thérapeutiques que peuvent induire la consommation d'acides phénoliques. Ainsi il participent à prévenir l'apparition et le développement des maladies chroniques telles que l'inflammation, le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaire et les infections bactériennes (Saibabu *et al.*, 2015; Kumar et Goel, 2019; Sova et Saso, 2020). Toutefois, ces effets biologiques *in-vivo* dépendent de multiples facteurs dont la quantité ingérée, absorbée, et/ou métabolisée, leur concentration au niveau plasmatique et tissulaire ainsi que le type et quantité des acides phénoliques libres. De plus, leur structure chimique affecte différemment les facteurs cités précédemment (Saibabu *et al.*, 2015). Ainsi, l'ingestion d'acides hydroxycinnamiques libres entraîne leur absorption rapide au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle. Etant donné que la concentration des acides hydroxybenzoïques dans les aliments est minime comparée à celle des acides hydroxycinnamiques, peu d'études sur leur biodisponibilité ont été menées. Cependant, l'acide gallique et l'acide hydroxybenzoïque sont les plus abondamment étudiés pour leur absorption et leur métabolisme et confirment leur grande capacité d'absorption (Kumar et Goel, 2019).

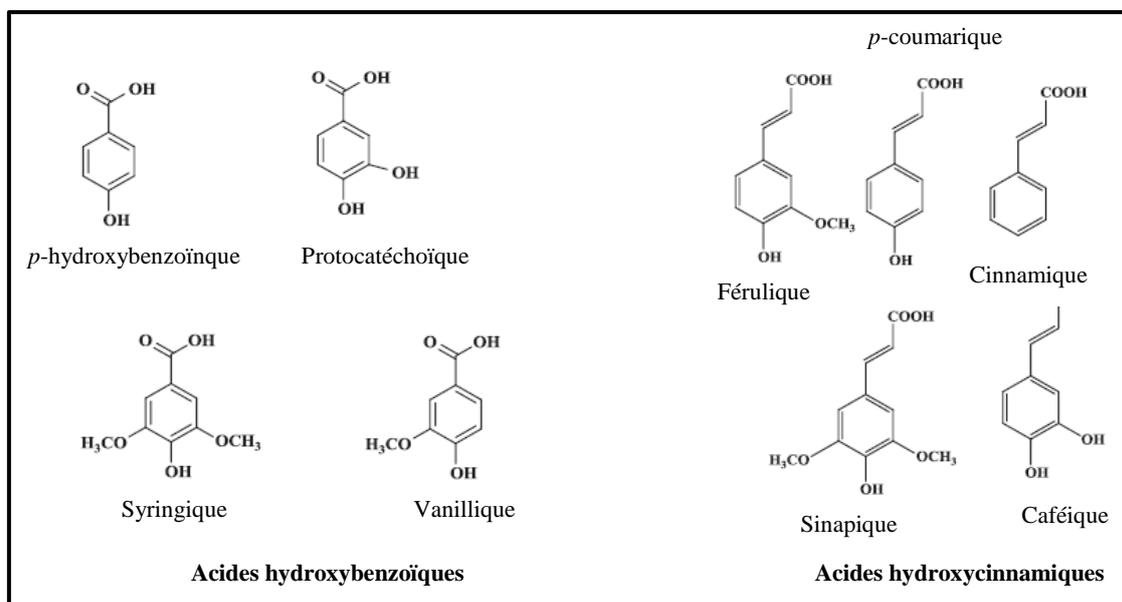


Figure 4: Structure des acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques (Chandrasekara *et al.*, 2019).

3.1.2.2 Tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène de polyphénols hydrosolubles de poids moléculaire élevé (500-3000 daltons), retrouvés dans les plantes, les aliments et les boissons (De Jesus *et al.*, 2012). Etant des composés phénoliques, les tanins sont chimiquement réactifs et forment des liaisons hydrogène inter et intramoléculaires capables d'interagir avec des

macromolécules, telles que les protéines et les hydrates de carbone, et de les précipiter (De Jesus *et al.*, 2012).

Deux principales classes de tanins sont distinguées : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Macáková *et al.*, 2014). Les tanins hydrolysables sont caractérisés par la présence d'un noyau central de glucose ou d'un autre polyol estérifié avec de l'acide gallique, donnant lieu aux gallotannins, ou avec de l'acide hexahydroxydiphénique ou sa forme dilactone: l'acide ellagique, donnant lieu aux ellagitannins. Les tanins condensés quant à eux sont des oligomères ou des polymères composés de noyaux de flavan-3-ol. Ils sont également appelés proanthocyanidines, car ils sont décomposés en anthocyanidines dans des solutions d'éthanol chauffées (dans des conditions acides) (Macáková *et al.*, 2014).

Il est convenu qu'une alimentation riche en fruits et légumes réduit l'apparition des maladies métaboliques, cardiovasculaires et les cancers. Ce phénomène est principalement lié à la présence des composés phénoliques, dont les tanins, qui ont des propriétés antioxydantes (Piégeage des radicaux libre et chélation des métaux) (Lamy *et al.*, 2016). Cette dernière est une propriété de grande valeur car elle est à l'origine des effets biologiques des tanins en réduisant le stress oxydant qui est à l'origine d'un grand nombre de maladies (Hussain *et al.*, 2019). Ainsi, on attribue aux tanins des effets anti-inflammatoire, antidiabétique, antiviral, antibactérien, antiallergique, anticancéreux, cicatrisant et préviennent l'apparition des maladies cardiovasculaires (Ghosh, 2015; Laddha et Kulkarni, 2018; Pizzi, 2019; Sharma *et al.*, 2019).

3.1.2.3 Stilbenes

Les stilbènes sont une classe de polyphénols caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényléthylène (Dubrovina *et al.*, 2017). Leur structure est basée sur un squelette C6-C2-C6, définie par deux cycles aromatiques reliés par un pont éthylène. Le stilbène le plus connu et le mieux caractérisé est le resvératrol (3,4',5-trihydroxystilbène), (figure5) (El khawand *et al.*, 2018). C'est un composé naturel retrouvé dans plusieurs plantes et produits alimentaires notamment dans la peau des raisins, les myrtilles, les arachides et le vin rouge (Zhao *et al.*, 2017).

Sparvol *et al.* (1994) ont démontré l'efficacité du resvératrol dans le traitement du cancer chez la souris. Cette étude fut la première à révéler le potentiel thérapeutique de ce composé phénolique et à attirer l'attention de plusieurs chercheurs scientifiques (Dong *et al.*, 2016). De nos jours, le resvératrol est également connu pour avoir plusieurs autres activités biologiques

importantes, notamment une activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-âge, anti-obésité, antidiabétique, cardioprotectrice et neuroprotectrice (Poulsen *et al.*, 2013).

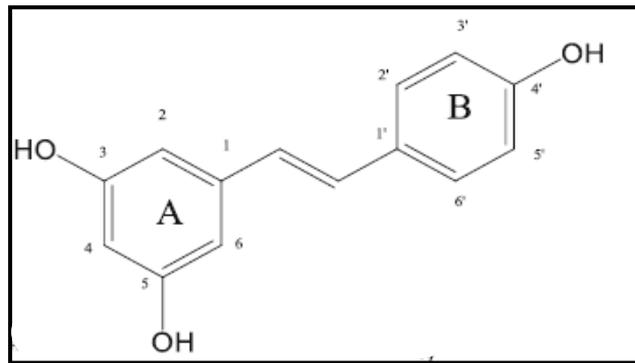


Figure 5: Structure chimique du resvératrol (El khawand *et al.*, 2018).

3.1.2.4 Lignanes

Les lignanes sont une large classe de composés phénoliques qui dérivent de la dimérisation oxydative de deux ou plusieurs unités phénylpropanoïdes (Barker *et al.*, 2019). Leur classification repose sur leur structure, incluant leurs squelettes de carbone, la façon dont l'oxygène est incorporé dans les squelettes, et le schéma de cyclisation. A cet effet, les lignane peuvent être rassemblés huit groupes distincts : Dibenzylbutyrolactol, dibenzocyclooctadiène, dibenzylbutyrolactone, dibenzylbutane, arylnaphtalène, aryltétraline, furanne et furofuranne (figure 6) (Teponno *et al.*, 2016; Rodríguez-García *et al.*, 2019). Les principales sources de lignanes alimentaires sont les graines oléagineuses (lin, soja, colza et sésame), les céréales complètes (blé, avoine, seigle et orge), les légumineuses, divers légumes et fruits (en particulier les baies), ainsi que les boissons telles que le café, le thé et le vin (Durazzo *et al.*, 2019). Les lignanes sont des composés phénoliques ayant un large spectre d'activités biologiques, notamment des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancérogènes, oestrogénique et anti-oestrogénique (Chen J *et al.*, 2019).

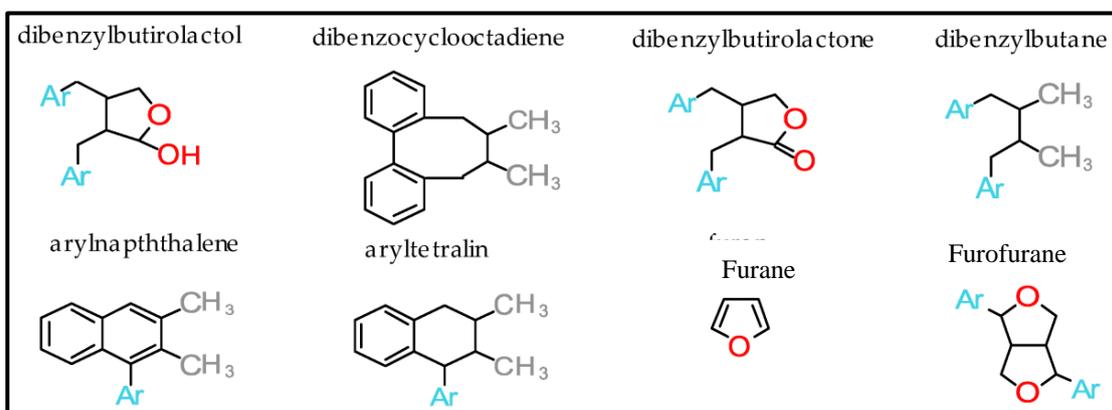


Figure 6 : Groupes des lignanes (Ar=Aryl) (Teponno *et al.*, 2016; Rodríguez-García *et al.*, 2019).

3.1.2.5 Xanthonés

Les xanthonés sont des composés phénoliques présentant des O-hétérocycles avec un échafaudage de dibenzo-pyrone que l'on retrouve aussi bien chez les plantes marines que terrestres, les champignons, et les lichens (Azvedo *et al.*, 2012). Ils sont principalement retrouvés dans le mangoustan (*Garcinia mangostana L.*) et la mangue (*Mangifera indica L.*) (Gutierrez-Orozco et Failla, 2013). Il existent six groupes principaux de xanthonés, à savoir les xanthonés simples, les glycosides de xanthone, les xanthonés prénylées, les xanthonolignolides, les bisxanthonés et les xanthonés diverses (Negi *et al.*, 2013).

Les xanthonés naturels sont considérés comme étant une importante classe de composés organiques en raison de leurs activités pharmacologiques et autres activités biologiques. Parmi elles, on distingue une activité antibactérienne, antimicrobienne, antivirale, anticancérogène, antioxydante, anti-inflammatoire, anticholinergique, mutagène, antiparasitaire (113), antifongique, anti-VIH, antitumorale, anti-diabétique, anti-hyperlipidémique, anti-ulcéreuse, antifongique, analgésiques, diurétique, antidiarrhéique, un effet hépatoprotecteur et cardioprotecteur (Negi *et al.*, 2013).

4 Toxicité des plantes médicinales

Depuis les temps anciens, les plantes médicinales ont été utilisées par différentes cultures et civilisations comme une source de médication. Elles constituent le fondement de la médecine traditionnelle et sont utilisées pour le traitement des maladies aiguës et chroniques.

L'utilisation des plantes à des fins curatives connaît son apogée ses dernières années aussi bien dans la communauté développée que dans la communauté en voie de développement (Chanda *et al.*, 2015). Ceci repose d'une part sur la simple croyance que tout ce qui est naturel est bénéfique et sans effets secondaires, et d'autre part l'usage perpétuel de ces plantes médicinales dans le cadre de la médecine traditionnelle (Nasri *et al.*, 2013; Chanda *et al.*, 2015). L'augmentation massive de l'utilisation de ces herbes médicinales dans diverses pratiques traditionnelles suscite des inquiétudes quant à leur toxicité. En effet, un manque d'études scientifiques approfondies comportant des expérimentations valables éclairant sur leurs éventuels effets toxiques est rapporté. De plus, la combinaison de plusieurs plantes médicinales dans les préparations traditionnelles, rend difficile de prédire l'effet toxique du mélange (Subramanian *et al.*, 2018).

La toxicité des plantes médicinales peut émaner de facteur direct tel que la toxicité intrinsèque de leurs différents composés bioactifs (Zhang J *et al.*, 2015). Ce mélange de multiples constituants naturels comprenant notamment des alcaloïdes, des glycosides et des terpnoïdes, peuvent agir en synergie, s'opposer et/ou interagir avec le corps et le métabolisme humains. Cependant, la variation du type et de la teneur de ces composés bioactifs aussi bien au sein d'une même espèce qu'entre espèce peut amener à un surdosage leur procurant ainsi leur effet toxique intrinsèque (Mensah *et al.*, 2019). Toutefois, d'autres facteurs tels qu'une identification imprécise des composants bioactifs, une prescription inappropriée, et contaminations par les métaux lourds contribuent également à l'apparition de leurs effets toxiques (Awuchi, 2019). De plus, la toxicité des plantes médicinales dépend autant de la pureté des composés, l'association de plusieurs plantes, la voie d'administration, de l'absorption, la biodisponibilité, la période d'exposition, le nombre d'expositions, la forme physique du toxique (solide, liquide ou gaz) (Aouachria, 2018).

4.1 Evaluation de la toxicité des plantes médicinales

La toxicité d'une substance se définit comme son habilité à induire des effets indésirables sur un organisme vivant. Elle regroupe l'ensemble des lésions morphologiques et fonctionnelles induites suite à la prise unique ou répétée d'une substance (Etame-Loe *et al.*, 2017).

L'objectif principal de l'évaluation toxicologique des plantes médicinales est de révéler et d'identifier les éventuels effets nuisibles liés à leur utilisation ainsi que de déterminer le seuil d'exposition auquel ces effets se produisent (Ifeoma et Oluwakanyinsola, 2013).

L'évaluation de la toxicité des plantes médicinales se fait suivant les consignes dictées par les lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) où des facteurs importants liés aux animaux (espèce, sexe, âge, poids, nombre), aux conditions expérimentales (humidité, température, régime alimentaire, cycle lumière/obscurité), et à la substance testée (voie d'administration, forme d'administration, concentration, volume d'administration) doivent impérativement être pris en compte (Subramanian *et al.*, 2018). Selon la dose administrée, la fréquence d'administration et la durée d'administration de la substance d'essai, les études toxicologiques sont classées comme suite : test de toxicité aiguë, test de toxicité subaiguë et test de toxicité chronique (Denny et Stewart, 2013).

4.1.1 Test de toxicité aiguë

La toxicité aiguë permet d'évaluer les effets indésirables survenant après l'administration orale ou cutanée d'une dose unique d'une substance ou de doses multiples administrées dans les 24 heures, ou une exposition par inhalation de 4 heures de temps (Saganuwan, 2016). Un effet indésirable est tout effet qui cause des altérations fonctionnelles au sein des organes et/ou des perturbations biochimiques, qui pourraient modifier le bon fonctionnement de l'organisme. Ainsi, l'évaluation de la toxicité aiguë tend à définir le ou les effets indésirables qui peuvent se produire en fonction de la dose, incluant toutes les informations importantes dont la mortalité des animaux (Chinedu *et al.*, 2013).

L'évaluation de la toxicité aiguë constitue la première étape à entreprendre avant tout autre test toxicologique car elle fournit des informations préliminaires sur la nature de la substance d'essai, et permet également de traiter les cas d'ingestion accidentelle de quantité importante de substance, de déterminer les éventuels organes cibles qui doivent être examinés et/ou les tests spécifiques qui doivent être entrepris dans le cadre des essais de toxicité à doses répétées et de sélectionner les doses pour les tests de toxicité à court terme et subaiguë lorsqu'aucune autre information toxicologique n'est disponible (FDA, 2000).

Le Système Général Harmonisé (SGH) des Nations Unies a permis de classifier la toxicité aiguë en 5 catégories de risque en se basant sur la valeur de la dose létale 50 (DL₅₀) ou de la concentration létale 50 (CL₅₀). Le tableau ci-dessous (tableau 5) met en évidence les critères de classification de la toxicité aiguë par le SGH.

Tableau 5: Critères de classification de la toxicité aiguë selon le SGH (Nations unies, 2019).

Voie d'administration	Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3	Catégorie 4	Catégorie 5
Orale (mg/kg)	≤ 5	$5 < DL_{50} \leq 50$	$50 < DL_{50} \leq 300$	$300 < DL_{50} \leq 2000$	
Dermique (mg/kg)	≤ 5	$50 < DL_{50} \leq 200$	$200 < DL_{50} \leq 1000$	$1000 < DL_{50} \leq 2000$	
Gaz (ppm)	≤ 100	$100 < CL_{50} \leq 500$	$500 < CL_{50} \leq 2500$	$2500 < CL_{50} \leq 20\ 000$	$2000 < DL_{50} \leq 5000$ et doses équivalentes pour l'inhalation
Vapeur (mg/l)	≤ 0.5	$0.5 < CL_{50} \leq 2.0$	$2.0 < CL_{50} \leq 10.00$	$10.00 < CL_{50} \leq 20.00$	
Poussières et brumes (mg/l)	≤ 0.05	$0.05 < CL_{50} \leq 0.5$	$0.5 < CL_{50} \leq 1.0$	$1.0 < CL_{50} \leq 5.0$	

La dose létale 50 ou DL₅₀ se définit comme la dose à laquelle 50 % de la population animale succombe. Elle représente le principal paramètre sur lequel repose l'étude de la toxicité aiguë (Maheshwari et Shaikh, 2016). Précédemment, la DL 50 était calculée par différentes méthodes telles que la méthode de Karbal, méthodes de Reed et Muench, méthode de Miller et Tainter la méthode de Lorke. Cependant, ces méthodes classiques manquent d'acceptance réglementaire et ne sont pas conformes aux principes de la règle des trois R (réduction, raffinement et remplacement). Dès lors, l'OCDE a mis en place trois lignes directrices comme méthodes alternatives qui sont : méthode de la dose prédéterminée (OCDE 420), méthode par classe de toxicité aiguë (OCDE 423) et méthode de l'ajustement des doses (OCDE 425), qui sont conformes à la réglementation et répondent aux critères de la règle des trois R assurant le respect du bien-être des animaux (Erhirhie *et al.*, 2018).

4.1.2 Test de toxicité subaiguë

L'évaluation de la toxicité subaiguë vise à mettre en évidence les altérations induites par l'administration répétée de la substance d'essai sur l'aspect macroscopique et microscopique des organes, les paramètres biochimiques et hématologiques (Ifeoma et Oluwakanyinsola, 2013). Le composé à évaluer est administré aux animaux (de préférence des rats) quotidiennement et à des doses graduées pendant une période de 28 jours. A la fin de l'expérimentation, le rapport de l'évaluation de la toxicité subaiguë doit compter des résultats portant sur :

- Le poids corporel et les ses variations ainsi que la consommation de nourriture et d'eau.
- Les signes de toxicité selon le sexe et par niveau de dose.
- La nature, gravité et durée des observations cliniques (qu'elles soient réversibles ou non).
- L'évaluation de l'activité sensorielle, de la force de préhension et de l'activité motrice.
- L'évaluation des paramètres hématologiques et biochimiques avec des valeurs de référence pertinentes
- Le poids corporel des animaux au moment de l'euthanasie et les données relatives au poids des organes.
- Etude histopathologique détaillée des organes cibles (OCDE, 2008).

4.2 Organes cibles

Les études portant sur l'évaluation de la toxicité de divers extraits de plantes médicinales indiquent que les principaux organes ciblés par les composés bioactifs sont le foie et les reins. Ainsi, des effets hépatotoxiques et/ou néphrotoxiques sont à prévoir, car le foie et les reins constituent, respectivement, les principaux organes de détoxification et d'excrétion de nombreuses substances et déchets (Nigatu *et al.*, 2017).

4.2.1 Le foie : anatomie, histologie et fonctions

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps humains et représente environ 2 à 3 % de son poids corporel adulte. Il se situe dans le quadrant supérieur droit de la cavité abdominale sous l'hémi-diaphragme droit et est protégé par la cage thoracique. Son emplacement est maintenu grâce à la présence de réflexions péritonéales, appelées attaches ligamentaires. Ces dernières sont avasculaires et sont en continuité avec une fine capsule de tissu conjonctif qui enrobe l'organe, dénommée la capsule de Glisson (Abdel-misih et Bloomston, 2010). Anatomiquement, Le foie est divisé en 4 lobes : droit, gauche, caudé et quadratique. Le ligament falciforme divise la surface diaphragmatique du foie en un lobe droite et un lobe gauche. En avant, sur la surface inférieure du lobe droit du foie, le lobe quadratique est visible, tandis que la partie médiane postérieure du lobe hépatique droit représente le lobe caudé (Guido *et al.*, 2019).

D'un point de vue histologique, chaque lobe est constitué d'un amas de lobules hépatiques. Ces derniers représentent l'unité fonctionnelle du foie. Ils apparaissent sous forme d'un hexagone centré par une veine centro-lobulaire et limitée en périphérie par les espaces portes voisins (figure 7). Chaque lobule est formé de lamelles de cellules épithéliales, les hépatocytes, anastomosés les uns aux autres sous forme d'un labyrinthe ayant des espaces réguliers dans lesquels se retrouvent un réseau vasculaire formé de capillaires sinusoidales (figure 7). Le parenchyme hépatique est essentiellement composé d'hépatocytes. Cependant on y retrouve également d'autres types cellulaires tels que les cellules endothéliales, les cellules de Küppfer et les cellules étoilées (Cellules de Ito) (Carotti *et al.*, 2020). Le foie est alimenté en sang par deux sources : la veine porte qui assure 80% de son approvisionnement, elle est responsable de l'apport des nutriments depuis l'intestin. Les 20% restants sont fournis par l'artère hépatique responsable de l'apport d'oxygène (Sibulesky, 2013). Après avoir irrigué l'ensemble des lobules hépatiques, le sang retourne vers le cœur par le billait de la

veine cave inférieure après son passage par les veines hépatiques (Dooley *et al.*, 2011). On associe au foie plusieurs fonctions au sein de l'organisme telles que la sécrétion de la bile, métabolisme de la bilirubine, métabolisme des nutriments, détoxification métabolique, stockage des minéraux et nutriments, fonction endocrine, fonctions immunitaire et protectrice (Ozougwu, 2017).

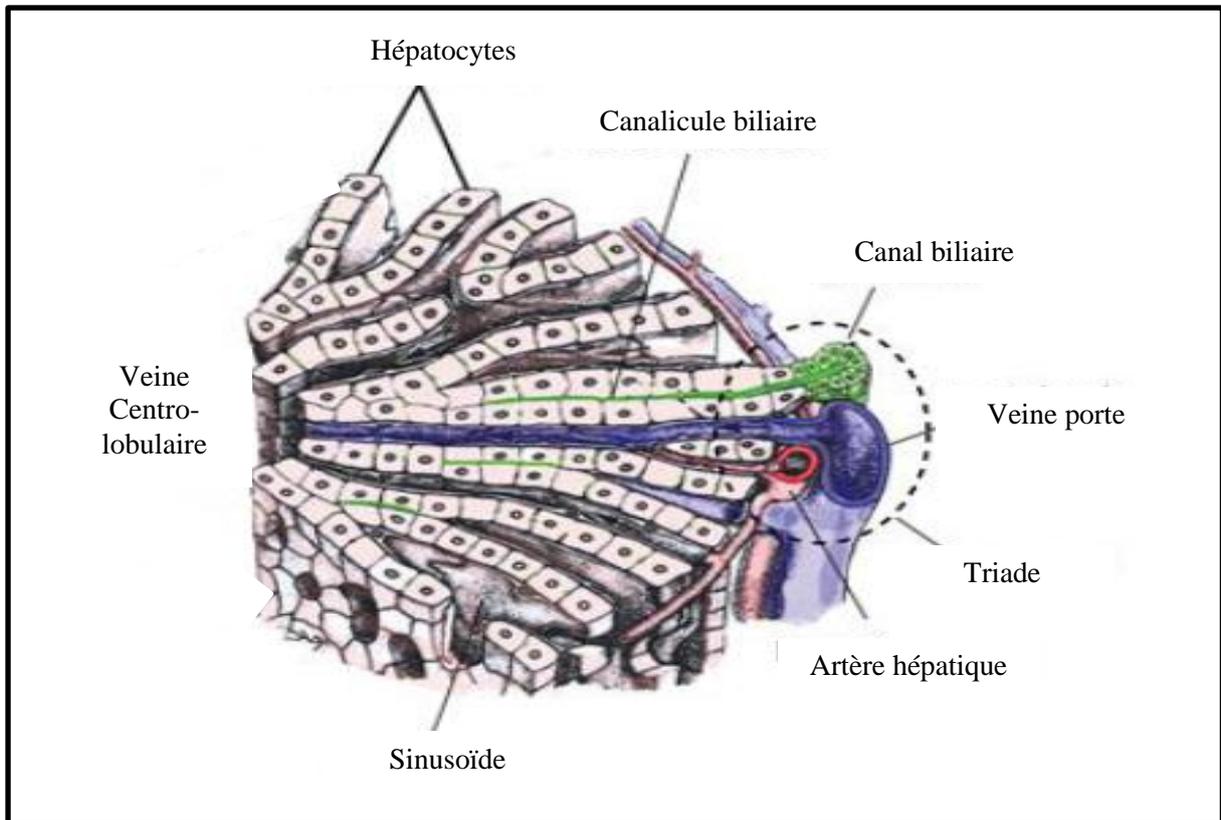


Figure 7: Organisation du lobule hépatique (Ozougwu, 2017).

4.2.2 Hépatotoxicité des plantes médicinales

L'hépatotoxicité se définit comme une élévation des enzymes hépatiques tels que l'alanine aminotransférase (ALT) de plus de cinq fois la limite supérieure normale ou de la phosphatase alcaline (PAL) de plus de deux fois la LSN. De plus, une élévation de l'ALT de plus de trois fois la LSN associée à une élévation de la bilirubine ou à l'apparition des symptômes doit être prise en considération (Nunes et Mendez- Sanchez, 2020). Les symptômes peuvent apparaître seuls ou associés à d'autres facteurs et sont généralement non spécifiques ce qui rend difficile d'établir le diagnostic. Les signes cliniques comprennent : jaunisse, anorexie, nausées, fatigue, fièvre, dyspepsie, œdème, prurit, et selles pâles (Teschke et Eickhoff, 2015). Les mécanismes de l'hépatotoxicité sont à la fois hépatocellulaires et extracellulaires tels qu'une

perturbation des hépatocytes, apoptose des hépatocytes, perturbation du transport des protéines, activation des lymphocytes T, inhibition des mitochondries, lésions du canal biliaire et interactions médicamenteuses (Fatima & Nayeem, 2016). Une fois installée, l'hépatotoxicité engendre les troubles suivants : élévation des enzymes hépatiques, hépatite aiguë ou chronique, cholestase, nécrose ou fibrose hépatique, cirrhose, insuffisance hépatique et maladie veino-occlusive hépatique (Thompson *et al.*, 2017). L'hépatotoxicité induite par les plantes médicinales est classée en deux types : idiosyncrasique et intrinsèque. Le premier est la résultante d'une réaction idiosyncrasique c'est-à-dire une réaction d'intolérance vis-à-vis d'une plante médicinale même prise à des doses thérapeutiques, elle donc est imprévisible. Elle peut être d'origine métabolique ou immunologique. Tandis que la seconde se développe à partir de réactions prévisibles dues à un surdosage (Frenzel et Teschke, 2016) .

L'effet hépatotoxique des plantes médicinales découle de leurs composants phytochimiques. Ces derniers sont considérés comme substances étrangères à l'organisme et sont donc métabolisés puis éliminés. Cependant, au cours de ce processus métabolique, des substances hépatotoxiques peuvent être formés générant ainsi des lésions hépatiques (Frenzel et Teschke, 2016) . Parmi les substances phytochimiques ayant un effet potentiellement hépatotoxiques, les alcaloïdes et les terpénoïdes occupent les deux premières places. Ils sont suivis par les flavonoïdes, les quinones, les coumarines et les phenylpropanoïdes, respectivement (He *et al.*, 2019).

Le traitement de l'hépatotoxicité induite par l'utilisation des plantes médicinales se fait principalement par l'arrêt de toutes préparations à base de ces plantes mêmes. Le traitement peut également se faire par l'utilisation de corticostéroïdes, ou l'utilisation de molécules hépatoprotéctives qui réduisent les lésions hépatiques via leur activité anti-inflammatoire (glycyrrhizine, silymarine et bicyclol), antioxydante (N-acétyl cystéine, glutathion et tiopronine) et excrétrice biliaire (acide ursodésoxycholique et adénosine méthionine). De plus une transplantation de foie est nécessaires dans les cas d'insuffisance hépatique aiguë ou subaiguë (Wang *et al.*, 2018).

4.2.3 Rein : anatomie, histologie et fonction

Les reins, au nombre de deux, sont des organes rétro-péritonéaux ayant la forme d'un haricot, situés dans la partie postérieure de l'abdomen de chaque côté de la colonne vertébrale. Chaque rein est entouré d'une capsule lisse et fibreuse entourée d'une épaisse couche de graisse péri-néphrétique qui le protège des traumatismes (figure 8) (Radi, 2019). Le

parenchyme rénal est composé de deux parties : une partie corticale externe et d'une partie médullaire. Cette dernière est formée par les pyramides de Malpighi, dont la base s'appuie sur le cortex et le sommet pénètre dans la médullaire profonde. Le sommet des pyramides forme les papilles rénales qui sont percées de 15 à 20 orifices correspondant à l'ouverture des tubes collecteurs de Bellini dans les calices sous-jacents. La partie corticale s'étend de la capsule rénale aux bases des pyramides et entre les pyramides où elle forme alors les colonnes de Bertin. En périphérie, on trouve les corpuscules de Malpighi au niveau desquels prennent naissance les tubes urinaires (figure 8) (Lacour, 2013).

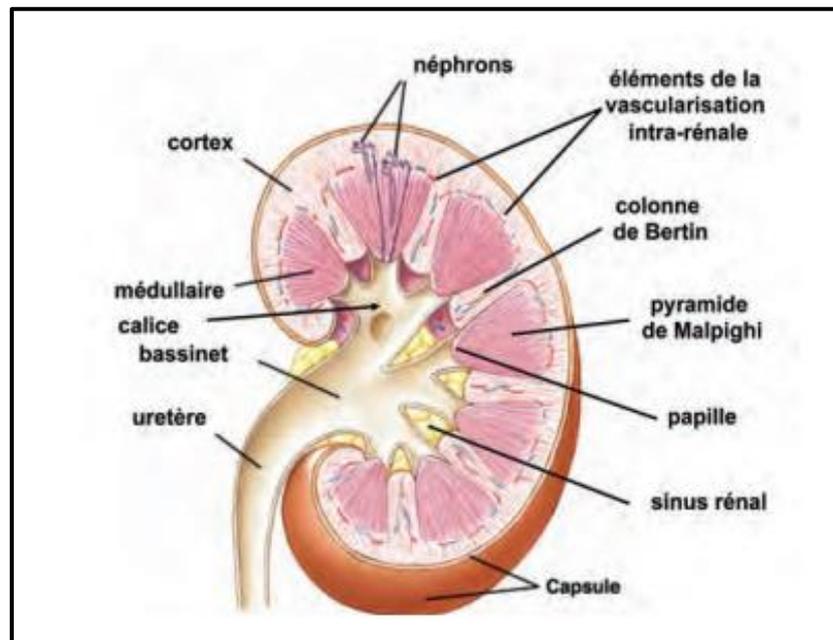


Figure 8: Coupe d'un rein (Lacour, 2013).

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comprend environ 1 million de néphrons. Sa structure unique est intimement liée aux fonctions complexes qu'il assure. Il est formé de cinq composantes (figure 9), dont chacune assure une fonction précise :

- Capsule de Bowman : structure épithéliale à double paroi qui enrobe un réseau capillaire « le glomérule » (site de filtration).
- Tube contourné proximal (site de réabsorption et de certaines sécrétions).
- Hanse de Henlé (lieu où se produisent principalement la concentration et la dilution de l'urine).
- Tube contourné distal (site de réabsorption et de sécrétion plus importante).
- Tube collecteur (également important pour la concentration de l'urine et son transport dans le bassinet rénal) (Chalmers, 2019).

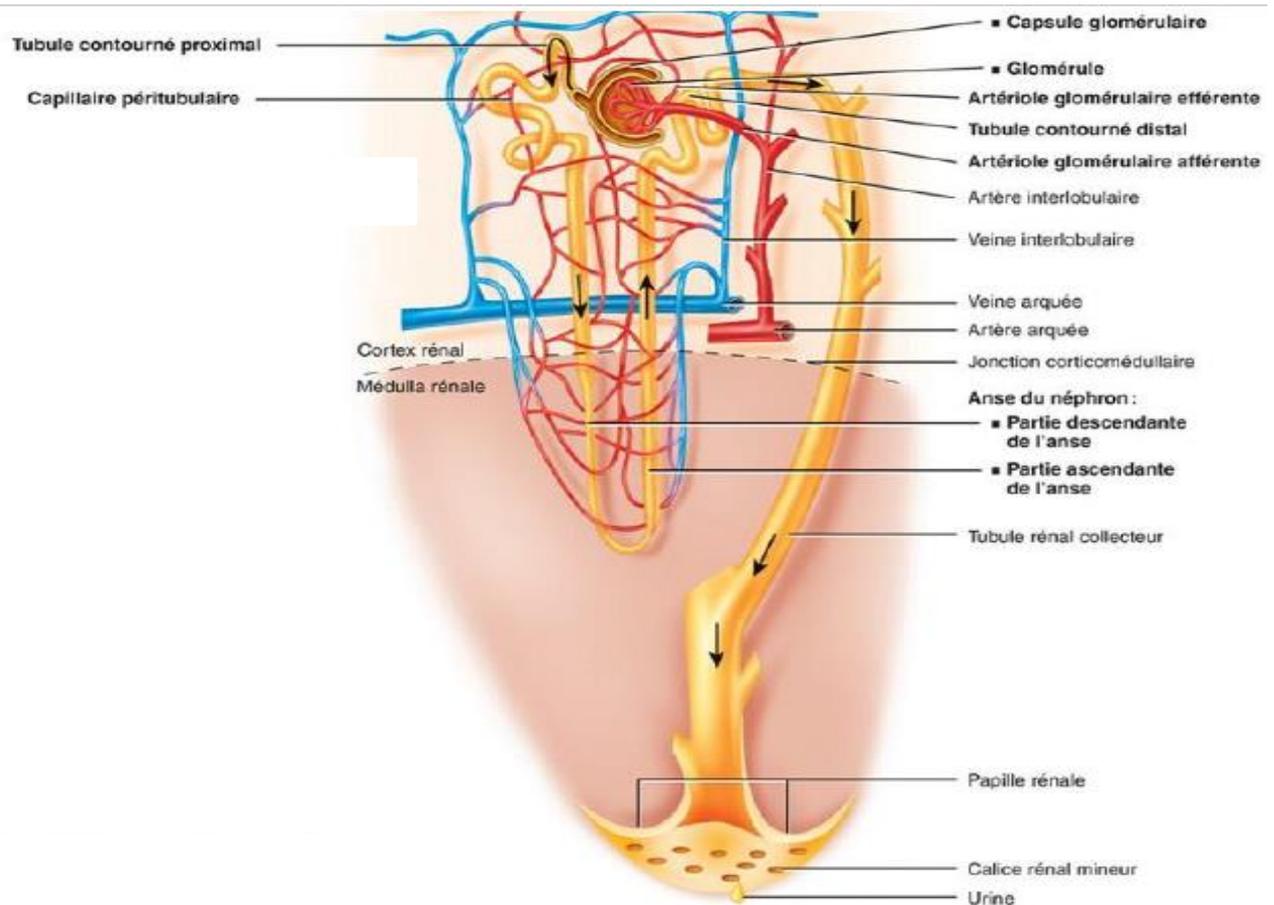


Figure 9: Schéma de la structure du néphron (Tortora et Derrickson, 2015).

Le rein assure de nombreuses fonctions essentielles pour l'organisme. D'une part il permet le maintien de l'équilibre acido-basique ainsi que l'équilibre hydro-électrolytique donc du volume, de l'osmolarité et de la composition électrolytique des liquides de l'organisme. Ceci aboutit au control du pH sanguin et le la pression artérielle. D'autre part, il permet l'épuration de l'organisme de ses déchets endogènes tels que l'urée, l'acide urique et la créatine, ou exogènes tels que les médicaments et toxines. Il exerce également une fonction endocrine qui se traduit par la sécrétion d'hormones telles que l'érythropoïétine, la rénine et participe à l'activation de la vitamine D (Chalmers, 2019; Youcef-Yengej *et al.*, 2020).

4.2.4 Néphrotoxicité des plantes médicinales

Outre le foie, les reins sont la seconde cible majeure des substances toxiques. Ils reçoivent un important apport sanguin (20 à 25 % du débit cardiaque) et en tant que principaux organes d'excrétion, ils sont donc en exposition continue à une plus grande proportion de substances néphrotoxiques y compris celles contenues dans les plantes médicinales (Baudoux et Nortier, 2017). La néphrotoxicité se définit comme l'incapacité des reins à effectuer leurs fonctions

physiologiques normales à savoir l'élaboration de l'urine et l'excrétion des déchets métaboliques. Elle peut être détectée par le dosage de deux paramètres biochimiques la créatinine et l'urée qui constituent les principaux éléments du bilan rénal (Fatima & Nayeem, 2016). L'atteinte rénale associée à l'utilisation de plantes médicinales peut prendre plusieurs formes : lésions rénales aiguës, anomalies de la fonction tubulaire, nécrose papillaire rénale, hypertension systémique, maladies rénales chroniques (MRC), urolithiase et cancer urothélial (Khodadadi et Rafieian-kopaei, 2016). Plusieurs facteurs contribuent à l'effet néphrotoxique des plantes médicinales. Parmi eux on distingue principalement la toxicité intrinsèque des composés phytochimiques car en effet certains composés naturels tels que les alcaloïdes, les terpènes et lactones, les flavonoïdes glycosides, et les saponines peuvent potentiellement être néphrotoxiques. On retrouve également d'autres facteurs tels qu'une préparation incorrecte, un surdosage ou utilisation abusive, une identification incorrecte de la plante, contamination par des métaux lourds, et interaction avec d'autres médicaments (Xu *et al.*, 2020).

Le traitement de la néphrotoxicité causée par les plantes médicinales suit les principes généraux applicables aux patients atteints de lésions rénales aiguës, notamment les soins de soutien, et en évitant une nouvelle exposition aux substances néphrotoxiques ainsi qu'une attention portée à l'équilibre des liquides et des électrolytes. Étant donné les risques d'insuffisance rénale chronique (IRC) chez ces patients, un suivi à long terme est nécessaire pour surveiller la fonction rénale. Chez les patients susceptibles d'avoir été exposés à l'acide aristolochique, un dépistage périodique du cancer de l'uro-épithélium doit être entrepris (Yang *et al.*, 2018).

5 Erica arborea

Les *Ericaceae* sont une large famille représentée par 4250 espèces regroupées en 124 genres (Christenhusz et Byng, 2016). Cette famille dispose d'une large distribution géographique s'étalant des zones froides ou tempérées à basse altitude jusqu'aux montagnes des zones tropicales. Cependant, la plus grande densité et diversité des *Ericaceae* se retrouvent sous le climat méditerranéen (Stevens *et al.*, 2004). Le genre *Erica* compte plus de 700 espèces que l'on retrouve en Afrique du Sud, en Europe occidentale et dans les régions méditerranéennes (Suna *et al.*, 2018), notamment en Algérie où il est représenté par cinq taxons dont *Erica arborea* (Yaici *et al.*, 2019).

5.1 Caractéristiques de l'espèce *Erica arborea*

5.1.1 Noms vernaculaires

Les différentes appellations attribuées à *Erica arborea* varient selon la langue utilisée et la culture (Yaici, 2020). On retrouve ainsi les appellations suivantes :

En berbère : Akhlendj, bou haddad

En arabe : Khlendj, Chendef, Ariga

En français : Bruyère, bruyère arborescent, bruyère blanche

En Anglais: Tree heather, tree-heath.

5.1.2 Taxonomie

Classification systématique d'*Erica arborea* selon Quézel et Santa. (1963) et Dupont et Guignard. (2007).

- **Règne :** Végétal
 - **Embranchement :** Spermatophytes
 - **Sous embranchement :** Angiospermes
 - **Classe :** Eudicots
 - **Ordre :** Ericales
 - **Famille :** Ericaceae
 - **Genre :** *Erica* (Tourn.) L.
 - **Espèce :** *Erica arborea* L.

5.1.3 Description botanique et répartition

Erica arborea est un arbuste pouvant atteindre plus de 3 m de haut, à rameaux dressés, serrés, les plus jeunes sont blanchâtres. Les feuilles sont linéaires et ressemblent à des aiguilles. Les fleurs, en forme de clochette, sont blanches et minuscules (figure 10) (Yaici, 2020). Cette espèce est largement présente dans tout le bassin méditerranéen ainsi que dans la partie occidentale du Portugal, de même que dans les îles Canaries, en Afrique du Nord notamment au Maroc, en Tunisie (Zengin *et al.*, 2019). En Algérie, elle est commune dans les maquis en altitude, les monts des Aurès et les monts de Ksour et dans le massif du Djurdjura (Ait Youssef, 2006). En Kabylie, *Erica arborea* est très largement répartie au sein de ses différentes forêts notamment celle de Yakourene où elle constitue le sous-bois du chêne liège et du chêne zen (Moulla, 2003).



Figure 10: Photos de la partie aérienne d'*Erica arborea* (Feuilles et fleurs).

5.2 Utilisation traditionnelle

Erica arborea est considérée comme une plante astringente, dont les parties aériennes sont utilisées depuis longtemps dans le traitement de nombreuses maladies en raison de leurs bienfaits pour la santé et de leurs activités telles qu'anti-inflammatoire, analgésique, anti-nociceptive, diurétique et anti-rhumatique (Bessah et Benyoussef., 2014). De plus, de nombreuses utilisations de cette plante en médecine traditionnelle à travers le monde ont été mentionnées. En Turquie, ses parties aériennes sont utilisées comme diurétique naturel et pour le traitement des infections urinaires tout comme pour traiter la constipation (Zengin *et al.*, 2019). En Italie, elle est utilisée pour le traitement des infections de la sphère buccodentaire

(Cornara *et al.*, 2009). Aux Iles Canarie, le décocté de fleurs est utilisé comme antiseptique urinaire, anti-inflammatoire et hypotenseur (Darias *et al.*, 2001). En médecine populaire algérienne elle est employée pour traiter l'inflammation, les maladies rénales comme l'urolithiase, les maladies de la prostate et hypertension (Benarba *et al.*, 2015 ; Eddaikra *et al.*, 2019). Elle est principalement recommandée dans la région du tell Sétifien pour traiter et prévenir les infections urinaires aiguës et chroniques (Yaici, 2020). En Kabylie, elle est utilisée pour soigner les calculs rénaux et les taches de rousseur (Meddour et Meddour-sahar, 2015).

5.3 Composition phytochimique

Plusieurs auteurs ont mis en évidence la composition phytochimique des différents extraits d'*Erica arborea*. Selon Ait Youcef. (2006), les flavonoïdes, les phénols, les terpénoïdes, les coumarines et les huiles essentielles sont les principaux composés phytochimiques isolés de cette espèce. Ay *et al.* (2007) rapportent la présence de composés tels que la quercétine et l'épicatéchine. Nazemiyeh *et al.* (2008) a mis en évidence la présence de deux flavones glycosides tricetin 4'-O-a-l-rhamnopyranoside et isorhamnetin 3-O-a-l-rhamnopyranoside. A ceux-ci s'ajoute l'identification de deux phenylpropanoïdes glycosides, 1,2-erythro-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-(b-d-glucopyranosyloxy)propan-1,3-dioll) et l'éricarboïde (Demirkiran *et al.*, 2010). D'après Guendouze-Bouchefa *et al.* (2015), l'*Erica arborea* de la région d'AIT Guendouze (Béjaia, Algérie), révèlent la présence de l'acide caféique, de l'acide *p*-coumarique de la quercétine et de l'acide cinnamique.

5.4 Aspect socio-économique d'*E. arborea*

Outre son utilisation en médecine traditionnelle, l'espèce *E. arborea* revêt une importance économique qui se traduit par la production de pipes de bruyère, de fourrage très apprécié par les caprins, et son utilisation en apiculture pour sa richesse en sucre de son nectar (Mebirouk-Boudechiche *et al.*, 2016).

En Algérie, le cortège floristique des forêts est essentiellement composé d'arbustes dont *Erica arborea* L. constituant ainsi une communauté importante pour la production de miel. Selon Ouchemoukh *et al.* (2016), le pollen de cette espèce est à l'origine botanique du miel de la wilaya de Bejaia. Les analyses spectrophotométriques ainsi que chromatographiques indiquent que ce miel est très riche en composés phénoliques et flavonoïdes.

Matériel et méthodes

1 Matériel

1.1 Matériel végétal

Les parties aériennes d'*E. arborea* (fleurs et feuilles) ont été collectées en mars 2018 dans la forêt de Yakouren (Tizi-Ouzou, Algérie, 36° 44' 05" Nord et 4° 26' 19" Est) (figure 11, 12). La plante a été identifiée par le professeur Laouar Hocine, botaniste au Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. Un spécimen de référence a été déposé au laboratoire sous le numéro SNV 0035-2020. Les échantillons recueillis ont été séchés à l'air libre pendant deux semaines, puis broyés pour obtenir une poudre fine.



Figure11: Photo d'*Erica arborea* prise en pleine forêt de Yakouren (Amroun. Avril, 2018).



Figure 12: Photos de la partie aérienne (fleurs et feuilles) d'*Erica arborea* (Amroun. Avril 2018).

1.2 Animaux d'expérimentation

Des rats Albinos *Wistar* sains, adultes, mâles et femelles (nullipares et non gestantes) pesant 160-200 g au début de l'expérimentation ont été utilisés pour évaluer les études de toxicité orale aiguë et subaiguë, tandis que des souris mâles NMRI d'un poids corporel de 20-30 g ont été utilisées pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. Les deux espèces ont été achetées de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie) et ont été logées dans une animalerie pour une période d'acclimatation de deux semaines avant le début des expérimentations sous les conditions habituelles de laboratoire (12 h de cycle lumière/obscurité, $25 \pm 2^\circ\text{C}$). Un régime alimentaire commercial (ONAB, Lekser) et de l'eau ont été fournis en *ad libitum*. Les expérimentations animales sont conduites dans le respect des lignes directrices et de la charte internationale d'expérimentation animale. La manipulation des animaux était conforme à la déclaration d'Helsinki de 2008.

1.3 Réactifs et appareillage

Les réactifs utilisés ont été achetés au près de Sigma (Germany), Fluka, prolab, CARLO ERBA et Biochem. La chromatographie sur couche mince (CCM) a été effectuée sur des plaques en aluminium (20 x 20 cm) contenant du gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck, Germany).

Parmi les produits utilisés on retrouve les suivants: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS), acide chlorogénique, acide formique, acide gallique, acide linoléique, acide trichloracétique (TCA), acétonitrile, carbonate de sodium (Na_2CO_3), carragénine, chlorure ferrique (FeCl_3), diclofenac, DTNB 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid), eau distillé, éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), Folin-ciocalteu, hydroxyanisole butylé (BHA), hydroxytoluène butylé (BHT), indométacine, méthanol (CH_3OH), persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), phosphate di-potassique (K_2HPO_4), phosphate mono-potassique (KH_2PO_4) potassium de ferricyanide (K_2Fe), quercitine, quercitrine, TBA (thiobarbiturique acide), trichlorure d'Aluminium (AlCl_3), tween 40, β -carotène.

Parmi les appareils utilisés on retrouve les suivants: Rotavapeur (BÜCHI R-125), centrifugeuse réfrigérée (Sigma 2K15), appareil HPLC/MS (UltiMate 3000), appareil HPLC (LaChromelite), spectrophotomètre UV-vis (Pharmacia LKB-NOVASPEC), Agitateur Magnétique (SCIOLOGEX), bain marie (Mermert), étuve (Mermert), plaque chauffante,

balance de précision (OHAUS), vortex (HEIDOLPH), pH mètre (EUTECH PH 700), lampe UV (MinUVIS, Desaga, Heidelberg).

2 Méthodes

2.1 Préparation des extraits bruts d'*E. arborea*

2.1.1 Extrait aqueux (AQ)

L'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante a été obtenue par décoction en mélangeant 100 g de la poudre de la plante à 1 L d'eau distillée bouillie (Mrabti *et al.*, 2018). Le mélange obtenu a été maintenu sous agitation magnétique pendant 20 minutes à 100°C. Après filtration et centrifugation, le filtrat a été séché à l'étuve à 40° C pour obtenir l'extrait aqueux final (AQ).

2.1.2 Extrait éthanolique (EtOH)

L'extrait éthanolique de de la partie aérienne de la plante a été obtenu par macération de 100 g de la poudre de la plante dans 1L d'éthanol 96° pendant une durée de 72 h. Le mélange est laissé sous agitation magnétique, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration et centrifugation, le filtrat a été concentré au rota-vapeur puis sécher à l'étuve à 40° C pour obtenir l'extrait éthanolique final (EtOH).

2.1.3 Extrait hydro-éthanolique (EtOH70 %)

L'extrait hydro-éthanolique de la partie aérienne de la plante a été obtenu en suivant la procédure décrite par Toudji *et al.* (2017). Brièvement, 100 g de la poudre de la plante ont été ajoutés à un mélange d'éthanol/eau (70/30 V/V) et laisser macérer pendant 72h. Le mélange est gardé à température ambiante, à l'abri de la lumière et maintenu sous agitation magnétique pendant la période de macération. Après filtration et centrifugation, le filtrat a été concentré dans un rota-vapeur puis sécher à l'étuve à 40° pour obtenir l'extrait hydro-éthanolique final (EtOH 70%).

2.2 Mise en évidence des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les extraits d'*E. arborea*

2.2.1 Analyses spectrophotométriques

2.2.1.1 Détermination de la teneur totale en polyphénols

➤ Principe du test

Le principe de cette méthode repose sur la réduction en milieu alcalin d'un complexe de composé formé d'acide phosphotungstique (WO_4^{2-})/phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) contenu dans le réactif de Folin-Ciocalteu, par les groupements hydroxyles des composés phénoliques contenu dans les extraits. Cette réaction laisse apparaître une couleur bleu foncée indiquant la présence de composés réducteurs.

➤ Protocole

La détermination de la teneur total en polyphénols des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d'*E. arborea* a été effectuée par la méthode du Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007). Brièvement, un volume de 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1:10) est ajouté à 100 μ l de chaque extrait au concentration de 0.25, 0.5, 1 et 2 mg/mL. Après 4 minutes, 400 μ l de solution de carbonate de sodium (7.5 %) ont été ajoutés. Le mélange résultant est incubé, à l'obscurité et à température ambiante pendant 1h30 min. Ensuite l'absorbance est mesurée, contre un blanc, à 765 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide gallique (0-180 μ g/mL) a été utilisé comme standard pour l'étalonnage de la courbe (figure13). La TTP a été exprimée en μ g d'équivalent acide gallique par mg d'extrait (μ g EAG/mg d'extrait).

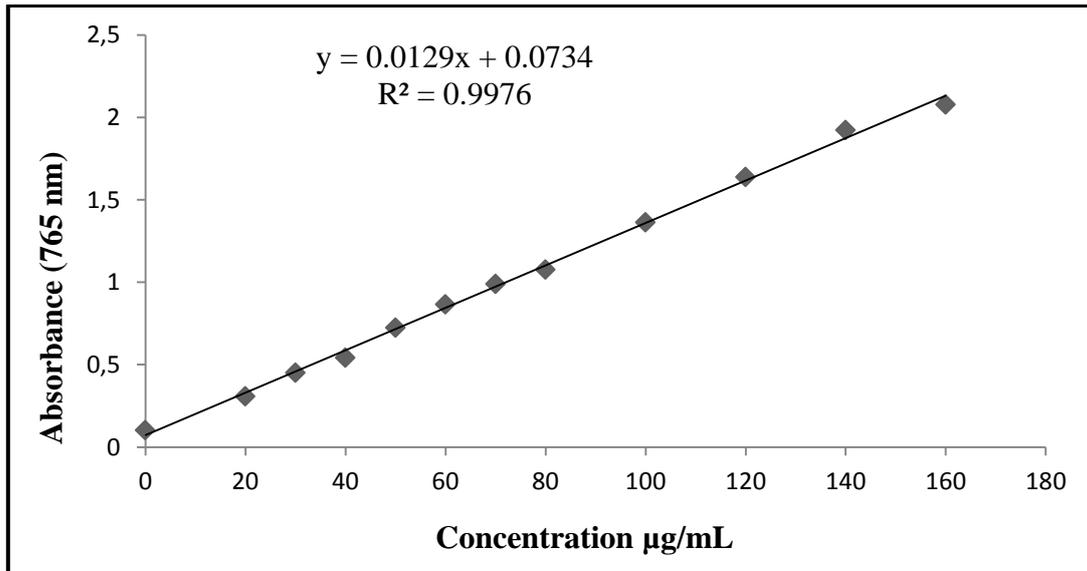


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (N=3).

2.2.1.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes

➤ Principe du test

Cette méthode repose sur la formation d'un complexe entre le AlCl_3 et les groupements hydroxyles (OH) libres des flavonoïdes laissant apparaître une couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes contenu dans les extraits.

➤ Protocole

La détermination de la teneur totale en flavonoïdes des trois extraits *d'E. arborea* a été effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par Bahorun *et al.* (1996). Un volume de 500 μL de chlorure d'aluminium AlCl_3 (2% dans du méthanol) a été ajouté à 500 μL de chaque extrait à des concentrations de 0.25, 0.5 et 1mg/mL. Après une période d'incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 430 nm. La quercétine (0-40 $\mu\text{g/mL}$) a été utilisée comme standard pour l'étalonnage de la courbe (figure 14). La quantité de TF a été exprimée en μg d'équivalent quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

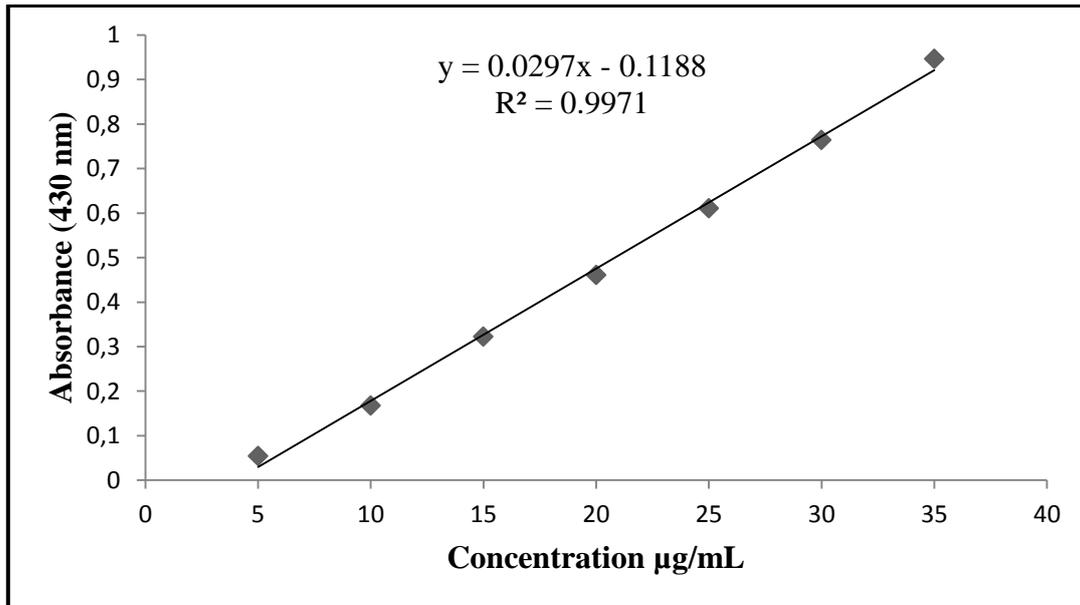


Figure 14: Courbe d'étalonnage de la quercétine. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (N=3).

2.2.2 Analyses chromatographiques

2.2.2.1 Chromatographie sur couche mince

Les analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques de gel de silice (60 F₂₅₄) (Merck, Germany). Trois plaques (P1, P2 et P3) contenant chacune des spots des trois extraits ont été préparées. La P1 et P2 ont été développées dans une cuve en verre contenant un système de solvant composé d'acétate d'éthyle, méthanol, eau acidifiée (7:2:1 ; V/V), tandis que P3 a été développée dans une cuve en verre dont l'éluant est composé d'acétate d'éthyle et méthanol (95:5, V/V).

Après développement des spots, les plaques on suivit les traitements suivants :

Plaque 1: pulvérisées par une solution éthanolique de vanilline puis séchée.

Planque 2: pulvérisée par une solution d'ainoéthanol diphenylborate (1% MeOH) suivit d'une solution de macrogol 400 (5% MeOH) puis séchée.

Plaque 3: observée sous lampe UV à 254, pulvérisée par une solution d'ainoéthanol diphenylborate (1% MeOH) suivit d'une solution de macrogol 400 (5% MeOH), séchée et observée sous lampe à UV 366 nm.

2.2.2.2 HPLC-DAD-MS

La caractérisation phytochimique des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% a été réalisée avec un HPLC-DAD-MS Thermo Scientific Dionex U3000 (Thermo-Dionex, Les Ulis, France) comprenant une pompe quaternaire (LPG-3400 SD), un échantillonneur automatique à thermostat (WPS-3000TSL), un thermostat à colonne (TCC-3000SD) et un détecteur à barrettes de diodes (DAD-3000) en ligne avec un spectromètre de masse quadripolaire (Surveyor MSQ plus System, Thermo-Dionex, Les Ulis, France). La séparation chromatographique a été réalisée avec un débit constant de 0.7 mL/min à l'aide de la colonne X Select® CSHTM Phényl-Hexyl (250 x 4,6mm, 5µm) et maintenue à 25 °C. La phase mobile a été composée de deux éluants chromatographiques : l'éluant A (50%, acétonitrile, 49,95% d'eau, 0,05% d'acide formique), l'éluant B (0,1% d'acide formique dans l'eau). L'éluant par gradient binaire a été formulée comme suit : 0 min, 85% B ; 2 min, 85% B ; 30 min, 28% B ; 32 min, 28% B ; 35 min, 40% B, 37 min, 40% B ; 40 min, 85% B ; 45 min, 85% B. La détection de la DAD s'est faite à une longueur d'onde spécifique de 280 nm. Le flux d'effluent chromatographique a été dirigé vers l'interface du spectromètre de masse (MS), source d'ionisation par électro-spray (ESI). Le spectromètre de masse fonctionnait en mode d'ionisation négative dans les conditions suivantes : tension de pulvérisation d'ions de 3 kV, gaz en rideau de 50 psi, énergie Q de 70 V. Tension du cône 50 V, température de désolvatation 500°C et énergie ionique 0,8 V. Dans tous les cas, les spectres de masse ont été acquis dans la gamme de 100-1000 Th. Chromeleon®, version 6.8 du logiciel fourni par Thermo Scientific Dionex (Les Ulis, France) a été utilisée pour le traitement des données. La caractérisation phytochimique des extraits s'est concentrée sur la comparaison entre les valeurs max λ , la masse des composés et sur la comparaison de l'ordre d'éluant des composés des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% avec les résultats publiés dans la littérature.

2.3 Activité antioxydante *in-vitro* des extraits d'*E. arborea*

2.3.1 Test de l'effet scavenger du radical DPPH

➤ Principe du test

La méthode est basée sur le piégeage de la DPPH par les antioxydants donateurs d'atome d'hydrogène qui, lors d'une réaction de réduction, décolorent la solution de méthanol de DPPH initialement de couleur violet en jaune. Le test mesure donc la capacité réductrice des antioxydants vis-à-vis du radical DPPH (Škrovánková *et al.*, 2012).

➤ Protocole

L'effet anti-radicalaire des trois extraits *vis à vis* du radical libre 2,2-diphényl-1-ptycrylhydrazyl (DPPH) est mis en évidence par la méthode décrite par de Cuendet *et al.* (1997). Le test est réalisé comme suite : un volume de 1250 µL de solution de DPPH (0.004 % dans du méthanol) ont été mélangés à 50 µL de chacune des concentrations des extraits (0-2 mg/mL) et des standard hydroxytoluène butylé (BHT) (0-2 mg/mL) et quercétine (0-0.2 mg/mL). Les mélanges sont maintenus à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes.

Ensuite, l'absorbance des échantillons a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm puis convertie en pourcentage, et l'activité de piégeage des radicaux a été estimée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \right\} \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance de la solution contrôle (solution de DPPH plus MeOH) et $A_{\text{Echantillon}}$ est l'absorbance de l'extrait ou des standards (BHT ou quercétine).

Les valeurs des concentrations inhibitrices 50 (CI_{50}) ont été calculées par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition et sont données en µg/mL.

2.3.2 Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

➤ Principe du test

Le test ABTS permet de mesurer la capacité des antioxydants contenus dans les extraits à piéger les cations ABTS^{•+}. Ces derniers sont formés par oxydation des sels d'ABTS en présence d'un puissant agent oxydant tel que le persulfate de potassium. Ce radical est caractérisé par une couleur bleu-vert qui en présence d'antioxydant donneur d'hydrogène ou d'électron entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à une longueur d'onde de 734 nm (Shalaby et shanad, 2012).

➤ Protocole

L'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est évaluée selon le protocole décrit par Re *et al.* (1999).

Une solution mère d'ABTS⁺ a été obtenue en faisant réagir 7 mM d'ABTS dans H₂O avec 2.45 mM de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) et en laissant reposer dans l'obscurité pendant 16h. La solution résultante a été diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0.7 ± 0.02 à 734 nm.

Brièvement, 1000 µl de la solution ATBTS ont été ajoutés à 50 µl de chacun des extraits de la plante. Après 10 minutes, dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à la longueur d'onde de 734 nm. Le BHT et la quercétine ont été utilisés comme standards antioxydants.

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

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Où **A₀** : absorbance initiale de l'ABTS et **A₁** : absorbance du mélange ABTS + extrait.

2.3.3 Test de blanchissement du β-carotène

➤ **Principe du test**

Le principe de ce test se résume à mesurer la décoloration graduelle de la couleur rouge-orangé du β-carotène qui résulte de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. Toutefois, la présence d'antioxydants dans les extraits pourrait réduire cette décoloration en neutralisant les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et prévenir ainsi le blanchiment du β-carotène (Tepe *et al.*, 2006).

➤ **Protocole**

Selon la procédure décrite par Aslan *et al.* (2006), une émulsion a été préparée en dissolvant 0.5 mg de β-carotène, 1 ml de chloroforme, 25 µL d'acide linoléique et 200 µL de tween 40. Le solvant a été éliminé en soumettant l'émulsion à une pression réduite dans un évaporateur rotatif. Par la suite, 100 mL de H₂O₂ ont été ajoutés au résidu, et l'absorbance a été ajustée à 0.8-0.7 à 490 nm. 1250 µL de l'émulsion ont été mélangés à 175 µL de chacun des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% ou du standard BHT. Une première lecture est effectuée immédiatement, il s'en suit une cinétique de décoloration de l'émulsion à différents intervalles de temps : 1h, 2h, 4h, 6h et 24h d'incubation, à l'obscurité et à température ambiante.

L'inhibition du blanchiment du β -carotène a été calculée comme suite :

$$AA\% = [ABS_{EXT} / ABS_{BHT}] \times 100$$

Où :

AA% = Pourcentage de l'activité antioxydante.

ABS_{EXT} = Absorbance en présence de l'extrait.

ABS_{BHT} = Absorbance en présence du contrôle (BHT).

2.3.4 Pouvoir réducteur

➤ Principe du test

Ce test est fondé sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique du complexe du ferricyanide- Fe_3^+ en fer ferreux Fe_2^+ . Cette réaction de réduction est caractérisée par une coloration verdâtre dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur.

➤ Protocole

Le pouvoir réducteur des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% a été mesurée selon la méthode de Bouaziz *et al.* (2015). Brièvement, 100 μ l de ces extraits ont été mélangés à 100 μ l de tampon de phosphate (0.2 Mm, pH= 6.6), et 100 μ l de ferricyanide de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 250 μ l d'acide trichloroacétique (TCA, 10%) ont été ajoutés, puis le mélange a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. 250 μ l du surnageant ont été mélangés à 250 μ l d'eau distillée et 500 μ l de $FeCl_3$ (0.1%). Après 10 min de réaction, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 700 nm. Le BHT et la quercétine ont été utilisés comme étalons. Les résultats ont été exprimés en $A_{0,5}$, ce qui signifie la concentration efficace à laquelle l'absorbance est de 0,5 %.

2.4 Études *in-vivo*

2.4.1 Études toxicologiques des extraits d'*E. arborea*

2.4.1.1 Evaluation de la toxicité aiguë des extraits d'*E. arborea* chez le rat

Afin d'évaluer l'innocuité des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%, le protocole décrit par la ligne directrice 423 de l'OCDE (OCDE, 2001) a été appliqué. Les animaux des deux sexes sont répartis en 14 groupes expérimentaux (deux groupes témoins et 12 groupes d'essais)

contenant chacun 6 animaux par dose (3 femelles et 3 mâles). Les animaux ont été mis à jeun la veille précédant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. Les différents extraits sont solubilisés dans de l'eau distillée. Chaque lot reçoit par gavage une dose unique de l'extrait ou de l'eau distillée selon le protocole suivant :

- **Groupe Témoin** : Reçoivent par gavage de l'eau distillée.
- **Groupe AQ (mâles et femelles)** : Reçoivent par voie orale l'extrait AQ aux doses de 2000 et 5000 mg/kg.
- **Groupe EtOH (mâles et femelles)**: Reçoivent par voie oral l'extrait EtOH aux doses de 2000 et 5000 mg/kg.
- **Groupe EtOH 70% (mâles et femelles)**: Reçoivent par voie orale l'extrait EtOH 70% aux doses de 2000 et 5000 mg/kg.

2.4.1.1.1 Observations

Après l'administration des doses respectives, les animaux ont été observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes, régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement avec une attention particulière pendant les premières 4 heures puis quotidiennement durant les 14 jours après l'administration des doses des trois extraits. Ceci est réalisé pour évaluer l'état physique général des animaux, relever le taux de la mortalité, les signes toxicologiques ainsi que d'autres symptômes tels que les changements morphologiques, physiologiques et comportementaux.

Le jour du sacrifice, après avoir été mis à jeun la veille, les animaux sont pesés, puis sacrifiés et leurs organes internes dont le foie et les reins ont été prélevés pour une éventuelle étude histopathologique.

2.4.1.1.2 Poids corporel

Le poids corporel individuel de chaque animal est déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite aux jours 7 et 14. Les changements de poids sont enregistrés afin de vérifier d'éventuelles variations pondérales.

2.4.1.1.3 Etude histopathologique du foie et des reins

A la fin de l'expérimentation les animaux ont été sacrifiés, le foie et les reins ont été prélevés et immédiatement rincés à l'eau physiologique, puis ont été fixés dans du formol à 10 %. 48 heures après la fixation, des coupes histologiques de 5 µm d'épaisseur ont été

préparées, colorées à l'hématoxyline/éosine (HE) puis examinées au microscope optique au grossissement 100.

2.4.1.2 Evaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait AQ d'*E. arborea* chez le rat

L'étude des effets toxiques oraux possibles que peut induire la prise répétée de l'extrait AQ est évaluée conformément à la ligne directrice 407 établie par l'OCDE (OCDE, 2008). Vingt rats (par sexe) ont été répartis de manière égale en quatre groupes, dont trois groupes d'essai et un groupe témoin. L'extrait AQ est solubilisé dans de l'eau distillée puis a été administré aux animaux quotidiennement en une seule dose par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, pendant une période de 28 jours. Les groupes sont répartis comme il s'en suit :

- **Groupe Témoin (mâles et femelles) :** Reçoivent par voie orale de l'eau distillée
- **Groupe A (mâles et femelles) :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 250 mg/kg.
- **Groupe B (mâles et femelles) :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 500 mg/kg.
- **Groupe C (mâles et femelles) :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 1000 mg/kg.

Tout au long de l'expérimentation, les signes de toxicité, les comportements anormaux ou de changements d'apparence physique et le taux de mortalité des animaux ont été quotidiennement enregistrés.

2.4.1.2.1 Poids corporel, prise alimentaire et ingestion d'eau

Tous les animaux ont été pesés avant le début de l'expérimentation (J0) puis aux jours 7, 14, 21 et 28. A l'instar du poids corporel, la consommation d'eau et de nourriture a également été mesurée aux jours 7, 14, 21 et 28.

2.4.1.2.2 Prélèvements sanguins

Le sang a été prélevé par le sinus rétro-orbital dans deux types de tubes : le premier contient de l'EDTA pour l'analyse des paramètres hématologique et le second contient de l'héparine pour l'analyse des paramètres biochimiques.

2.4.1.2.2.1 Analyse des paramètres hématologiques

Immédiatement après les prélèvements sanguins, l'analyse des paramètres hématologiques a été effectuée grâce à un automate de type MEDONIC M32 séries. Les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), l'hématocrite (HTC), les plaquettes (PLT), l'hémoglobine (HG), le volume globulaire moyen (VGM), le volume moyen des plaquettes (VMP), l'hémoglobine

corpusculaire moyenne (HCM), la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (CMHC) ont été mesurés.

2.4.1.2.2 Analyse des paramètres biochimiques

Le plasma a été obtenu par centrifugation des tubes héparinés à 3000 rpm pendant 15 minutes et analysé à l'aide d'un analyseur biochimique automatisé (Diatron Pictus 200 : Chemistry System) pour obtenir le taux des paramètres suivants : Aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT), phosphatase alcaline (ALP), urée, acide urique, créatinine, cholestérol total, triglycérides et glycémie.

2.4.1.2.3 Poids relatif des organes

Après le sacrifice de tous les groupes d'animaux, leurs organes internes tels que le foie, les reins, le cœur, les poumons, la rate, le cerveau, l'estomac, ont été soigneusement enlevés, rincés avec de l'eau physiologique fraîche, séchés sur du papier absorbant, dégraisser puis pesés individuellement (poids absolu des organes). Le poids relatif des organes a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{PRO} = [\text{poids absolu des organes (g)} / \text{poids corporel du rat le jour du sacrifice (g)}] \times 100$$

2.4.1.2.4 Étude histopathologique du foie et des reins

Après avoir estimé le poids des organes, le foie et les reins ont été fixés dans du formol à 10 %, déshydratés dans une succession de bains d'éthanol à degrés croissants (70-100 %), clarifiés dans du xylène puis des blocs de paraffine ont été formés. Grâce à un microtome, de fines sections de 5 µm d'épaisseur ont été découpées, déparaffinées puis colorées à l'hématoxyline-éosine (HE).

Les images des coupes histologiques des groupes traités et des groupes témoins ont été prises au grossissement 100 à l'aide d'une caméra de type DFC 945 reliée à un microscope. Leur traitement a été effectué grâce à l'application *Leica suite* version 3.8.0.

2.4.2 Effet anti-inflammatoire

2.4.2.1 Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton

Le test de l'œdème auriculaire a été conduit en utilisant l'huile de croton comme agent irritant, selon le protocole décrit par Dulcetti Junior *et al.* (2004), avec quelques

modifications. Les souris mâles NMRI ont été divisées en 8 groupes contenant chacun 6 souris et ont été prétraitées selon la répartition suivante :

Groupe I (témoin positif) : ont reçu 50 mg/kg d'indométacine.

Groupe II (témoin négatif) : ont reçu de l'eau distillée.

Groupe III (a et b) : ont reçu l'extrait AQ aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Groupe IV (a et b) : ont reçu l'extrait EtOH aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Groupe V (a et b) : ont reçu l'extrait EtOH 70% aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Après une heure, 20 µl d'huile de croton fraîchement préparée (80 µl dans 50 % d'acétone-eau V/V) ont été appliqués sur la face interne de l'oreille droite, tandis que l'oreille gauche a été traitée avec 20 µl d'acétone-eau (V/V). 6 heures plus tard, l'épaisseur de chaque oreille a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse numérique et l'activité anti-inflammatoire a été exprimée en % de l'inhibition de l'œdème à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ de l'inhibition de l'œdème} = \left\{ \frac{(T_D - T_G)_{\text{contrôle (-)}} - (T_D - T_G)_{\text{Extrait}}}{(T_D - T_G)_{\text{contrôle (-)}}} \right\} \times 100.$$

Où : T_D représente l'épaisseur de l'oreille droite et T_G celle de l'oreille gauche.

2.4.2.2 Œdème de la patte induit par le carragénine

Dans ce test, l'effet anti-inflammatoire des trois extraits d'*E. arborea* a été évalué selon la procédure décrite par Amezouar *et al.* (2013). Pour ce faire, 20 souris NMRI mâles ont été réparties en quatre groupes égaux comme suite : L'étude a été menée sur des souris à jeun pendant la nuit

Groupe A (témoin négatif) : ont reçu de l'eau distillée.

Groupe B (témoin positif) : ont reçu du Diclofenac 100 mg.

Groupe C (c1, c2) : ont reçu l'extrait AQ aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Groupe D (d1 et d2) : ont reçu l'extrait EtOH aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Groupe E (e1 et e2) : ont reçu l'extrait EtOH 70% aux doses de 250 et 500 mg/kg.

Groupe F : ont reçu la quercitrine à 1 %.

Groupe G : ont reçu l'acide chlorogénique à 0.2 %.

30 minutes après l'administration orale des substances (eau, Diclofenac 100 mg et doses d'extraits), l'œdème a été induit dans le tissu sous-plantaire de la patte droite par l'injection de 0,01 mL de suspension de carragénine à 1 % dans du sérum physiologique (figure 15). L'épaisseur de la patte a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse, avant l'induction de l'œdème, puis une fois par heure pendant les quatre heures suivant l'induction de l'œdème.

Le pourcentage d'induction de l'œdème a été calculé suivant la formule suivante :

$$\% \text{ d'induction de l'œdème} : \{(T_t - T_0) / T_0\} \times 100.$$

L'effet anti-inflammatoire a été exprimé en pourcentage d'inhibition de l'œdème à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ de l'inhibition de l'œdème} = \{[(T_t - T_0)_{\text{Contrôle}} - (T_t - T_0)_{\text{Extrait}}] / (T_t - T_0)_{\text{Contrôle}}\} \times 100.$$

Où :

T_t représente l'épaisseur de la patte aux différents relevés, et T_0 celle de la patte à t_0 .

3 Analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée à l'aide du logiciel statistique Graph Pad Prism (version 7.00). Les résultats *in-vitro* ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type (SD) et les résultats *in-vivo* sous forme de moyenne \pm l'erreur type (SEM). La signification des résultats a été analysée par le teste d'analyse de la variance (ANOVA) et le test de Student suivie du test de Dunnett, à un niveau d'erreur de 5 %.

Résultats

1 Rendement des extractions

Dans la présente étude, le rendement des différentes méthodes d'extractions est calculé par rapport au poids initial de la matière sèche d'*E. arborea* utilisée dont la valeur est estimée à 30 g.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 6. Ils montrent que le rendement d'extraction de l'extrait hydro-éthanolique (EtOH 70%) présente le taux le plus élevé suivi de celui de l'extrait aqueux (AQ) et enfin celui de l'extrait éthanolique (EtOH). La couleur des extraits varie selon le solvant d'extraction on note une couleur marron dorée pour l'extrait aqueux tandis que l'extrait hydro-éthanolique et éthanolique sont d'une couleur vert bouteille et vert claire, respectivement. L'aspect des extraits varie également selon le solvant d'extraction, on enregistre un aspect miroitant poudreux pour les extraits aqueux et hydro-éthanolique alors que l'extrait éthanolique présente un aspect poudreux matte.

Tableau 6: Rendement d'extraction, couleur et aspect des extrais AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea*.

Extraits	Couleur	Aspect	Masse (g)	Rendement (%)
AQ	Marron doré	Poudre brillante	5.15	17.17
EtOH	Vert clair	Poudre matte	4.99	16.63
EtOH 70%	Vert bouteille	Poudre brillante	5.96	19.88

2 Mise en évidence des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les extraits d'*E. arborea*

2.1 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux est estimée à 203.26 ± 0.73 , 139 ± 0.029 et 197.18 ± 0.020 μg EAG/mg d'extrait pour les extraits AQ, EtOH et EtOH 70%, respectivement. La teneur en flavonoïdes est estimée à 38.95 ± 0.55 , 47.47 ± 0.020 et 36.51 ± 0.00 μg EQ/mg d'extrait, pour les extraits AQ, EtOH et EtOH 70%, respectivement (figure 15 et 16).

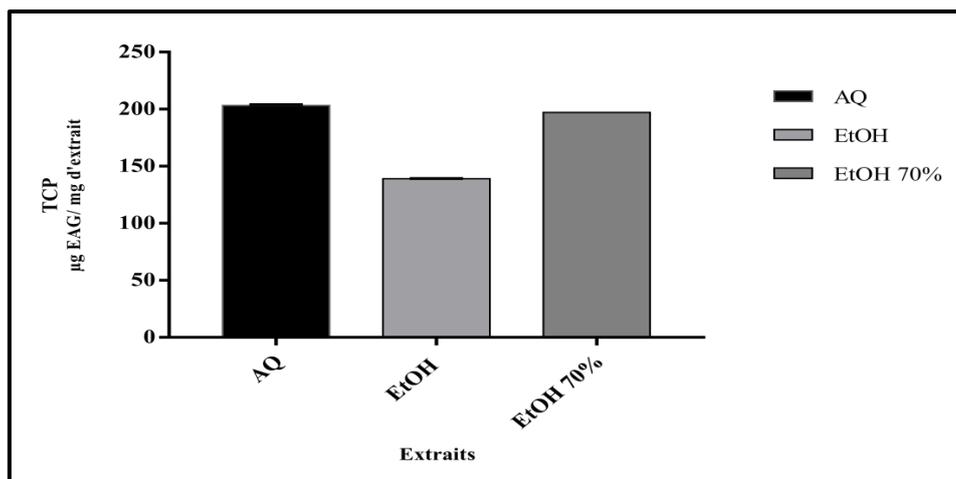


Figure 15: Teneur en composés phénoliques (TCP) des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea*. Chaque valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm SD.

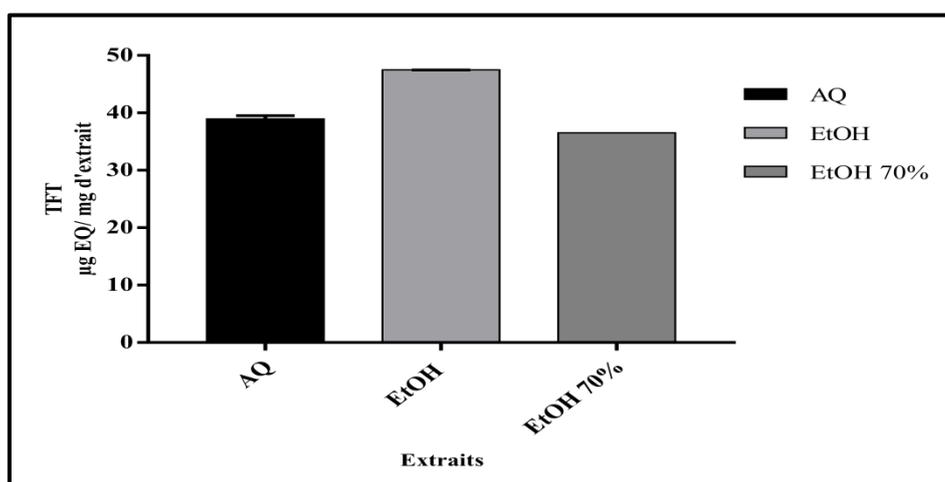


Figure 16: Teneur en flavonoïdes totaux (TFT) des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea*. Chaque valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm SD.

2.2 Chromatographie sur couche mince

Les figures 17, 18, 19 et 20 représentent les plaques P1, P2, P3.a et P3.b, respectivement. La révélation à la vanilline (P1) indique la présence de plusieurs familles de composés secondaires notamment des flavonoïdes. En effet, la révélation au réactif de Neu (P2, P3) (solution de macrogol) caractéristique des flavonoïdes vient confirmer la présence de ces derniers sous forme de traces jaune-orangées au sein des trois extraits.

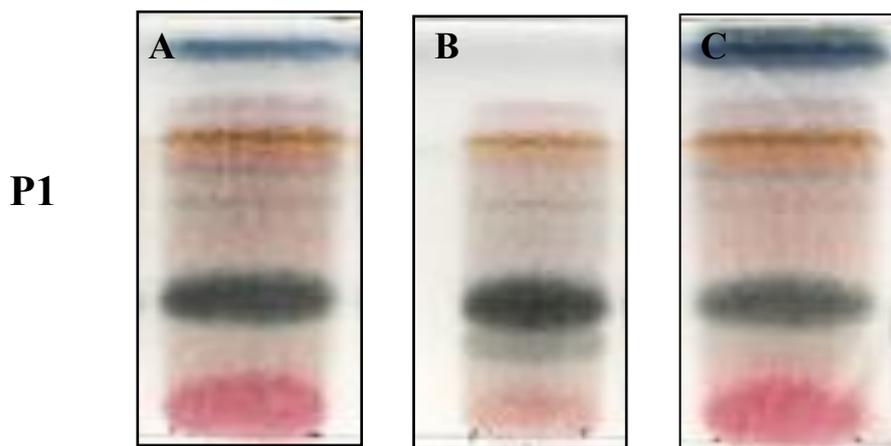


Figure 17: Plaques CCM des extraits AQ (A), EtOH (B) et EtOH 70% (C) de la partie aérienne d'*E. arborea* révélées à la vanilline.

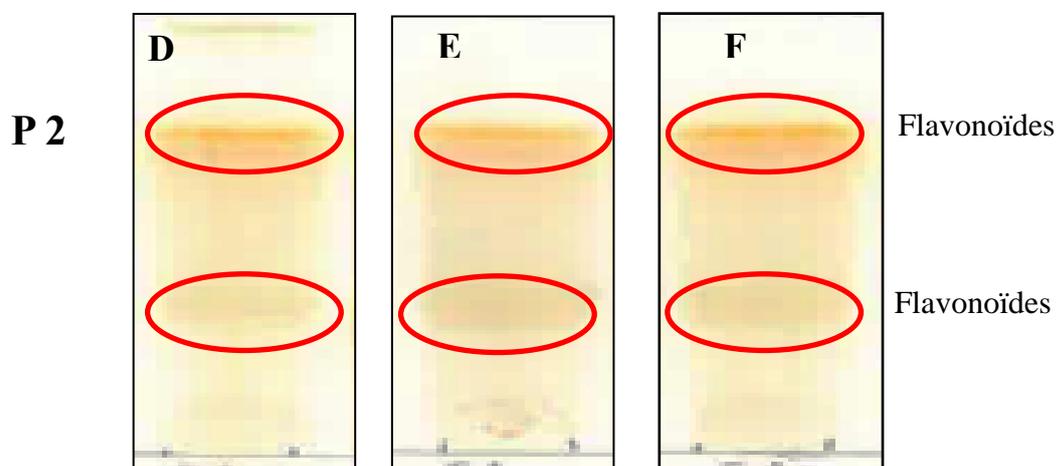


Figure 18: Plaques CCM des extraits AQ (D), EtOH (E) et EtOH 70% (F) de la partie aérienne d'*E. arborea* révélées au réactif de Neu.

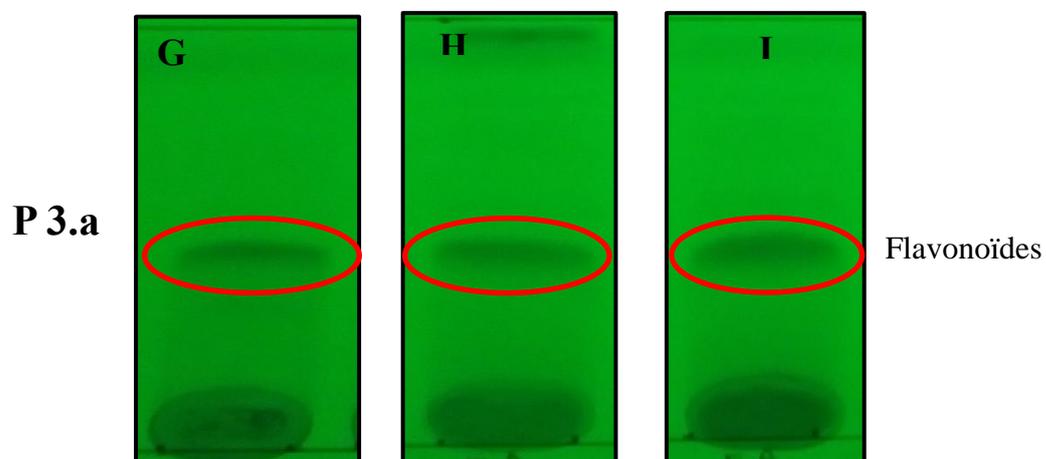


Figure 19: Plaques CCM des extraits AQ (G), EtOH (H) et EtOH 70% (I) de la partie aérienne d'*E. arborea* observées sous lampe UV à 254 nm.

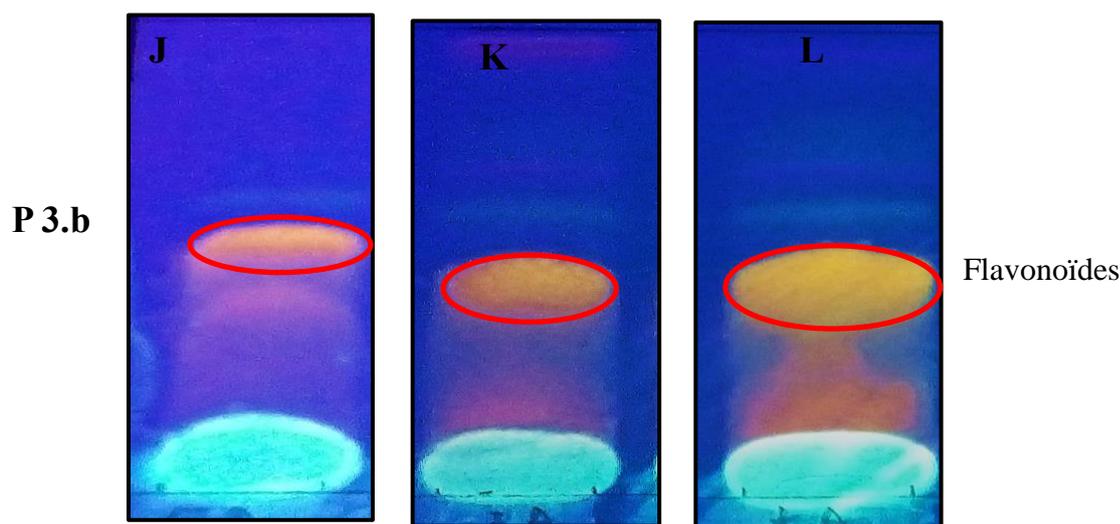


Figure 20: Plaques CCM des extraits AQ (J), EtOH (K) et EtOH 70% (L) de la partie aérienne d'*E. arborea* pulvérisées au réactif de Neu, séchées puis observées sous lampe UV à 366 nm.

2.3 HPLC-DAD-MS

La caractérisation phytochimique des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* s'est appuyée sur la comparaison entre les valeurs de λ_{\max} , la masse et l'ordre d'éluion des composés phytochimiques contenus dans les trois extraits avec les résultats publiés dans la littérature ainsi que la comparaison avec les standards externes disponibles dont la quercétrine et l'acide chlorogénique.

Les tableaux 7, 8 et 9 résument l'identification putative des composés phénoliques contenus dans les extraits AQ, EtOH et EtOH 70% détectés à 280 nm.

Les profils chromatographiques détectés à 280 nm des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* analysés par HPLC-DAD-MS sont présentés dans les figures 21, 22, et 23, respectivement. Parmi les composés identifiés, on retrouve principalement des acides phénoliques et leurs dérivés dont l'acide chlorogénique, l'acide *p*-coumarique hexaside et l'acide 5-*O-p*-coumaroylquinique. On retrouve également la présence cinq flavonols glycosides notamment la myricétine pentoside, la quercétine-3-*O*-glucoside, la myricétine-3-*O*-rhamnoside, la quercétine-3-*O*-pentoside et la quercétine-3-*O*-rhamnoside. Toutefois, les chromatogrammes obtenus montrent que l'acide chlorogénique (AC) et la quercétine-3-*O*-rhamnoside représentent les deux pics majoritaires. Les autres composés phytochimiques sont minoritaires, et leur l'abondance varie selon l'extrait analysé.

Tableau 7: Identification putative des composés phénoliques contenus dans l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* détectés à 280 nm des extraits AQ analysés par HPLC-DAD-MS.

Extrait / Standards	Pic	t _r (min)	λ _{max} (nm)	m/z (M-H) ⁻	Fragments de masse	Identification putative	Méthode d'identification
Extrait aqueux (AQ)	1	20.23	219/246/327	353	353(100), 399(17), 707(25)	Acide chlorogénique	ms/LP [4] / λ _{max} /SE
	2	22.62	210/261/358	479	337(31), 479(100), 515(67), 691(38),	Myricétine pentoside	ms/LP [4] / λ _{max}
	3	25.14	209/263/350	463	463(100)	Myricétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 2, 3] / λ _{max}
	4	25.43	201/259/357	463	421(67), 463(100), 714(57), 849(22), 927(37)	Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside	ms/LP [3, 4] / λ _{max}
	5	27.61	202/273/361	433	387(17), 433(37), 575(100), 713(37)	Quercétine-3- <i>O</i> -pentoside	ms/LP [4] / λ _{max}
	6	28.19	201/256/348	447	447(100), 493(41), 895(54)	Quercétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 3] / λ _{max} /SE
Acide chlorogénique	-	17.93	222/242/327	353	353(100), 707(34)	-	-
Quercétin-3- <i>O</i> -rhamnoside	-	28.63	234/261/350	447	447(100), 493(62), 892(30)	-	-

LP : littérature publiée ; ms : masse ; SE : standards externes ; t_r : temps de rétention. [1] Ay *et al.*, 2007; [2] Aires et Carvalho, 2017; [3] Dias *et al.*, 2015 ; [4] Zengin *et al.*, 2019, [5] Ștefănescu *et al.*, 2019

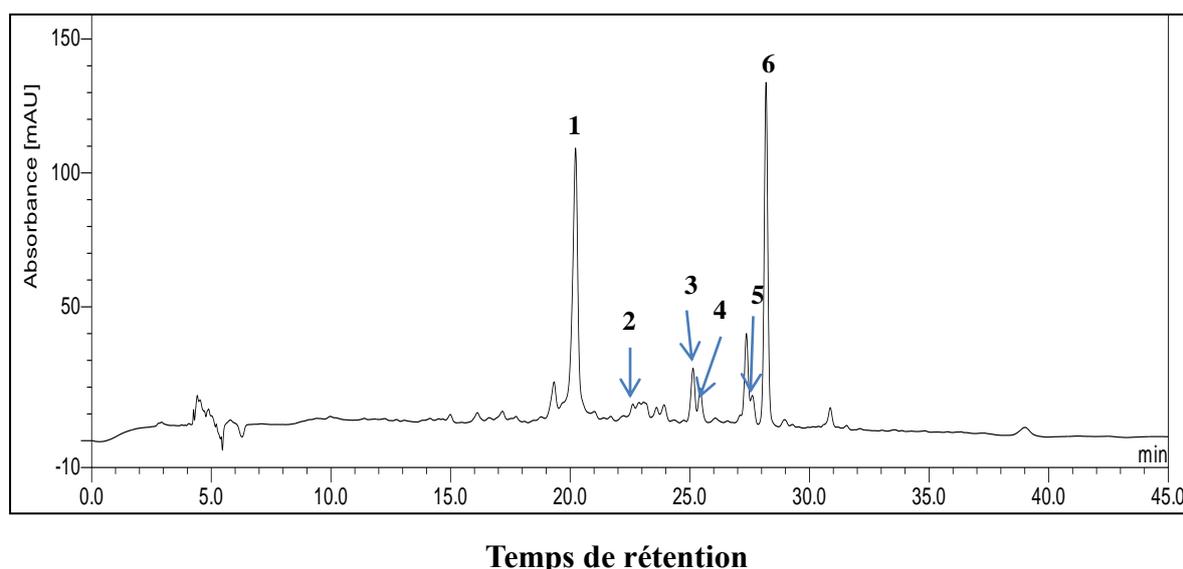


Figure 21: Profil chromatographique de l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* détecté à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS. Les chiffres représentent les composés phytochimiques suivants : 1 : Acide chlorogénique, 2 : Myricétine pentoside, 3 : Myricétine-3-*O*-rhamnoside, 4 : Quercétine-3-*O*-glucoside, 5 : Quercétine-3-*O*-pentoside, 6 : Quercétine-3-*O*-rhamnoside.

Tableau 8: Identification putative des composés phénoliques contenus dans l'extrait EtOH de la partie aérienne d'*E. arborea* détectés à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS.

Extrait / Standards	Pic	t _r (min)	λ _{max} (nm)	m/z (M-H) ⁻	Fragments de masse	Identification putative	Méthode d'identification
Extrait éthanolique (EtOH)	1	19.18	202/278/359	325	325 (100), 289 (28), 403 (38), 615 (28)	acide <i>p</i> -coumarique hexoside	ms/LP [5]
	2	20.24	220/245/326	353	353(100), 707(13)	Acide chlorogénique	ms/LP [4] / λ _{max} /SE
	3	24.99	209/263/350	463	463 (100)	Myricétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 2, 3] / λ _{max}
	4	25.28	209/263/350	463	421(100), 450 (24), 463(67), 716 (28)	Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside	ms/LP [3, 4] / λ _{max}
	5	27.45	203/266/344	433	433(100), 611 (86), 713(23)	Quercétine-3- <i>O</i> -pentoside	ms/LP [4] / λ _{max}
	6	28.03	205/259/350	447	447(100), 482 (21), 895(57)	Quercétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 3] / λ _{max} /SE
Acide chlorogénique	-	17.93	222/242/327	353	353(100), 707(34)	-	-
Quercetin-3- <i>O</i> -rhamnoside	-	28.63	234/261/350	447	447(100), 493(62), 892(30)	-	-

LP : littérature publiée ; ms : masse ; SE : standards externes ; t_r : temps de rétention. [1] Ay *et al.*, 2007; [2] Aires et Carvalho, 2017; [3] Dias *et al.*, 2015 ; [4] Zengin *et al.*, 2019, [5] Ștefănescu *et al.*, 2019

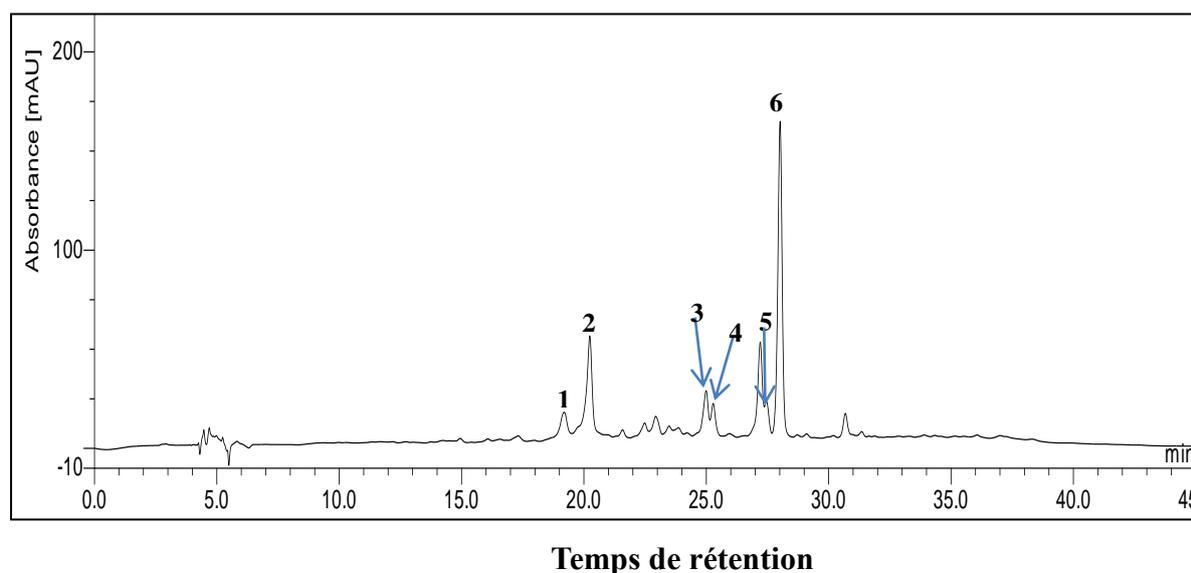


Figure 22: Profil chromatographique de l'extrait EtOH de la partie aérienne d'*E. arborea* détecté à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS. Les chiffres représentent les composés phytochimiques suivants : 1 : acide *p*-coumarique hexoside ; 2 : Acide chlorogénique ; 3 : Myricétine-3-*O*-rhamnoside ; 4 : Quercétine-3-*O*-glucoside ; 5 : Quercétine-3-*O*-pentoside ; 6 : Quercétine-3-*O*-rhamnoside.

Tableau 9: Identification putative des composés phénoliques contenus dans EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* détectés à 280 nm par analyse HPLC-DAD-MS.

Extrait / Standards	Pic	t _r (min)	λ _{max} (nm)	m/z (M-H) ⁻	Fragments de masse	Identification putative	Méthode d'identification
Extrait hydro-éthanolique (EtOH 70%)	1	19.24	202/281	325	325 (100), 615 (47)	Acide <i>p</i> -coumarique hexaside	ms/LP [5]
	2	20.20	220/240/326	353	399 (29), 353(100), 707(22)	Acide chlorogénique	ms/LP [4] / λ _{max} /SE
	3	22.49	202/282/317	337	337 (100), 489 (43), 910 (37)	Acide 5- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroylquinique	ms/LP [2, 5] / λ _{max}
	4	25.01	208/262/350	463	463(100)	Myricétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 2, 3] / λ _{max}
	5	28.19	201/256/348	447	447(100), 493(83), 892(98)	Quercétine-3- <i>O</i> -rhamnoside	ms/LP [1, 3] / λ _{max} /SE
Acide chlorogénique	-	17.93	222/242/327	353	353(100), 707(34)	-	-
Quercétin-3- <i>O</i> -rhamnoside	-	28.63	234/261/350	447	447(100), 493(62), 892(30)	-	-

LP : littérature publiée, Ms : masse, SE : standards externes ; t_r : temps de rétention. [1] Ay *et al.*, 2007; [2] Aires et Carvalho, 2017; [3] Dias *et al.*, 2015 ; [4] Zengin *et al.*, 2019, [5] Ștefănescu *et al.*, 2019

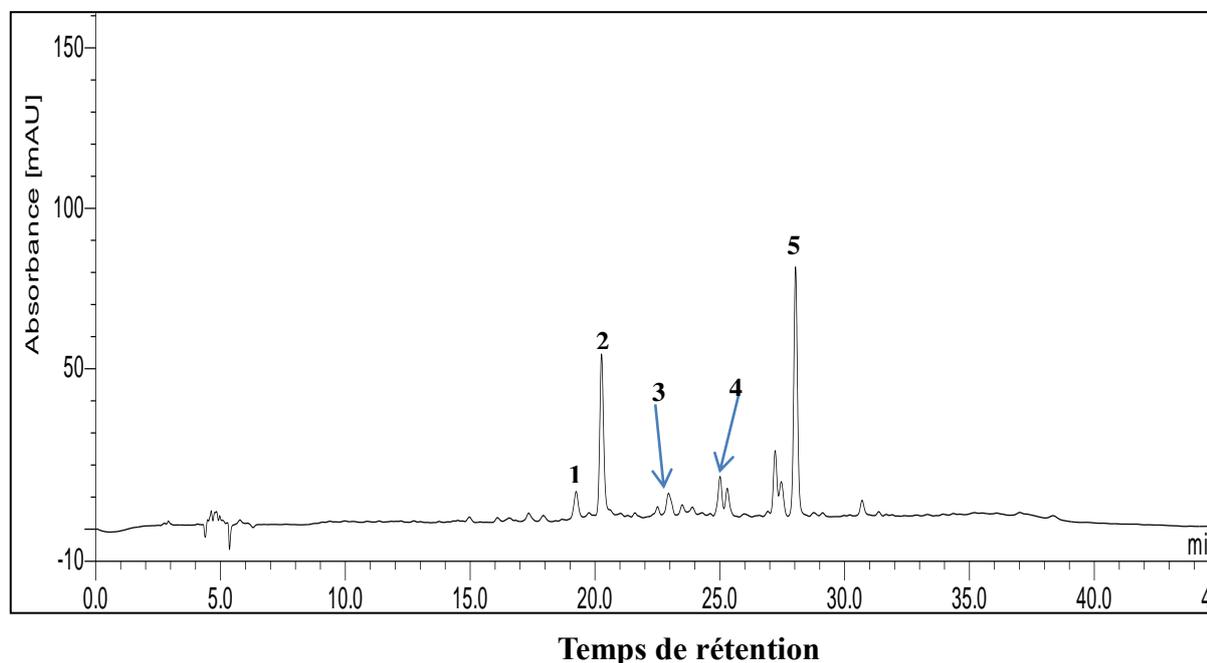


Figure 23: Profil chromatographique détecté à 280 nm de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* analysé par HPLC-DAD-MS. Les chiffres représentent les composés phytochimiques suivants : 1 : acide *p*-coumarique hexaside ; 2 : Acide chlorogénique ; 3 : Acide 5-*O*-*p*-coumaroylquinique ; 4 : Myricétine-3-*O*-rhamnoside ; 5 : Quercétine-3-*O*-rhamnoside.

3 Activité antioxydante *in-vitro* des extraits d'*E. arborea*

3.1 Piégeage du radical DPPH·

Les résultats de l'activité antioxydante des trois extraits d'*E. arborea vis-à-vis* du radical DPPH sont représentés dans la figure 24. Les trois extraits évalués ont démontré qu'ils possèdent une activité anti-radicalaire similaire à celle exprimée par le standard BHT, en effet les extraits AQ, EtOH, EtOH 70% et le standard BHT ont exprimés une valeur d' CI_{50} égale à 0.024 ± 0.001 , 0.019 ± 0.01 , 0.017 ± 0.0006 et 0.023 ± 0.001 , respectivement. Toutefois, la comparaison de l'activité anti-radicalaire des trois extraits par rapport à celle de la quercétine ($IC_{50} = 0.003 \pm 0.00$) enregistre une différence significative ($p < 0.0001$).

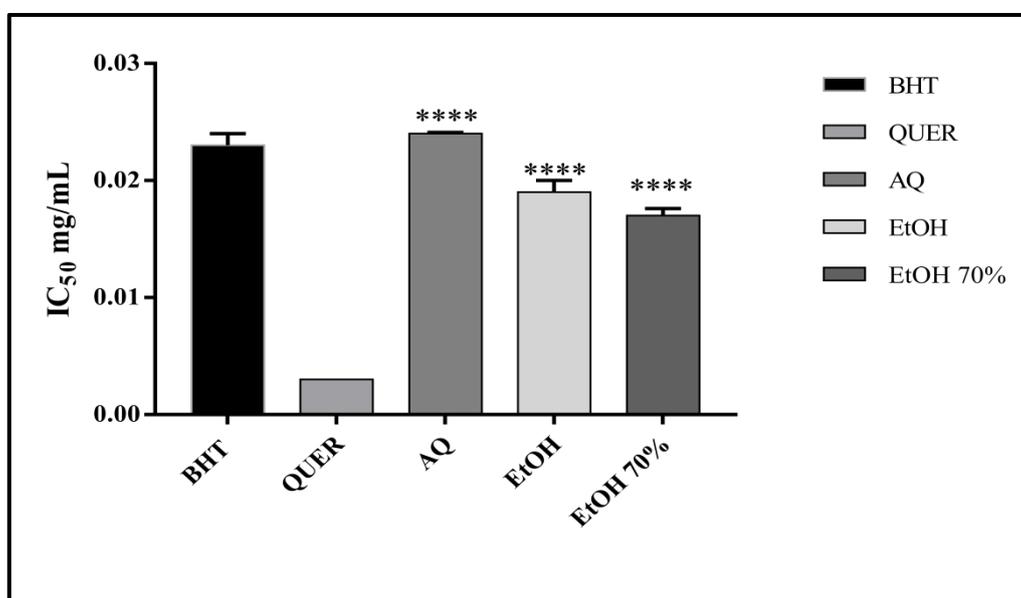


Figure 24: Activité anti-radicalaire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea vis-à-vis* du radical libre DPPH·. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). **** $p < 0.0001$ lors de la comparaison des extraits avec la quercétine.

3.2 Piégeage du radical $ABTS^{\cdot+}$

L'effet scavenger des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% *vis-à-vis* des radicaux $ABTS^{\cdot+}$ a été révélé par la diminution progressive de la couleur bleu-vert caractéristique de la solution $ABTS^{\cdot+}$. Les résultats obtenus montrent que les extraits AQ, EtOH et EtOH 70% expriment un effet de piégeage des radicaux $ABTS^{\cdot+}$ élevé avec des CI_{50} estimés à 0.010 ± 0.0008 , 0.012 ± 0.00 et 0.008 ± 0.0001 , respectivement (figure 25). Cependant, en comparaison avec CI_{50} du

standard BHT seul l'extrait EtOH 70% exprime un effet similaire. Les valeurs des IC_{50} des trois extraits demeurent significativement différentes ($p < 0.0001$) de celle de la quercétine (figure 26).

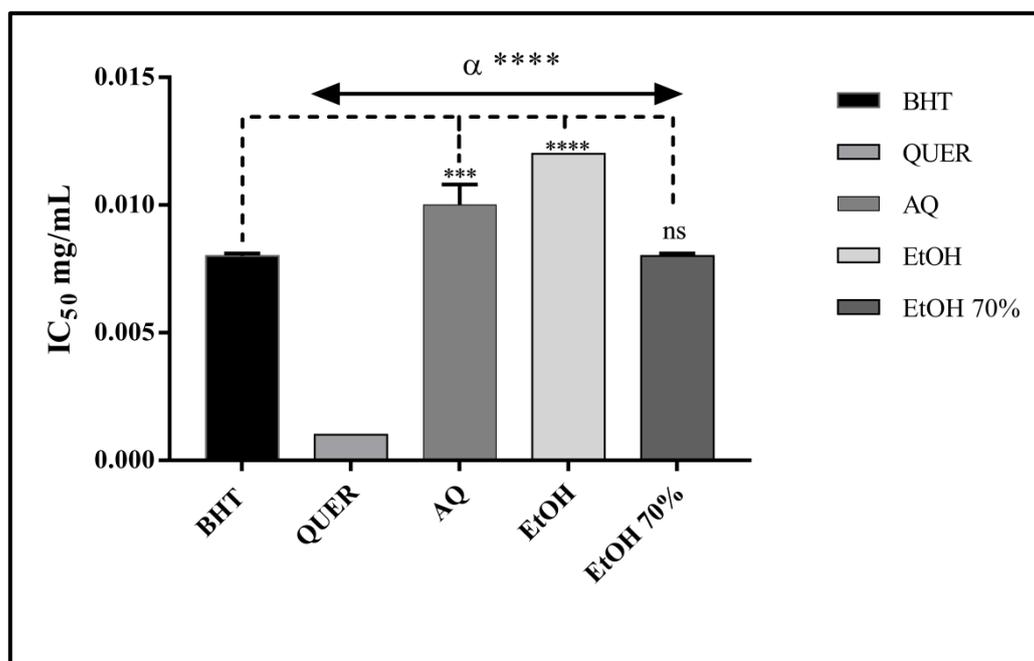


Figure 25: Activité anti-radicalaire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea* vis-à-vis du radical libre $ABTS^{\cdot+}$. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD ($n=3$). ns : pas de différence significative, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, α : la comparaison a été effectuée avec la quercétine (QUER).

3.3 Test du blanchiment du β -carotène

Les résultats du pourcentage d'inhibition des trois extraits en regard du blanchiment du β -carotène sont représentés dans la figure 26. Nous constatons qu'en présence des trois extraits et du standard BHT l'oxydation du β -carotène est efficacement réduite. En effet, les valeurs des pourcentages d'inhibition des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% se rapprochent de celle du BHT et sont estimées à 74.78 ± 0.33 %, 86.55 ± 0.97 %, 95.55 ± 0.97 % et 99.48 ± 0.65 %, respectivement.

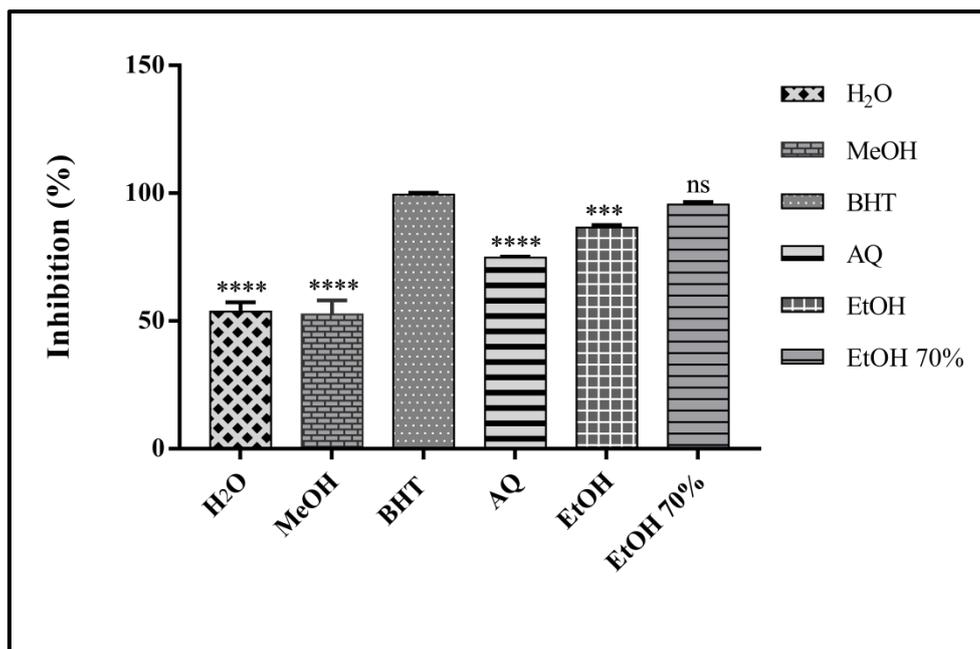


Figure 26: Pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène par les extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea*. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). ns : pas de différence significative, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$. BHT : butyl hydroxytoluene ; MeOH : méthanol ; H₂O : eau.

3.4 Test du pouvoir réducteur

Les différents extraits de la partie aérienne d'*E. arborea* ont montré un excellent pouvoir réducteur dont les $A_{0.5}$ sont estimées à 0.021 ± 0.0003 , 0.011 ± 0.0001 et 0.017 ± 0.000 pour l'extrait AQ, EtOH et EtOH 70%, respectivement.

Il est à noter que les valeurs des $A_{0.5}$ des extraits EtOH et EtOH 70% sont significativement différentes ($p < 0.001$ et $p < 0.0001$, respectivement) de celle obtenue pour le BHT ($A_{0.5} = 0.020 \pm 0.0008$), alors que celle de l'extrait AQ ne présente aucune différence significative au seuil de 0.05. Toutefois, ces absorbances 0.5 demeurent inférieures à celle obtenue pour la quercétine ($p < 0.0001$) (figure 27).

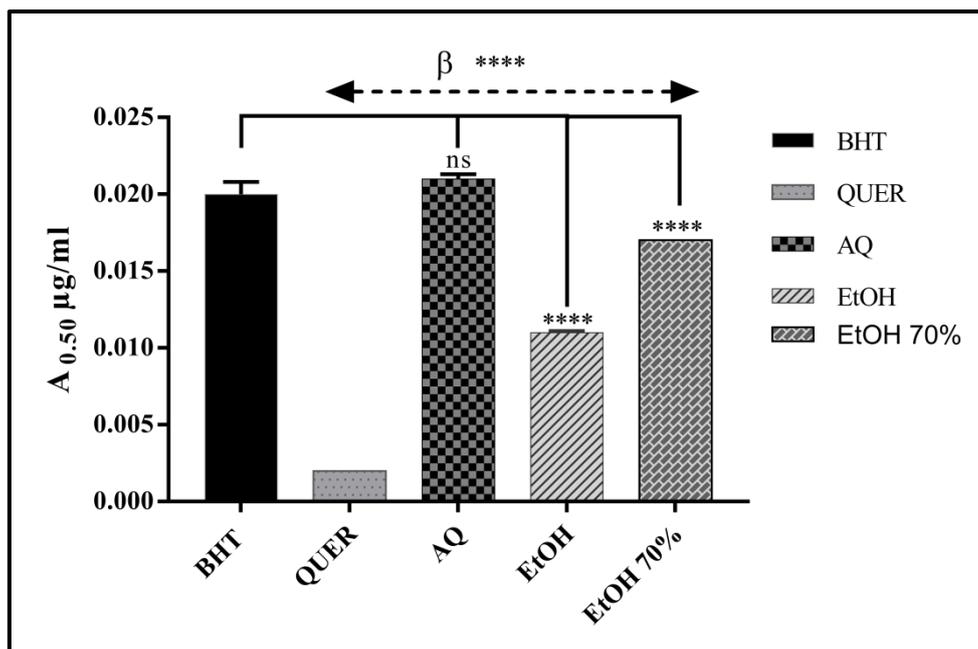


Figure 27: Pouvoir réducteur des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de la partie aérienne d'*E. arborea*. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). ns : pas de différence significative, **** p < 0.0001. BHT : butyl hydroxytoluene, QUER : quercétine, β : la comparaison a été effectuée avec la quercétine (QUER).

4 Études toxicologiques

4.1 Toxicité aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%

Au bout de 14 jours d'observation, aucune mortalité ou morbidité n'a été enregistrée chez les rats des deux sexes ayant reçu les extraits AQ, EtOH et EtOH 70% aux doses de 2000 mg/kg et 5000 mg/kg. De plus, les animaux n'ont pas montré d'effets toxiques, ni de changements comportementaux ou morphologiques.

4.2 Effet de la prise aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% sur le poids corporel des animaux

Les résultats de l'évaluation de la prise aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* sur le poids corporel des animaux sont reportés dans la figure 28 A, B et C, respectivement. Les résultats obtenus ne montrent aucune variation du poids corporel des animaux des deux sexes à l'exception celui des rats mâles ayant reçu l'extrait EtOH 70% à la dose de 2000 mg.

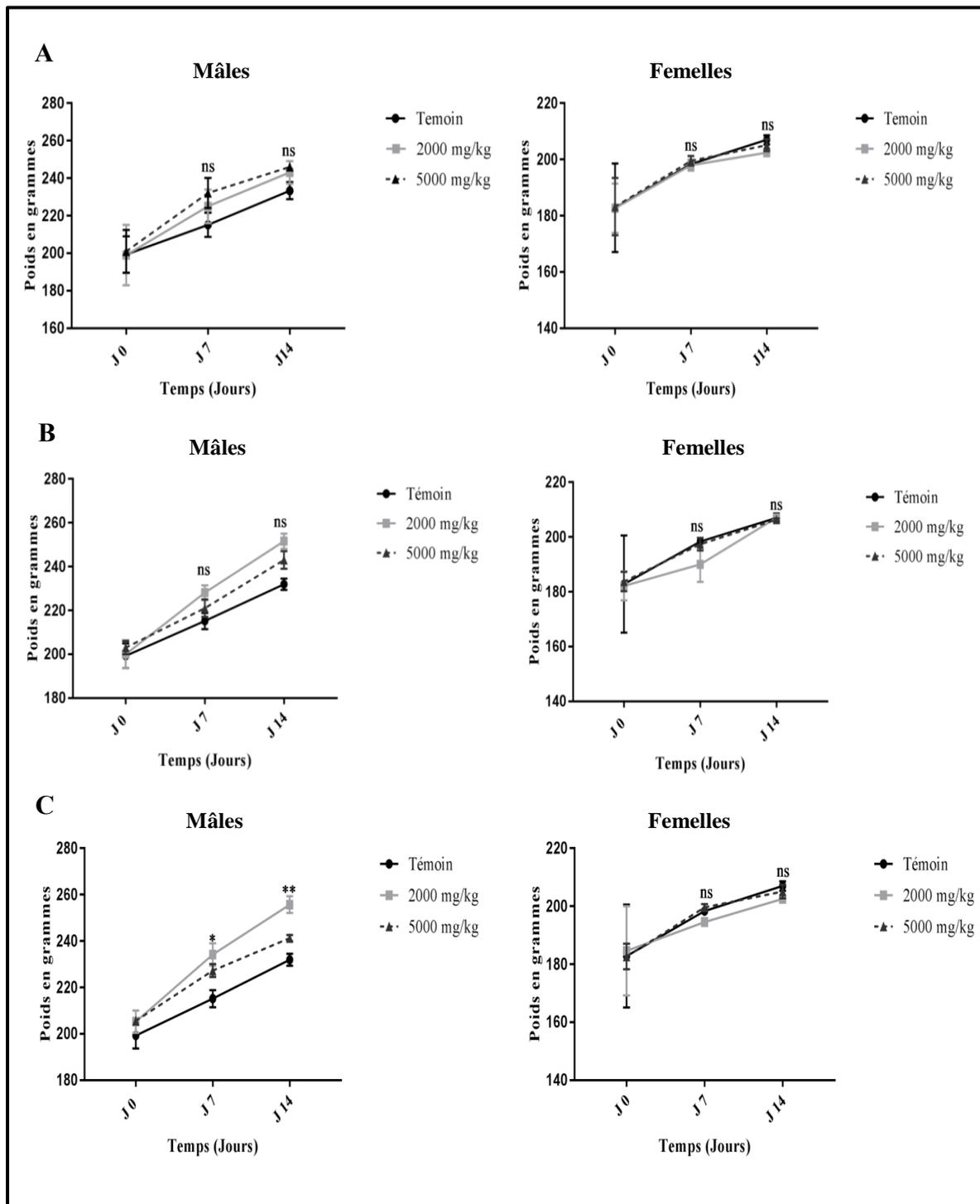


Figure 28: Effet de la prise unique des extraits AQ (A), EtOH (B) et EtOH 70% (C) de la partie aérienne d'*E. arborea* sur le poids corporel des rats mâles et femelles. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (N= 3). ns : aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin et les et les groupes traités ; * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$.

4.3 Effet de la prise aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d'*E. arborea* sur l'histologie du foie et des reins

L'effet de l'administration aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% aux doses de 2000 et 5000 mg/kg sur l'histologie du foie et des reins des rats mâles et femelles est représenté sur les figures 29, 30, 31, 32, 33 et 34. L'observation des coupes histologiques du foie et des reins des animaux des deux sexes traités avec 2000 et 5000 mg/kg des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% révèle la présence de quelques modifications au niveau des la structure cellulaire et tissulaire lorsqu'elles sont comparées à leurs témoins respectifs. Ces modifications sont majoritairement représentées par un rétrécissement de l'espace de BOWMAN ainsi que la présence d'un infiltrat inflammatoire. Toutefois, ces dernières ne semblent pas être pathologiques.

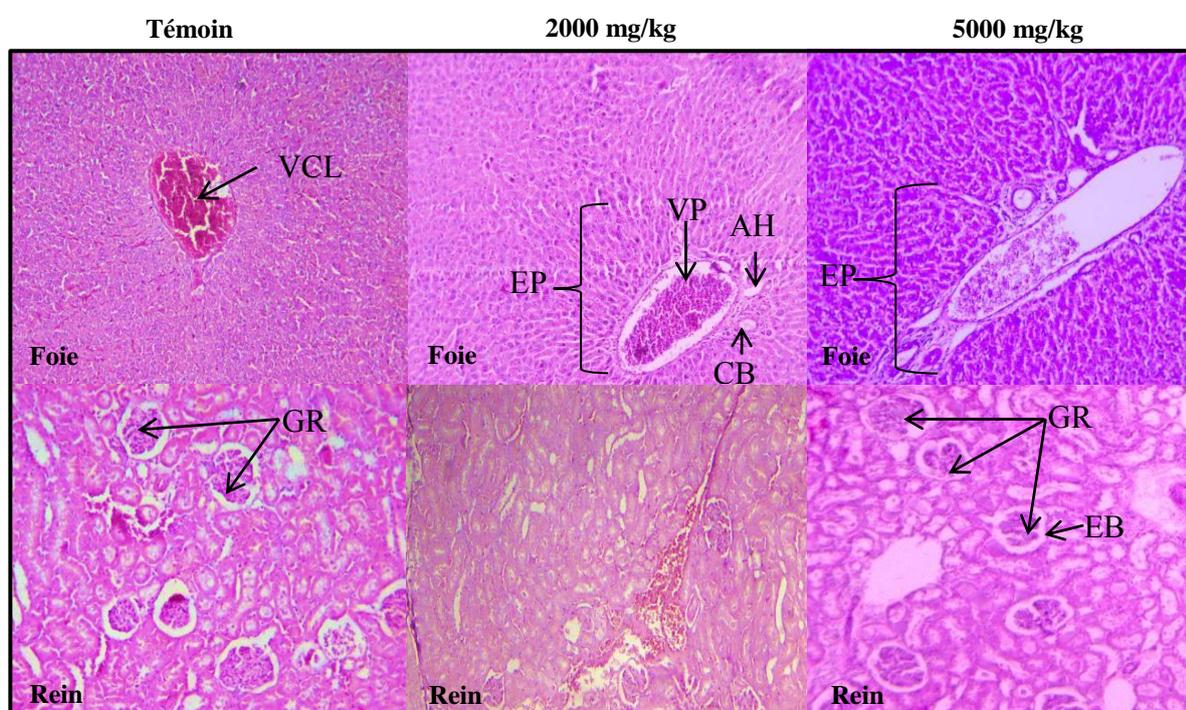


Figure 29: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait AQ (2000 et 5000 mg/kg) de la partie aérienne d'*E. arborea* observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). AH : artère hépatique, CB : canal biliaire, EB : espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, VCL : veine centro-lobulaire, VP : veine porte.

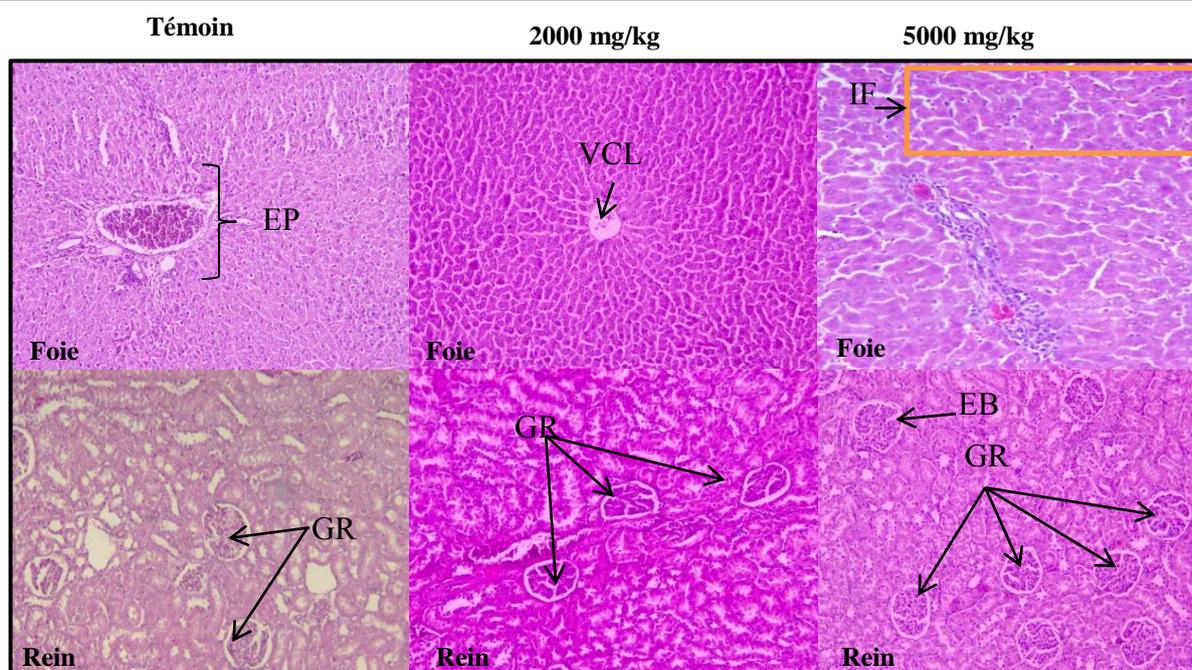


Figure 30: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses uniques de l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). EB : espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, IF : infiltrat inflammatoire, VCL : veine centro-lobulaire.

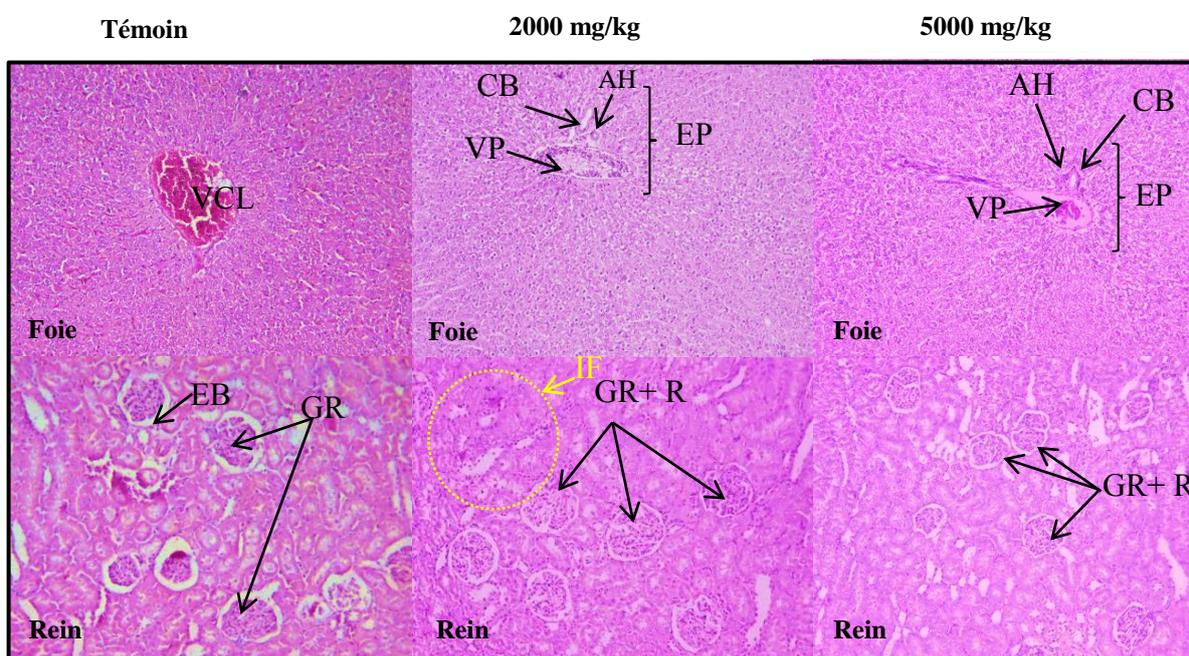


Figure 31: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait EtOH de la partie aérienne d'*E. arborea* (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). AH : artère hépatique, CB : canal biliaire, EB : espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, IF : infiltrat inflammatoire, R : Rétrécissement de l'espace de BOWMAN, VCL : veine centro-lobulaire, VP : veine porte.

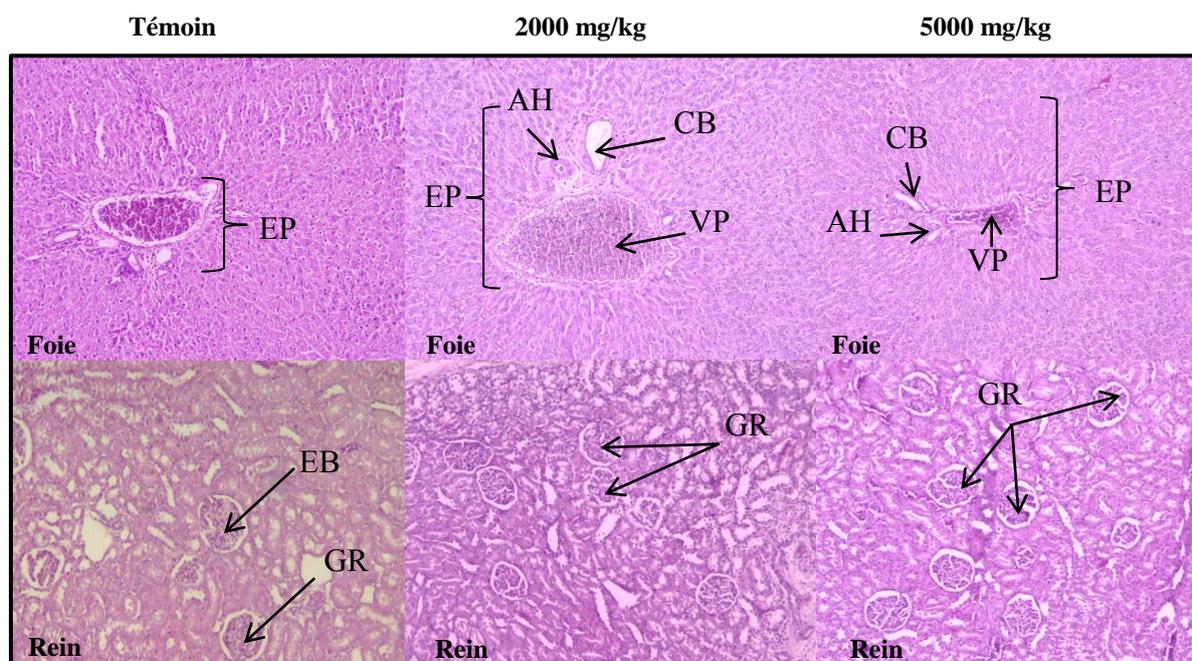


Figure 32: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses uniques de l'extrait EtOH de la partie aérienne d'*E. arborea* (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). AH : artère hépatique, CB : canal biliaire, EB : Espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, VCL : veine centro-lobulaire, VP : veine porte.

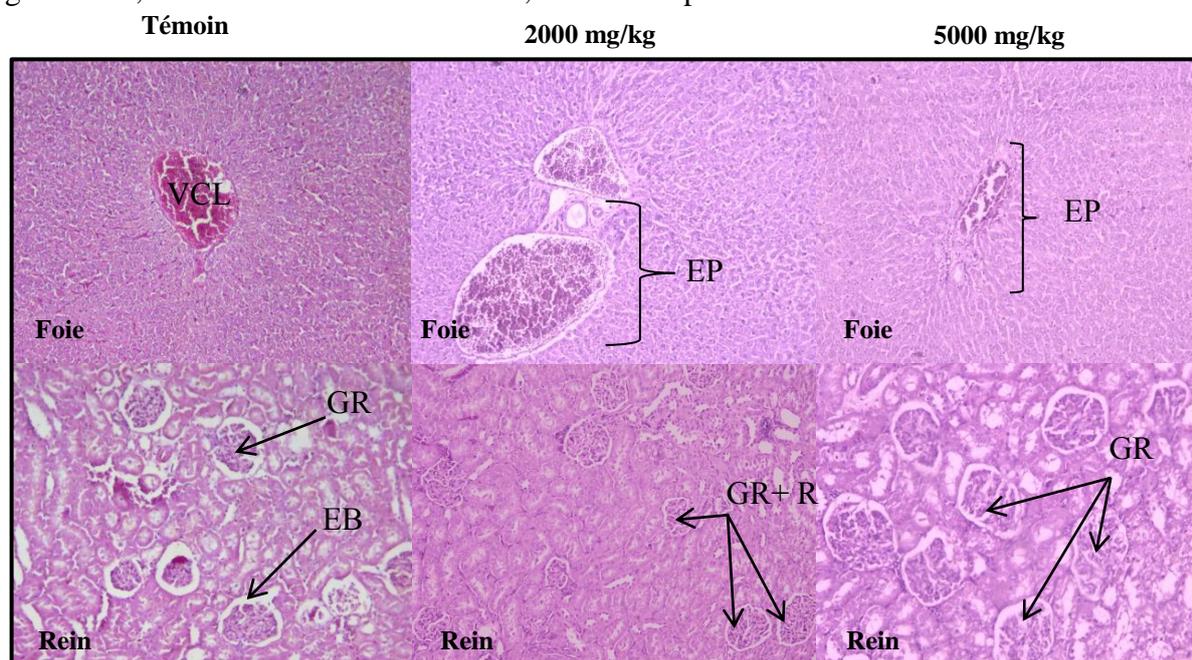


Figure 33 : Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles traités avec des doses uniques de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). AH : artère hépatique, CB : canal biliaire, EB : Espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, R : Rétrécissement de l'espace de BOWMAN, VCL : veine centro-lobulaire, VP : veine porte.

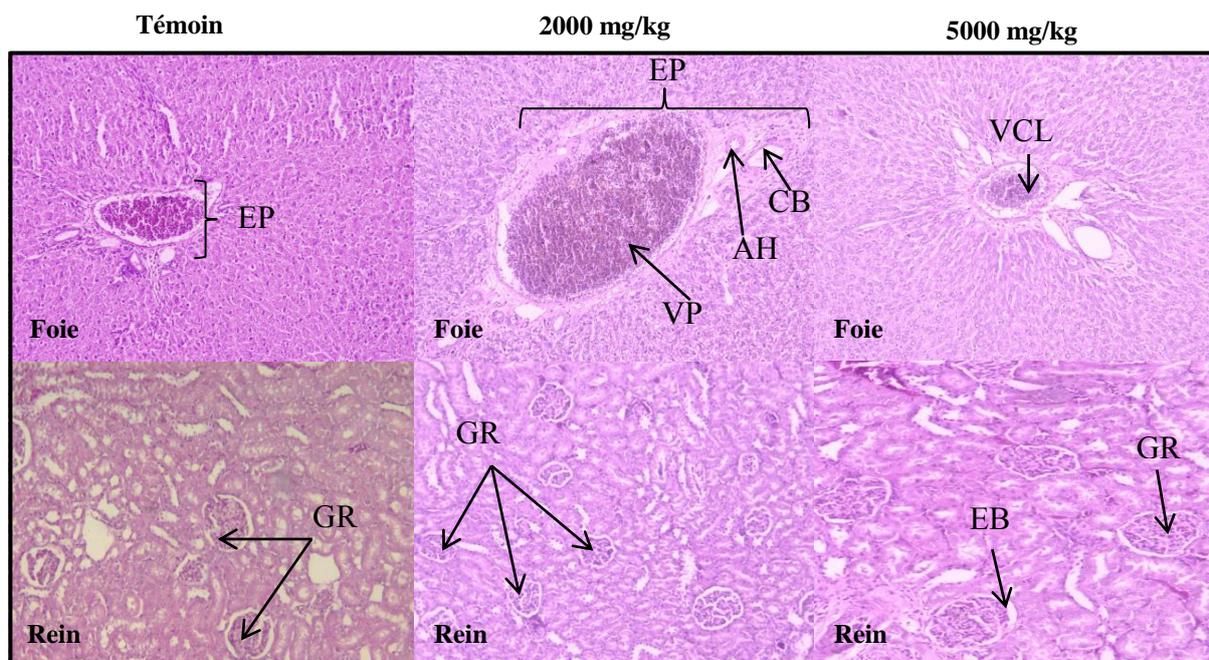


Figure 34: Coupes histologiques du foie et des reins de rats femelles traitées avec des doses unique de l'extrait EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* (2000 et 5000 mg/kg) observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). AH : artère hépatique, CB : canal biliaire, EB : Espace de BOWMAN, EP : espace porte, GR : glomérule, VCL : veine centro-lobulaire, VP : veine porte.

4.4 Toxicité subaiguë de l'extrait AQ

4.4.1 Effet de la prise subaiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% sur poids corporel des animaux

Sur 28 jours de traitement par l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* aux différentes doses de 250, 500 et 1000 mg/kg, aucun effet indésirable, mortalité ou signe de toxicité n'a été signalé chez les rats mâles et femelles. En outre, aucun comportement anormal n'a été observé.

L'évolution pondérale des animaux des deux sexes est représentée dans la figure 35. A l'instar du poids corporel des rats des groupes témoins, le poids corporel des rats mâles et femelles des groupes traités à l'extrait AQ (250, 500 et 1000 mg/kg) augmente de la même manière. Ceci sous-entend qu'aucune variation significative du poids corporel des animaux des deux sexes n'a été enregistrée tout au long de la période d'expérimentation.

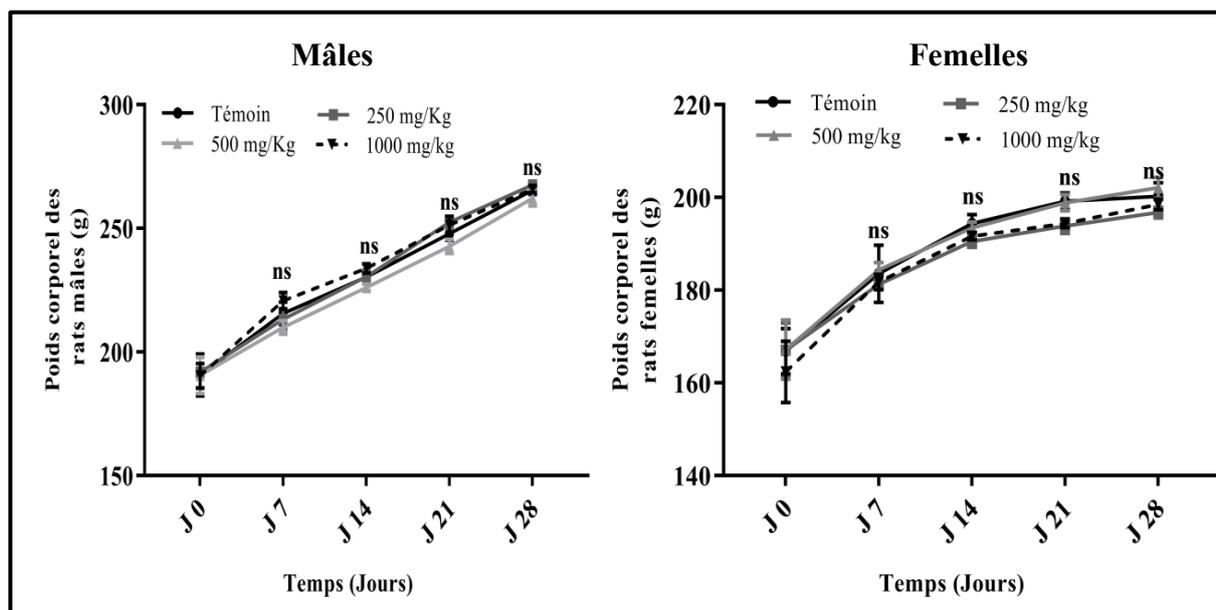


Figure 35 : Évolution du poids corporel des rats mâles et femelles traités par l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* pendant 28 jours de traitement. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (N= 5). ns : aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin et le groupe traité chez les rats des deux sexes.

4.4.2 Effet du traitement subaigu à l'extrait AQ sur la prise alimentaire et l'ingestion d'eau chez les rats mâles et femelles

Les résultats de la prise alimentaire et de l'ingestion d'eau suite au traitement des rats des deux sexes à l'extrait AQ sur une période de 28 jours sont illustrés dans les figures 36 et 37.

A l'issue de ces résultats nous constatons la présence de fluctuations dans les deux paramètres étudiés. En effet, le comportement alimentaire chez les rats mâles et femelles traités aux doses de 500 et 1000 mg/kg a significativement diminué et ceci à partir de la deuxième semaine de traitement. Néanmoins l'ingestion d'eau chez les rats mâles ne présente aucune différence significative par rapport au groupe témoin, tandis que chez les rats femelles nous enregistrons une différence significative ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$ et $p < 0.0001$) au-delà de la deuxième semaine d'étude aux différentes doses (250, 500, et 1000 mg/kg).

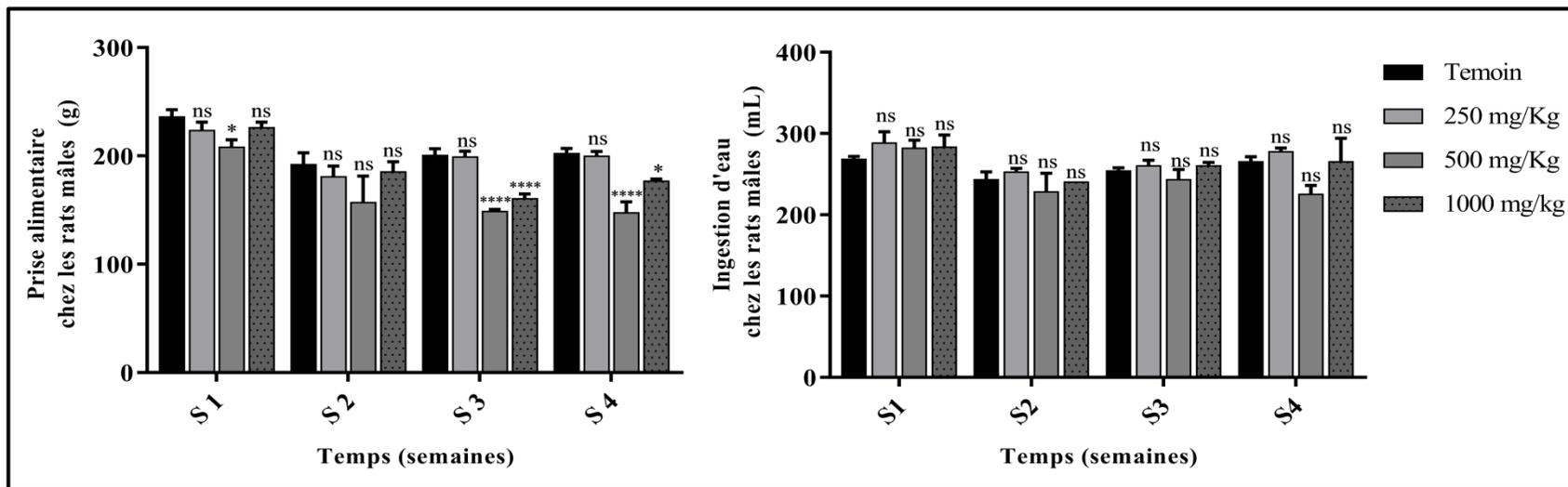


Figure 36: Prise alimentaire et ingestion d'eau chez les rats mâles durant la période de traitement à l'extrait AQ. ns : pas de différence significative, * : $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$; S : semaine.

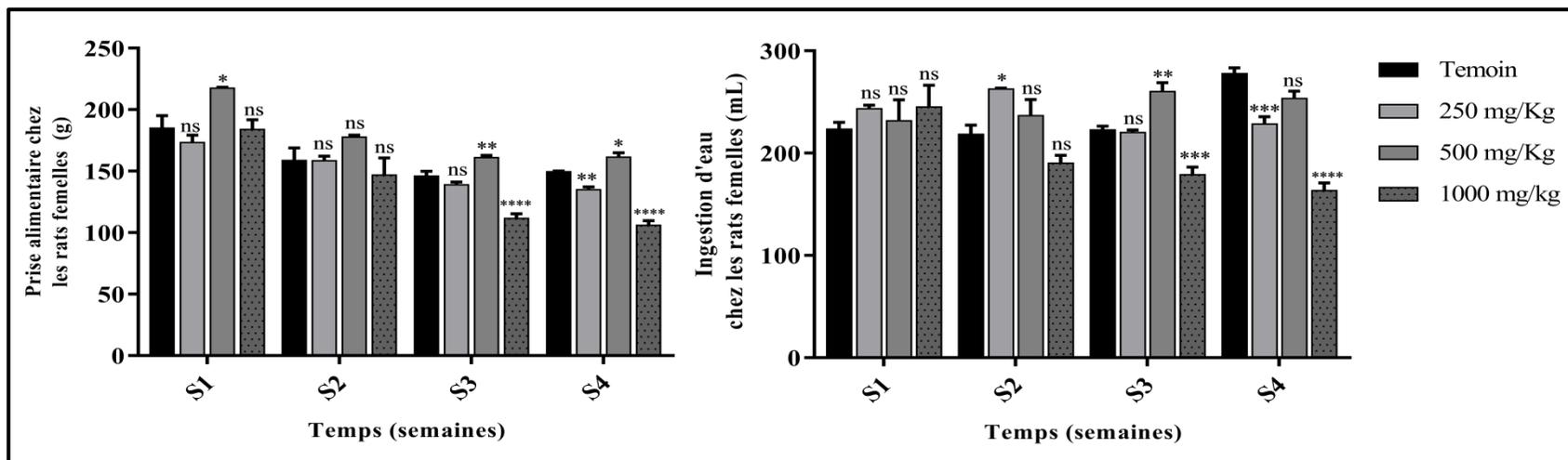


Figure 37: Prise alimentaire et ingestion d'eau chez les rats femelles pendant la période de traitement à l'extrait AQ. ns : pas de différence significative, * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$. S : semaine.

4.4.3 Effet de la prise subaiguë de l'extrait AQ sur le poids relatif des organes

L'effet de l'administration subaiguë sur le poids relatif des organes des animaux des deux sexes est répertorié dans le tableau 10. Chez les femelles, l'administration orale répétée de l'extrait AQ à toutes les doses de l'étude n'a entraîné aucune modification du poids relatif des organes. Concernant le poids relatif des organes chez les rats mâles, nous notons des diminutions significatives du poids relatif des reins des animaux recevant les trois doses de l'extrait AQ et du poids relatif des poumons chez les animaux recevant la dose la plus élevée (1000 mg/kg) (tableau 10).

Tableau 10: Poids relatif des organes des rats mâles et femelles traité avec l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours.

Sexe	Organes	Poids relatif des organes			
		Témoins	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Mâles	Foie	3.50 ± 0.36	3.03 ± 0.13 ^{ns}	2.84 ± 0.05 ^{ns}	2.95 ± 0.09 ^{ns}
	Rein	0.62 ± 0.01	0.57 ± 0.01 ^{**}	0.56 ± 0.00 ^{**}	0.55 ± 0.00 ^{***}
	Cœur	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.00 ^{ns}	0.29 ± 0.00 ^{ns}	0.28 ± 0.00 ^{ns}
	Poumon	0.64 ± 0.06	0.67 ± 0.02 ^{ns}	0.57 ± 0.01 ^{ns}	0.50 ± 0.00 [*]
	Estomac	0.60 ± 0.05	0.55 ± 0.00 ^{ns}	0.58 ± 0.00 ^{ns}	0.59 ± 0.02 ^{ns}
	Rate	0.46 ± 0.01	0.39 ± 0.02 ^{ns}	0.39 ± 0.11 ^{ns}	0.40 ± 0.01 ^{ns}
	Cerveau	0.73 ± 0.04	0.73 ± 0.02 ^{ns}	0.74 ± 0.03 ^{ns}	0.69 ± 0.02 ^{ns}
Femelles	Foie	3.11 ± 0.04	2.94 ± 0.08 ^{ns}	3.02 ± 0.13 ^{ns}	2.82 ± 0.08 ^{ns}
	Rein	0.64 ± 0.01	0.62 ± 0.01 ^{ns}	0.64 ± 0.02 ^{ns}	0.59 ± 0.03 ^{ns}
	Cœur	0.32 ± 0.00	0.32 ± 0.00 ^{ns}	0.30 ± 0.00 ^{ns}	0.30 ± 0.01 ^{ns}
	Poumon	0.69 ± 0.03	0.67 ± 0.03 ^{ns}	0.67 ± 0.00 ^{ns}	0.70 ± 0.04 ^{ns}
	Estomac	0.67 ± 0.04	0.62 ± 0.01 ^{ns}	0.62 ± 0.00 ^{ns}	0.61 ± 0.03 ^{ns}
	Rate	0.50 ± 0.03	0.44 ± 0.00 ^{ns}	0.44 ± 0.00 ^{ns}	0.47 ± 0.03 ^{ns}
	Cerveau	0.95 ± 0.02	0.97 ± 0.03 ^{ns}	0.95 ± 0.03 ^{ns}	0.93 ± 0.02 ^{ns}

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± SEM pour des groupes de 5 rats. ns : aucune différence significative du poids relatif des organes n'a été observée entre les groupes témoins et les groupes traités chez les deux sexes, * : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001.

4.4.4 Analyses hématologiques et biochimiques du plasma des rats

Les valeurs des paramètres hématologiques analysés sont indiquées dans le tableau 11. Il convient de noter que l'administration de l'extrait AQ avec toutes ses doses pour les rats mâles et femelles n'a entraîné aucune modification des paramètres sanguins. En effet, les valeurs obtenues ne sont pas statistiquement différentes de celles obtenues pour les groupes témoins. Les résultats de l'analyse biochimique du plasma sont rapportés dans le tableau 12. Nous constatons que les chiffres biologiques obtenus n'indiquent aucune variation significative, à l'exception du niveau des triglycérides chez les rats mâles et femelles traités avec les doses 500 mg/kg et 1000 mg/kg.

Tableau 11: Paramètres hématologiques des rats mâles et femelles traités à l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours.

Sexe	Paramètres	Doses (mg/kg PC)			
		Témoin	250	500	1000
Mâles	GR (10 ¹² /L)	7.18 ± 0.09	7.32 ± 0.02 ^{ns}	7.25 ± 0.02 ^{ns}	7.29 ± 0.13 ^{ns}
	GB (10 ⁹ /L)	9.00 ± 1.06	8.07 ± 0.70 ^{ns}	11.56 ± 1.64 ^{ns}	9.82 ± 0.53 ^{ns}
	Hématocrite (%)	39.14 ± 0.69	40.05 ± 0.24 ^{ns}	40.00 ± 0.73 ^{ns}	39.44 ± 0.71 ^{ns}
	Plaquettes (10 ⁹ /L)	608.2 ± 20.42	529.00 ± 16.04 ^{ns}	589.33 ± 14.37 ^{ns}	637.60 ± 27.29 ^{ns}
	Hémoglobine (g/dL)	14.14 ± 0.20	14.40 ± 0.03 ^{ns}	14.16 ± 0.15 ^{ns}	14.36 ± 0.22 ^{ns}
	VGM (fl)	54.62 ± 0.69	54.7 ± 0.51 ^{ns}	55.12 ± 0.93 ^{ns}	54.08 ± 0.32 ^{ns}
	MPV (fl)	6.67 ± 0.04	6.45 ± 0.02 ^{ns}	6.60 ± 0.10 ^{ns}	6.54 ± 0.05 ^{ns}
	MCH (pg)	19.68 ± 0.18	19.65 ± 0.12 ^{ns}	19.60 ± 0.17 ^{ns}	19.72 ± 0.12 ^{ns}
	MCHC (g/dL)	36.02 ± 0.26	35.97 ± 0.17 ^{ns}	35.43 ± 0.27 ^{ns}	36.46 ± 0.21 ^{ns}
Femelles	GR (10 ¹² /L)	6.93 ± 0.15	6.98 ± 0.14 ^{ns}	6.69 ± 0.08 ^{ns}	7.00 ± 0.04 ^{ns}
	GB (10 ⁹ /L)	7.10 ± 0.85	6.64 ± 0.51 ^{ns}	8.02 ± 0.60 ^{ns}	8.50 ± 0.84 ^{ns}
	Hématocrite (%)	41.88 ± 0.74	39.36 ± 1.01 ^{ns}	39.28 ± 0.43 ^{ns}	39.37 ± 0.71 ^{ns}
	Plaquettes (10 ⁹ /L)	636.8 ± 29.59	667.6 ± 46.64 ^{ns}	611.8 ± 47.66 ^{ns}	569 ± 47.89 ^{ns}
	Hémoglobine (g/dL)	14.22 ± 0.19	14.04 ± 0.28 ^{ns}	13.7 ± 0.12 ^{ns}	14.1 ± 0.18 ^{ns}
	VGM (fl)	59.10 ± 0.90	56.32 ± 0.49 ^{ns}	58.66 ± 0.79 ^{ns}	56.2 ± 0.64 ^{ns}
	MPV (fl)	6.54 ± 0.20	6.44 ± 0.13 ^{ns}	6.68 ± 0.10 ^{ns}	6.50 ± 0.06 ^{ns}
	MCH (pg)	20.06 ± 0.16	19.92 ± 0.13 ^{ns}	20.48 ± 0.22 ^{ns}	20.15 ± 0.14 ^{ns}
	MCHC (g/dL)	34.58 ± 0.87	35.36 ± 0.28 ^{ns}	34.9 ± 0.16 ^{ns}	35.87 ± 0.19 ^{ns}

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes ± SEM pour des groupes de 5 rats. ns : aucune différence significative des paramètres hématologiques n'a été observée entre les groupes témoins et les groupes traités chez les deux sexes. PC : poids corporel.

Tableau 12: Paramètres biochimiques des rats mâles et femelles traités à l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* (250, 500, 1000 mg/kg) pendant une période de 28 jours.

Sexe	Paramètres	Doses (mg/kg PC)			
		Témoin	250	500	1000
Mâles	Urée (g/L)	0.61 ± 0.01	0.5 ± 0.02 ^{ns}	0.46 ± 0.06 ^{ns}	0.48 ± 0.04 ^{ns}
	Acide urique (mg/L)	18.58 ± 1.40	21.87 ± 0.82 ^{ns}	22.21 ± 1.07 ^{ns}	19.87 ± 3.08 ^{ns}
	Creatinine (mg/L)	6.62 ± 0.09	5.67 ± 0.26 ^{ns}	5.92 ± 0.43 ^{ns}	5.90 ± 0.29 ^{ns}
	Glycémie (g/L)	0.62 ± 0.07	0.70 ± 0.04 ^{ns}	0.67 ± 0.03 ^{ns}	0.72 ± 0.03 ^{ns}
	AST (U/L)	103.94 ± 8.42	92.99 ± 3.32 ^{ns}	92.15 ± 4.97 ^{ns}	105.77 ± 4.28 ^{ns}
	ALT (U/L)	45.45 ± 0.73	41.04 ± 2.28 ^{ns}	44.29 ± 6.32 ^{ns}	50.09 ± 4.66 ^{ns}
	ALP (U/L)	253.9 ± 6.06	226.37 ± 9.06 ^{ns}	283.3 ± 26.02 ^{ns}	287.37 ± 28.42 ^{ns}
	Cholestérol (g/L)	0.44 ± 0.02	0.49 ± 0.01 ^{ns}	0.47 ± 0.03 ^{ns}	0.43 ± 0.02 ^{ns}
	Triglycérides (g/L)	0.80 ± 0.09	0.71 ± 0.09 ^{ns}	0.5 ± 0.02 *	0.49 ± 0.03 **
Femelles	Urée (g/L)	0.49 ± 0.02	0.45 ± 0.02 ^{ns}	0.45 ± 0.00 ^{ns}	0.48 ± 0.01 ^{ns}
	Acide urique (mg/L)	22.04 ± 1.04	20.29 ± 2.28 ^{ns}	19.14 ± 2.19 ^{ns}	23.42 ± 1.35 ^{ns}
	Creatinine (mg/L)	7.03 ± 0.39	6.9 ± 0.20 ^{ns}	6.01 ± 0.11 ^{ns}	6.10 ± 0.16 ^{ns}
	Glycémie (g/L)	0.58 ± 0.03	0.70 ± 0.04 ^{ns}	0.70 ± 0.03 ^{ns}	0.73 ± 0.02 ^{ns}
	AST (U/L)	91.28 ± 4.69	99.00 ± 1.49 ^{ns}	94.49 ± 2.72 ^{ns}	93.35 ± 2.54 ^{ns}
	ALT (U/L)	34.49 ± 7.15	39.87 ± 8.19 ^{ns}	36.48 ± 7.64 ^{ns}	33.81 ± 7.42 ^{ns}
	ALP (U/L)	124.78 ± 16.10	128.94 ± 13.19 ^{ns}	133.04 ± 11.53 ^{ns}	126.10 ± 18.77 ^{ns}
	Cholestérol (g/L)	0.44 ± 0.03	0.45 ± 0.03 ^{ns}	0.48 ± 0.03 ^{ns}	0.36 ± 0.02 ^{ns}
	Triglycérides (g/L)	0.55 ± 0.05	0.48 ± 0.01 ^{ns}	0.41 ± 0.01**	0.40 ± 0.02 **

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± SEM pour des groupes de 5 rats. ns : aucune différence significative des paramètres biochimiques n'a été observée entre les groupes témoins et les groupes traités chez les deux sexes, * : p < 0.05 ; ** p < 0.01. PC : poids corporel.

4.4.5 Histopathologie des tissus hépatiques et rénaux

L'effet de l'administration subaiguë de l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea* aux doses de 250, 500 et 1000 mg/kg sur l'histologie du foie et des reins des rats mâles et femelles est représenté sur la figures 38 (A) et (B).

L'observation des coupes histologiques du foie et des reins des animaux des deux sexes traités avec 250 mg/kg de l'extrait AQ ne révèle pas d'anomalies dans la structure cellulaire ni des dommages tissulaires comparés à leurs témoins respectifs. Le foie présente une architecture normale avec absence de signes lésionnels ; le rein présente des glomérules de taille normale accompagnés des tubules. Cependant, des congestions vasculaires au niveau du tissu rénal et hépatique des rats mâles et femelles traités aux doses de 500 et 1000 mg/kg ont été révélées. De plus, chez les rats femelles traités avec la dose 1000 mg/kg, la congestion est associée à des signes de détresse cellulaire hépatocytaire.

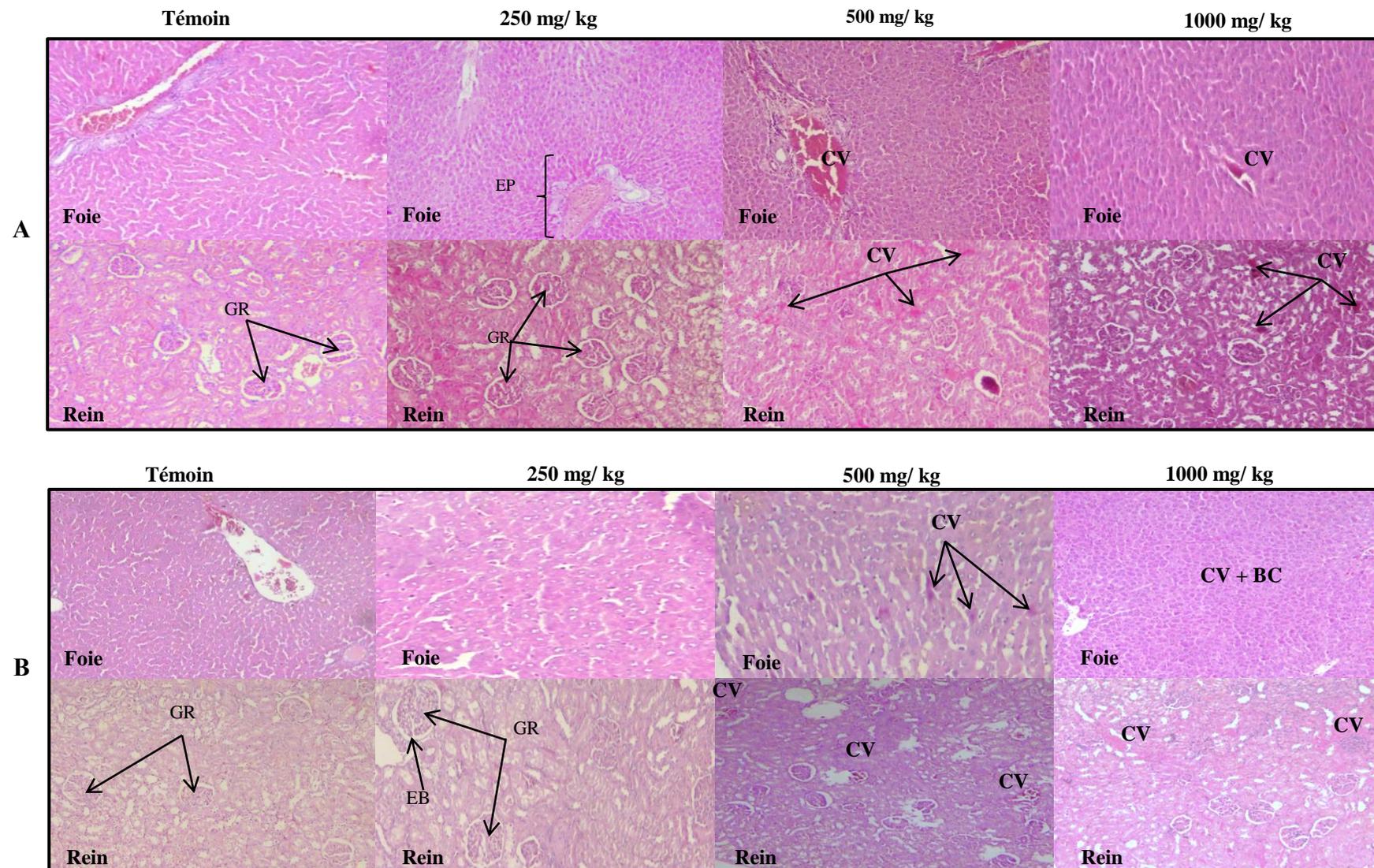


Figure 38: Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles (A) et femelles (B) administrés avec l'extrait AQ (250, 500 et 1000 mg/kg) pendant 28 jours observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). CV vasculaires ; BC : Ballonisation cellulaire ; EB : Espace de BOWMAN ; EP : Espace porte ; GR : Glomérule.

5 Activité anti-inflammatoire *in-vivo* des extraits AQ, EtOH et EtOH 70%

5.1 Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton

Les résultats de cette expérimentation sont illustrés dans la figure 39. Les trois extraits testés inhibent de manière efficace la formation de l'œdème auriculaire provoqué par l'huile de croton. Cependant l'extrait AQ montre un meilleur effet anti-œdémateux avec des pourcentages d'inhibition avoisinant les 84,88 % et 84,02 % pour les doses 250 et 500 mg/kg, respectivement. Cet effet est comparable à celui évoqué par l'indométacine (80,54 %).

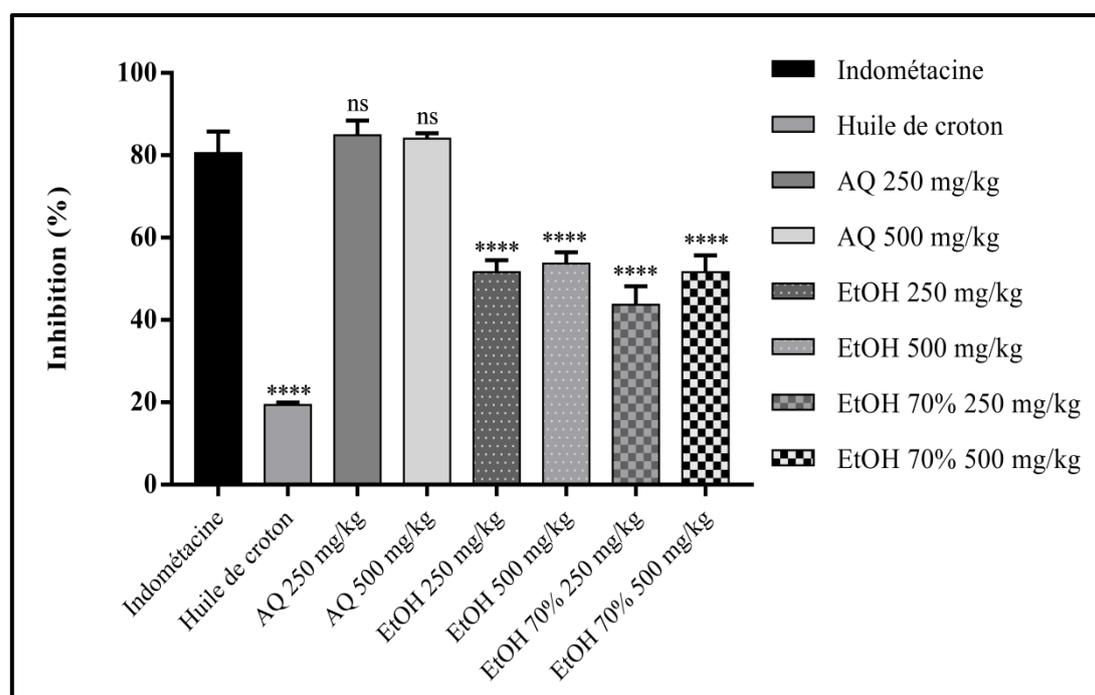


Figure 39: Effet anti-inflammatoire des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH70%) de la partie aérienne d'*E. arborea* sur l'œdème auriculaire induit par l'huile de croton chez la souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (N== 6). ns : pas de différence significative, **** : $p < 0.0001$.

5.2 Œdème de la patte induit par le carragénine

Les résultats obtenus suite à l'évaluation de l'effet anti-inflammatoires des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* sont représentés dans cette expérimentation par l'évolution de l'inflammation (figure 40), l'épaisseur de l'œdème plantaire des souris (figure 41) et pourcentage d'inhibition de l'inflammation causée par l'injection sous-plantaire de la carragénine (tableau 13).

Les résultats obtenus pour cette expérimentation sont comparés dans un premier temps à ceux du contrôle négatif (eau distillée) et dans un second temps ceux du contrôle positif (Diclofenac 100 mg).

Les résultats obtenus ont montré que l'inflammation induite par la carragénine augmente en fonction du temps pour atteindre son maximum à 4 heures chez les souris traitées à l'eau distillée. Cependant, les extraits AQ, EtOH et EtOH 70%, le diclofenac, l'acide chlorogénique et la quercétrine réduisent l'apparition de l'inflammation dès la 2^{ème} heure de l'expérimentation (figure 40).

Le Diclofenac (100 mg) a montré une remarquable inhibition de l'inflammation par rapport au groupe contrôle négatif tous comme les trois extraits testés, cependant, l'extrait AQ se démarque des deux autres extraits par un effet anti-inflammatoire plus notable. En effet, l'administration orale de l'extrait AQ (250 et 500 mg/kg) a réduit l'œdème plantaire de manière significative comparé au contrôle négatif dans l'intervalle de temps étudié, de la première à la quatrième heure d'expérimentation, avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème estimé à la quatrième heure à 75 et 80 % pour les doses de 250 et 500 mg/kg, respectivement (tableau 13). Cependant, en comparant à l'effet produit par le Diclofenac (100 mg), l'extrait AQ administré à la dose de 250 mg/kg n'a montré aucune différence significative ($p < 0,05$) qu'à partir de la 3^{ème} heure tandis que l'extrait AQ administré à la dose de 500 mg/kg a montré une activité anti-inflammatoire similaire à celle du Diclofenac (100 mg) durant toute la durée de l'expérimentation (figure 41).

L'administration de l'extrait EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* aux doses de 250 et 500 mg/kg prévient le développement de l'œdème plantaire chez la souris de manière significative par rapport au contrôle négatif à partir de la 2^{ème} et la 3^{ème} heure, respectivement, avec un pourcentage d'inhibition maximal à la 4^{ème} heure (tableau 13). L'acide chlorogénique (0.2 %) et la quercétrine (1 %) inhibent l'apparition de l'inflammation à partir de la 2^{ème} heure d'expérimentation (figure 40 et 41) en exprimant un pourcentage d'inhibition maximal à la 4^{ème} heure (tableau 13).

L'administration oral de l'extrait EtOH et EtOH 70% (250 et 500 mg) n'a montré aucune différence significative par rapport au Diclofenac à la 4^{ème} et à partir de la 3^{ème} heure, respectivement, alors que l'administration oral de l'acide chlorogénique et de la quercétrine devient non significative par rapport au Diclofenac à 4^{ème} et au-delà de la 3^{ème} heure respectivement (figure 41).

Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème plantaire chez les souris traitées par les extraits AQ, EtOH , EtOH 70%, de l'acide chlorogénique, de la quercétrine et du Diclofenac (100 mg).

Extraits	Doses (mg/kg ou %)	Temps			
		1h	2h	3h	4h
AQ	250	11.58 ± 0.02	54.92 ± 0.01	65.39 ± 0.02	75.79 ± 0.01
	500	12.14 ± 0.02	55.95 ± 0.01	73.38 ± 0.007	80.95 ± 0.03
EtOH	250	33.49 ± 0.03	38.52 ± 0.009	50 ± 0.01	75.56 ± 0.03
	500	5.18 ± 0.02	31.6 ± 0.01	46.69 ± 0.01	75.56 ± 0.02
EtOH 70%	250	6.6 ± 0.01	30.30 ± 0.05	42.56 ± 0.06	73.30 ± 0.009
	500	14.62 ± 0.04	32.03 ± 0.02	57.43 ± 0.007	80.07 ± 0.01
Diclofenac	100	99.00 ± 0.01	62.82 ± 0.03	81.74 ± 0.02	90.07 ± 0.01
Acide chlorogénique	0.2	15.68 ± 0.02	40.69 ± 0.02	62.39 ± 0.006	83.83 ± 0.04
Quercétrine	1	99.78 ± 0.01	55.41 ± 0.004	68.59 ± 0.01	84.96 ± 0.02

Les valeurs sont représentées en moyenne ± SEM (N= 5). Le pourcentage d'inhibition de l'œdème plantaire est exprimé en (%).

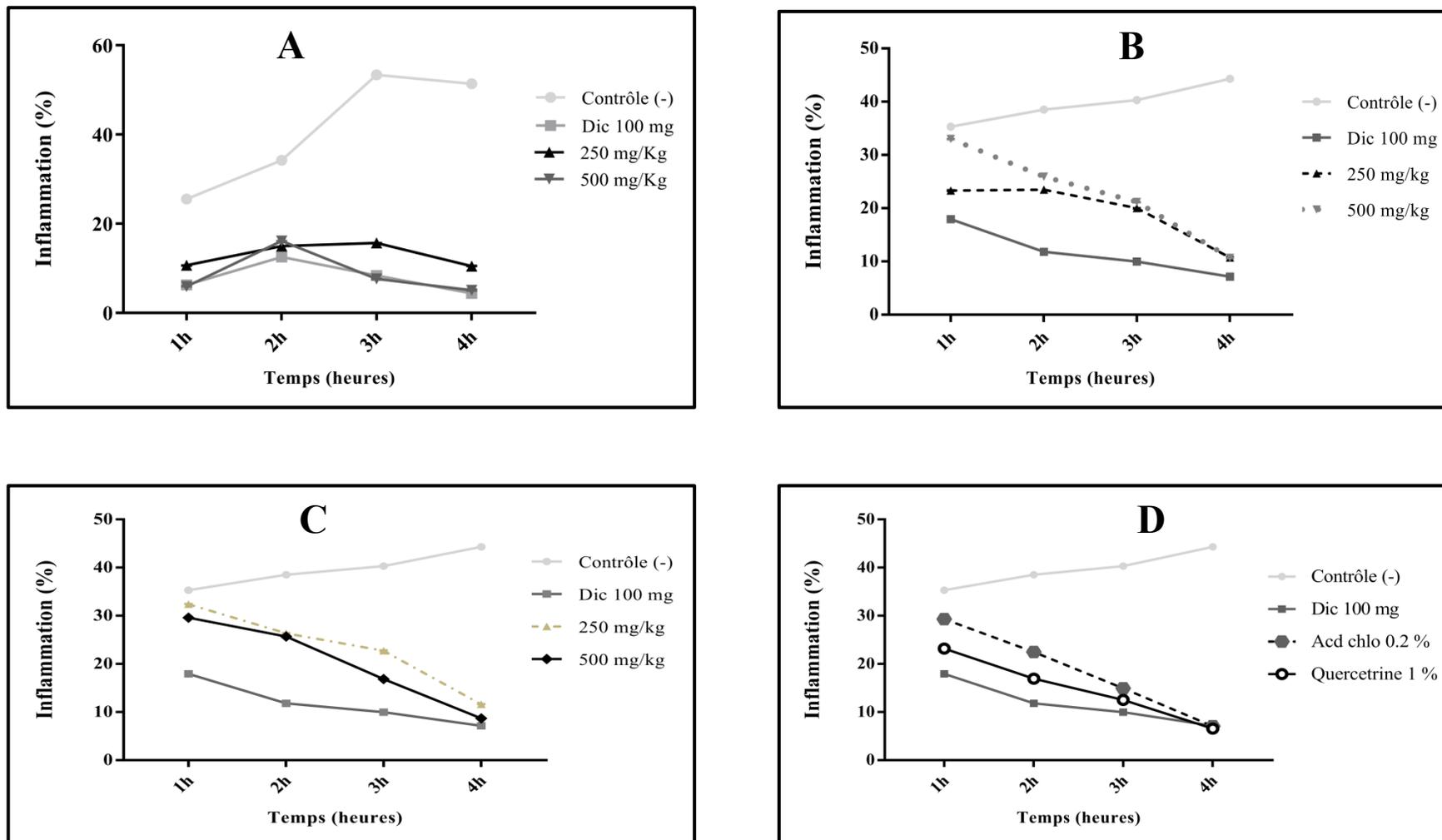


Figure 40: Evolution de l'inflammation (œdème plantaire) en fonction du temps pour les différents groupes : A : extrait aqueux (AQ) ; B : extrait éthanolique (EtOH) ; C : extrait hydro-éthanolique (EtOH 70%) ; D : Acide chlorogénique 0.2 % (Acid chlo) et quercétrine 1%.

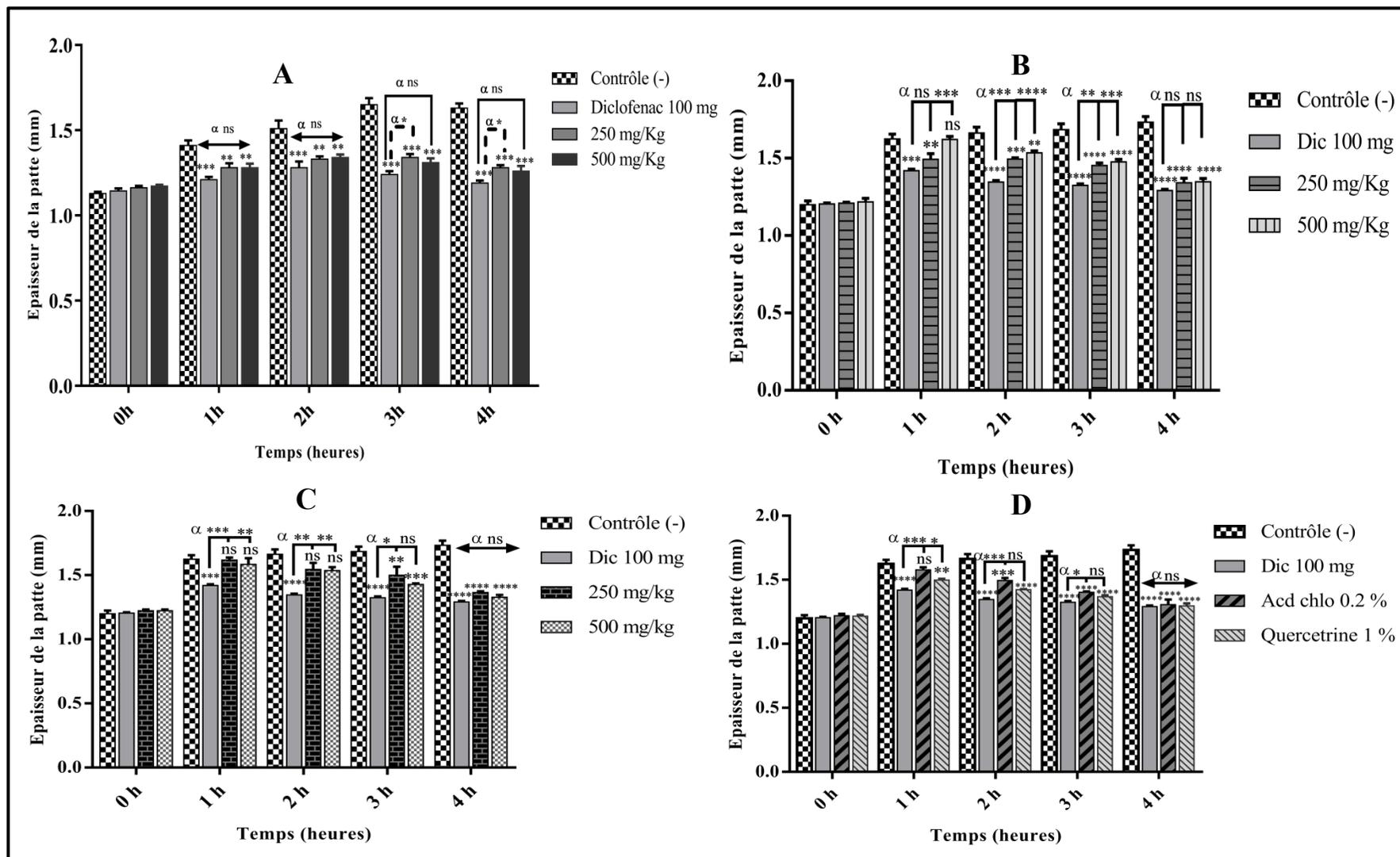


Figure 41: Effet anti-inflammatoire des extraits AQ (A), EtOH (B), EtOH 70% (C) de l'acide chlorogénique (0.2%) et de la quercétine (1%) (D) sur l'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes \pm SEM (N= 5). α : la comparaison a été effectuée avec le Diclofenac (Dic 100 mg). ns : pas de différence significative. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$.

Discussion

1 Extraction et rendement

Les plantes médicinales constituent une source incontournable de composés naturels à potentiel thérapeutique et pharmacologique approuvé et représente aujourd'hui encore un important réservoir pour l'identification et l'isolation de nouvelles molécules bioactives. Actuellement, l'industrie pharmaceutique s'intéresse de près à l'extraction et la purification de ces molécules car en effet un nombre important de médicaments prescrits sont dérivés de plantes et/ou de produits d'origine végétale (Atanasov *et al.*, 2015).

L'extraction représente la première étape à entreprendre lors d'une étude portant sur les plantes médicinales (Azmir *et al.*, 2013), elle permet de séparer les produits naturels notamment les polyphénols de leur matière première et de maximiser leur quantité ainsi que d'obtenir l'activité biologique la plus élevée de ces extraits (Truong *et al.*, 2019).

Dans notre étude, les trois extraits bruts ont été obtenus par deux techniques d'extractions : décoction et macération. L'eau, l'EtOH et EtOH 70% sont les solvants utilisés. Les résultats obtenus indiquent que les rendements d'extraction sont variables. En effet l'efficacité de l'extraction dépend de plusieurs paramètres dont le choix de la méthode d'extraction, le solvant utilisé, la température, le temps d'extraction, et la composition en composés phytochimiques (Zhang et Ye, 2018).

Selon Ngo *et al.* (2017), l'un des facteurs qui influence fortement le rendement de l'extraction est la nature du solvant utilisé. Ainsi l'utilisation de solvants à polarité différente entraîne l'extraction de composés de différente nature et en quantité variable (Dirar *et al.*, 2018). D'après les résultats le meilleur rendement obtenu est attribué à l'extrait EtOH 70%, suivit de l'extrait AQ puis celui de l'extrait EtOH. Selon les travaux de Do QD *et al.* (2013), l'utilisation de solvants combinés eau/solvant organique tel que l'éthanol pourrait faciliter l'extraction des composés phytochimiques qui sont solubles à la fois dans l'eau et dans l'éthanol. De plus, ils indiquent que des composés autres que les composés phénoliques comme les protéines et les hydrates de carbone peuvent être extraits du fait de leur grande solubilité dans l'eau plus que dans l'éthanol pur, ce qui justifie les résultats des rendements d'extraction obtenus.

2 Identification des composés phytochimiques des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d'*E. arborea*

Les Éricacées sont une vaste famille cosmopolite représentée par 4250 espèces regroupées en 124 genres dont le genre *Erica* est l'un des trois genres les plus répons dans le bassin méditerranéen (Christenhusz et Byng, 2016). Ce genre est représenté dans la flore algérienne par cinq taxons où on distingue l'espèce *E. arborea* (Yaici *et al.*, 2019).

L'analyse phytochimique des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% obtenu à partir des parties aériennes d'*E. arborea* révèle la présence de deux classes de polyphénols dont des acides phénoliques et leurs dérivés ainsi que des flavonoïdes glycosylés. L'acide chlorogénique, l'acide phénolique le plus abondant dans les trois extraits analysés, est un ester de l'acide caféique et de l'acide quinique, qui constitue l'un des métabolites secondaires les plus prédominants dans de nombreuses plantes et représente le polyphénol le plus abondant dans l'alimentation humaine (Sato *et al.*, 2011 ; Yao *et al.*, 2019). Les flavonoïdes, en particulier leur forme glycosylée, sont des composés très répandus dans le règne végétal (Yang *et al.*, 2018). Selon Xiao. (2017), les flavonoïdes glycosylés les plus abondants dans les plantes sont les flavonol *O*-glycosides parmi lesquels la quercétine *O*-glycoside le myricétine *O*-glycoside représentent les formes les plus courantes (Halake *et al.*, 2016). Les composés phytochimiques identifiés dans notre étude sont conformes à ceux trouvés dans la littérature publiée ; en fait plusieurs études ont signalé leur présence dans le genre *Erica* (Saleem *et al.*, 2010 ; Black *et al.*, 2011 ; Dias *et al.*, 2015 ; Ștefănescu *et al.*, 2019) et plus particulièrement chez l'espèce *E. arborea* (Ay *et al.*, 2007 ; Marquez-García *et al.*, 2009 ; Pavlović *et al.*, 2013 ; Aires et Carvalho. 2017 ; Zengin *et al.*, 2019).

3 Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et activité anti-oxydante des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% d'*E. arborea*

Les polyphénols sont les principaux métabolites secondaires possédant un puissant effet antioxydant naturel. Parmi ces composés phénoliques, les flavonoïdes pourraient être les composés les plus importants. Ces derniers constituent une classe très répandue de substances bioactives possédant un large éventail d'activités biologiques (Luís *et al.*, 2009).

Selon les travaux ultérieurs, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes contenues dans les extraits d'*E. arborea* diffère d'un auteur à l'autre ce qui rend difficile de comparer strictement

nos résultats à ceux de la bibliographie. Ainsi, Köroğlu *et al.* (2019) ont rapporté un taux de polyphénols dans l'extrait aqueux des parties aériennes d'*E. arborea* égale à 192 mg GAE/g. Les travaux de Márquez-García *et al.* (2009) et Amezouar *et al.* (2013) indiquent des valeurs moyennes de 81.37 ± 8.63 µg GAE/mg et 78.49 ± 0.047 mg GAE/g de matière sèche, respectivement, dans les extraits de feuilles d'*E. arborea*, tandis qu'une valeur moyenne du contenu phénolique retrouvée dans l'extrait préparé à base de fleurs de cette plante estimé à 178.1 ± 0.2 mg GAE/g de matière sèche est rapporté par Luís *et al.* (2011). Concernant la teneur totale en flavonoïdes, Ay *et al.* (2007) ont démontré que l'extrait aqueux provenant des parties aériennes d'*E. arborea* poussant en Turquie avait enregistré un taux de 2.27 ± 0.20 µg EQ/mg, celle poussant en Algérie présente une teneur totale en flavonoïdes de 9.5 ± 0.1 mg EQ/g de matière sèche (Guendouze-Bouchefa *et al.*, 2015), alors que les échantillons provenant du Maroc avaient une teneur de 54.08 ± 0.031 mg EQ/g de matière sèche (Amezouar *et al.*, 2013). La variation de la concentration des molécules bioactives retrouvés dans les extraits de plante peut provenir de différents facteurs tels que les parties de plantes testées, la localisation géographique et les conditions climatiques dans lesquels croît le végétal, les méthodes d'extraction ainsi que les procédures de quantification employées (Nunes *et al.*, 2012 ; Suna *et al.*, 2018).

Comme il existe une multitude de facteurs qui peuvent influencer l'activité antioxydante d'un extrait, il devient important de tester plus d'une méthode pour évaluer le potentiel antioxydant de nos extraits afin de prendre en compte les différentes voies antioxydantes impliquées (Wong *et al.*, 2006). Ainsi, le test de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, le test de blanchiment du β -carotène et le test du pouvoir réducteur sont les tests utilisés et représentent généralement les tests les plus employés pour évaluer l'activité antioxydante (Chen Z *et al.*, 2013 ; Aouachria *et al.*, 2017). Les résultats obtenus ont montré que les extraits possèdent une forte activité antioxydante qui pourrait être attribuée à leur teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes. Dans ce contexte, Velioglu *et al.* (1998) ont mentionné que les composés phénoliques sont bien connus pour être les principaux déterminants de l'activité antioxydante des plantes. Le mécanisme de l'action antioxydante des polyphénols est basé sur leur capacité à transférer un atome d'hydrogène et/ou à donner des électrons. Cette réaction est liée à la présence de groupes hydroxyles (Dangles, 2012). L'activité antioxydante des extraits de plantes dépend essentiellement de leur composition phytochimique. Nos résultats ont montré que les principaux composés phytochimiques identifiés sont l'acide chlorogénique et la quercétine-3-*O*-rhamnnoïde. L'acide

chlorogénique est réputé pour être impliqué dans une variété d'activités biologiques, dont l'activité antioxydante (Marinova *et al.*, 2009). Selon Zhang *et al.* (2015), le mécanisme de l'effet antioxydant qu'exerce l'acide chlorogénique n'est pas complètement élucidé. Cependant, leurs résultats suggèrent que la présence de multiples groupes hydroxyles liés à leur cycles benzéniques pourrait être responsables de sa forte activité antioxydante. En outre, Tošović *et al.* (2017) ont montré que le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) et la formation d'adduits radicaux (RAF) sont les deux mécanismes par lesquelles l'acide chlorogénique exerce son action antioxydante en milieu acide et neutre, alors qu'en milieu basique, les voies impliquées sont le transfert séquentiel d'électron/perte de protons (SPLET).

Li *et al.* (2016) ont étudié l'activité antioxydante de la quercétrine et de l'isoquercétine (quercétine-3-*O*-rhamnoside et quercétine-3-*O*-glucoside) en utilisant le test de piégeage des radicaux DPPH[•] et ont démontré que ces deux composés étaient capables d'éliminer les radicaux DPPH impliquant les voies de transfert d'hydrogène. Dans la même étude, il a également été démontré que la quercétine et l'isoquercétine possèdent toutes les deux la capacité à transférer les électrons ce qui leur procure leur aptitude à piéger les ERO. En outre l'activité antioxydante pourrait également être liée aux autres constituants des extraits, puisqu'ils font partie des flavonols glycosylés et sont généralement étudiés pour leur potentielle activité antioxydante (Halake *et al.*, 2016).

4 Evaluation toxicologique des extraits AQ, EtOH et EtOH 70 %

L'utilisation des plantes médicinales est considérée comme le premier geste qu'entreprennent fréquemment de nombreuses personnes dans le monde pour prévenir et soigner les différentes manifestations pathologiques (Traesel *et al.*, 2017 ; Epoh *et al.*, 2019). Du fait de cet usage courant pour leurs divers effets thérapeutiques, une évaluation toxicologique devient une étape indispensable pour déterminer l'innocuité des extraits (De Melo *et al.*, 2011). Comme il existe peu d'informations relatant l'évaluation de la toxicité d'*E. arborea*, cette étude a été conçue pour évaluer la toxicité aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% et la toxicité orale subaiguë de l'extrait AQ d'*E. arborea* chez les rats mâles et femelles.

L'administration orale aiguë des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% à des doses de 2000 mg/kg et 5000 mg/kg n'a entraîné aucun effet toxique (pas de mortalité, ni de changements comportementaux ou morphologiques). Toutefois, l'étude histopathologique du foie et des reins révèle la présence de quelques effets indésirables. Ces résultats suggèrent que la dose

létale par voie orale (DL_{50}) est supérieure à 5000 mg/kg classant les trois extraits dans la catégorie 5 du Système général harmonisé (SGH) de la classification des produits chimiques énoncé par la ligne directrice 423 de l'OCDE (OCDE, 2001).

La prolongation de la période de traitement est un facteur important dans la détermination de la toxicité de toutes substances (OCDE, 2008). La toxicité subaiguë constitue un moyen utile qui permet d'évaluer l'effet d'un extrait sur les organes, les paramètres biochimiques et hématologiques, car ces effets n'apparaissent pas lors de l'étude de la toxicité aiguë (Ugwah-Oguejiofo *et al.*, 2019).

Dans la présente expérimentation, après 28 jours d'administration orale de l'extrait AQ, aucune mortalité ni aucun effets indésirables n'ont été enregistrés. La variation du poids corporel est considérée comme un indice préliminaire qui nous renseigne sur les effets secondaires toxique de la substance ingérée chez les animaux de laboratoire (Amenya *et al.*, 2014). Dans cette étude, le poids corporel des rats mâles et femelles ; tant bien en toxicité aiguë qu'en toxicité subaiguë, n'a pas présenté d'importantes variations. Ceci révèle que l'administration de l'extrait AQ n'a pas modifié les mécanismes biologiques qui régulent l'appétit des animaux.

La détermination de la prise alimentaire et de l'ingestion d'eau est un paramètre important lors de l'étude de la toxicité d'un extrait à but thérapeutique, car un apport suffisant en nutriments et en eau est essentiel à l'état physiologique des animaux et à l'obtention d'une réponse correcte à l'extrait testé, au lieu d'une fausse réponse due à des conditions nutritionnelles inappropriées (Ramesh *et al.*, 2009). Dans cette étude, le comportement alimentaire et hydrique des animaux révèle la présence de variations significatives qui, cependant, n'influent pas négativement sur le poids corporel des animaux et ne semble pas constituer un effet secondaire dû au traitement à l'extrait AQ de la partie aérienne d'*E. arborea*.

Le poids relatif des organes est également un autre indice important qui nous renseignent sur l'état physiologique et pathologique aussi bien chez l'homme que chez les animaux d'expérimentation (Ramesh *et al.*, 2007). Dans la présente étude, le poids relatif des reins et des poumons des rats mâles a diminué de manière significative ce qui pourrait être lié à une constriction cellulaire (Moore et Dalley, 1999). Toutefois, les poids relatifs des autres organes vitaux n'ont montré aucune altération ce qui suggère que l'administration orale répétée de l'extrait AQ n'a pas affecté la taille de ces organes. De plus, l'examen macroscopique des

organes internes prélevés ne révèlent pas la présence d'anormalités chez les rats mâles et femelles traités (250, 500, et 1000 mg/kg) comparés à leurs témoins respectifs.

Le système hématopoiétique est connu pour être l'un des systèmes biologiques les plus fragiles car il est particulièrement sensible aux agents toxiques, de ce fait l'évaluation du taux des paramètres hématologiques constitue un indicateur important qui nous renseigne sur l'état physiologique chez l'animal et chez l'être humain (Li *et al.*, 2010). Les résultats obtenus n'indiquent pas de changements significatifs dans le niveau des paramètres évalués par rapport à leurs témoins. Cela suggère que l'extrait AQ n'a pas affecté l'hématopoïèse.

L'analyse biochimique est un autre indicateur sensible des effets toxicologiques qui peuvent être induits suite à l'administration de substances. Le foie est le principal organe assurant la biotransformation des xénobiotiques dans l'organisme et par conséquent il est considéré comme la principale cible des substances toxiques (Brondani *et al.*, 2017). Selon Vysakh *et al.* (2018), certains composés phytochimiques présents dans les plantes sont responsables de l'induction de l'hépatotoxicité. Cela se traduit par la présence de niveaux élevés d'indicateurs de lésions hépatiques dans le plasma. À la lumière de cela, la mesure des biomarqueurs plasmatiques des lésions hépatiques tels que l'AST, l'ALT et l'PAL est essentielle pour détecter les lésions hépatiques potentielles causées par l'extrait AQ. Les résultats de la présente étude ont montré que le traitement oral subaigu avec l'extrait AQ n'a pas modifié de manière significative le niveau des biomarqueurs hépatiques ce qui suggère que l'extrait AQ est un extrait non hépatotoxique. L'urée, la créatinine et l'acide urique sont des indicateurs importants de la fonction rénale (Johnson *et al.*, 2013). L'absence d'altération des biomarqueurs rénaux indique que l'extrait AQ aux doses testées n'a provoqué aucune néphrotoxicité suggérant que les phytoconstituents de l'extrait AQ n'ont pas d'effets négatifs sur la physiologie rénale. Par ailleurs, le taux des triglycérides chez les rats mâles et femelles (500 et 1000 mg/kg) ont montré une diminution significative par rapport leurs témoins ce qui implique que l'extrait AQ pourrait avoir un effet hypo-triglycéridémiant. Ce résultat corrobore celui rapportés par Harnafi *et al.* (2007). Les résultats de l'analyse des paramètres hématologiques et biochimiques indiquent que l'extrait AQ (250, 500, 1000 mg/kg) n'a pas induit d'altérations significatives des fonctions hépatiques et rénales chez tous les animaux testés.

L'examen des coupes histologiques du foie et des reins a révélé certains effets négatifs de l'administration orale de l'extrait AQ. Des congestions vasculaires ont été observées dans les

tissus du foie et des reins des animaux des deux sexes traités par extrait AQ (500 et 1000 mg/kg). Cela pourrait être dû à l'action vasoconstrictrice des composants phytochimiques de l'extrait AQ sur la paroi des vaisseaux sanguins (Ashley, 2004).

5 Etude de l'effet anti-inflammatoire des extrait AQ, EtOH et EtOH 70% d'*E. arborea*

L'inflammation est le principal processus impliqués dans la physiopathologie de nombreuses maladies chroniques (Zhong et Shi, 2019). Ses principaux symptômes sont : l'œdème, l'hyperalgésie et l'érythème. Etant donné que l'œdème constitue l'un des signes cardinaux de l'inflammation, il serait intéressant de l'étudier lors de l'investigation de l'effet anti-inflammatoire des substances naturelles (Morris, 2003).

Dans la présente expérimentation, l'étude de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait AQ a été menée en utilisant deux modèles de l'inflammation aiguë : le model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton et le model de l'œdème de la patte induit par injection de la carragénine. Ces deux procédures sont communément acceptées comme modèles pharmacologiques pour évaluer les effets anti-inflammatoires aigus des produits naturels (Ben Khedir *et al.*, 2016). Dans le cadre expérimental, plusieurs catégories de médicaments sont largement disponibles et utilisés afin de réduire l'inflammation provoquée. Dans notre étude, le Diclofenac et l'Indométacine, deux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été utilisés.

L'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton est un modèle intéressant qui permet d'évaluer l'effet anti-inflammatoire aigu des substances naturelles. L'huile de croton est un agent irritant dont les esters de phorbol tels que l'acétate de tertadécanoyl phorbol (TPA) représentent le principal composant responsable de la réponse inflammatoire caractérisée par la formation d'un œdème, l'infiltration de neutrophiles, la libération d'histamine et de sérotonine ainsi que l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Barbosa *et al.*, 2015). Le TPA agit par l'activation de la protéine kinase C (PKC) qui à son tour induit l'activité enzymatique de la phospholipase A2 (PLA2) conduisant à la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines et leucotriènes (Oliveira-Tintino *et al.*, 2018). L'indométacine, un puissant AINS, réduit la formation de l'œdème par l'inhibition de l'activité de la cyclo-oxygénase et par conséquent de la synthèse des prostaglandines (Lucas, 2016). Nos résultats ont démontré que les extrais AQ, EtOH et EtOH 70% réduisent efficacement le

développement de l'œdème de l'oreille indiquant que ces extraits agiraient comme des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase.

L'œdème de la patte induit par l'injection sous-plantaire de la carragénine est un modèle classique généralement utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire aigu *in-vivo* des extraits de plantes (Chauhan *et al.*, 2020). Afin de pouvoir mettre en évidence l'effet anti-inflammatoire des trois extraits étudiés nous avons procédé à la mesure de l'évolution de l'épaisseur de l'œdème de la patte des souris au moyen d'un pied à coulisse au cours d'un laps de temps de 4h ainsi qu'au calcul du pourcentage d'inflammation induit par l'injection de la carragénine.

L'œdème présente une caractéristique biphasique, qui pendant la première phase (0-1h) est provoqué par la libération de l'histamine ou de la sérotonine, tandis que durant la seconde phase (1h à 4h), il est médié par la libération des métabolites de l'acide arachidonique (prostaglandines), de protéase et de lysosomes (Mouffouk *et al.*, 2018). Nos résultats ont indiqué que les trois extraits testés étaient capables de réduire efficacement le gonflement dans les deux phases de l'inflammation induite par l'injection de la carragénine avec une inhibition maximale dans la seconde phase. Ainsi, l'effet anti-inflammatoire des extraits AQ, EtOH et EtOHT 70% pourrait être lié à l'inhibition de la libération d'histamine ou de sérotonine dans la phase initiale et à l'inhibition de l'activité de la cyclo-oxygénase dans la seconde phase. Dans le même modèle d'inflammation nos résultats sont conformes à ceux obtenus par Akkol *et al.* (2008).

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% indiquent qu'ils contiennent des composés phytochimiques qui pourraient être responsables de cette activité pharmacologique. En fait, l'utilisation de l'acide chlorogénique 0.2% et de la quercétrine 1% vient confirmer que l'effet anti-inflammatoire des trois extraits pourrait être dû à la présence prédominante de ces deux composés dans les extraits testés. De plus, les résultats de l'effet anti-inflammatoire *in-vivo* obtenus dans la présente expérimentation viennent consolider les études précédemment publiées qui font état des effets anti-inflammatoires de l'acide chlorogénique (Yun *et al.*, 2012 ; Tajik *et al.*, 2017 ; Naveed *et al.*, 2018 ; Segheto *et al.*, 2018) de la quercétine-3-*O*-rhamnoside (Perez, 2001 ; Kim *et al.*, 2016) et de la myricétine-3-*O*-rhamnoside (Nassar *et al.*, 2010). En outre, Catelan *et al.* (2018) ont suggéré que l'effet anti-inflammatoire des flavonols glycosylés pourrait être lié à leurs parties aglycones parmi lesquelles la quercétine est bien connue pour être un puissant agent anti-inflammatoire.

*Conclusion et
perspectives*

Erica arborea, une plante native des forêts du bassin méditerranéen, est largement distribuée sur le territoire algérien. Ses patries aériennes sont principalement utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne pour leur action anti-inflammatoire et diurétique. À notre connaissance, cette étude est la première recherche qui a permis de mettre la lumière sur l'effet anti-inflammatoire *in-vivo*, d'établir le profil toxicologique et phytochimique ainsi que l'activité antioxydante des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% de la partie aérienne d'*E. arborea* algérienne.

Notre étude a montré que le rendement des extractions pouvait être influencé par plusieurs facteurs notamment la méthode d'extraction, la nature et les caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés et plus particulièrement leur polarité.

Le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes contenus dans les extraits préparés à base de cette plante a permis de mettre en évidence sa richesse en ces métabolites secondaires. L'investigation phytochimique a mis la lumière sur la nature de ces composés bioactifs. On distingue ainsi la présence de deux classes de composés phénoliques nommément des acides phénols et leurs dérivés ainsi que des flavonoïdes glycosylés.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in-vitro* des extraits AQ, EtOH et EtOH 70% a été effectuée par la combinaison de quatre différentes méthodes afin de déterminer les différents mécanismes par lesquels les extraits exercent leur effet antioxydant. Au regard de ce qui précède, nous concluons qu'*E. arborea* possède un véritable potentiel antioxydant et constitue une source prometteuse d'antioxydants naturels.

Cette étude fournit des informations pertinentes sur l'administration orale aiguë et subaiguë de ces différents extraits ce qui permettra d'orienter d'éventuelles études qui se rapporteront sur cette plante médicinale. Compte tenu de résultats obtenus, nous pouvons conclure que la prise aiguë des extraits de cette plante aux doses de 2000 et 5000 mg/kg est inoffensive pour la santé. Cependant, la prise répétée de l'extrait AQ pourrait présenter une toxicité modérée qui se déduit d'une part par l'absence de mortalité des animaux d'expérimentation et de l'altération dans les paramètres hématologiques et biochimiques et d'autre part de la présence de dommages dans les tissus du foie et des reins des animaux traités aux dose de 500 et 1000 mg/kg.

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait AQ possède un effet hypotriglycéridémiant prometteur. Toutefois, la présence de dommages au niveau des tissus

hépatiques et rénaux restent préoccupants. Il serait intéressant à l'avenir d'approfondir l'évaluation de cette activité et d'examiner en détail les effets qui peuvent être engendrés.

La présente étude a montré que les extraits AQ, EtOH et EtOH 70% pouvaient réduire efficacement la formation de l'œdème de l'oreille et de la patte induit par l'huile de croton et la carragénine, respectivement. Toutefois, l'administration orale de l'extrait AQ présente les pourcentages d'inhibition les plus élevés dans les deux modèles expérimentaux utilisés. Cet effet semble être relié aux composés phytochimiques contenus dans ces extraits. En effet, l'acide chlorogénique et la quercétrine produisent un important effet anti-inflammatoire *in-vivo* et atténuent efficacement la formation de l'œdème. Ces résultats corroborent l'utilisation traditionnelle d'*E. arborea* pour traiter l'inflammation et plus particulièrement l'utilisation de l'extrait AQ préparé par décoction.

Ainsi, pour conclure, il est admis que le monde actuel se tourne d'avantage vers les pratiques thérapeutiques traditionnelles pour se soigner du fait des multiples bienfaits qu'elles apportent pour la santé. *Erica arborea* représente une source prometteuse d'antioxydants naturels qui peuvent être exploités dans les différentes applications pharmaceutiques. Elle constitue également un moyen efficace pour le traitement des manifestations inflammatoires notamment l'œdème. Toutefois, bien que sa toxicité soit modérée et dépourvue d'effets secondaires graves il serait prudent à l'avenir d'explorer plus profondément ces effets nuisibles.

Compte tenu de ce qui précède, d'autres expérimentations doivent être entreprises afin de compléter et d'exploiter au maximum le potentiel thérapeutique de cette plante. Ainsi il s'inscrit dans nos perspectives de recherche de :

- Evaluer la toxicité chronique afin de clarifier le mécanisme d'action de l'extrait AQ.
- Approfondir l'identification des composés phytochimiques, les isoler, les purifier, les quantifier et évaluer l'effet anti-inflammatoire.
- Explorer d'avantage l'effet hypotriglycémiant.
- Evaluer l'activité antioxydante *in-vivo*.
- Evaluer d'autres activités biologiques telles que l'activité diurétique, antiulcéreuse, et analgésique.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel-Misih S.R et Bloomston M., 2010. Liver anatomy. The Surgical clinics of North America, 90 (4): 643.
- Aghazadeh-Habashi A., Asghar W., Jamali F., 2017. Drug-Disease Interaction: Effect of Inflammation and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Cytochrome P450 Metabolites of Arachidonic Acid. Journal of Pharmaceutical Sciences, 107(2), 756–763.
- Agisho, H., Osie, M., Lambore, T., 2014. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in Hadiya Zone, Ethiopia. Journal of Medicinal Plants Studies. 2 (2): 94-108.
- Aguilar T.A.F., Navarro B.C.H., Perez J.A.M., 2016. Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress. in: A Master Regulator of Oxidative Stress-The Transcription Factor Nrf2. InTech. 3e19: 1-20.
- Ahmad W., Ijaz B., Shabbiri K., Fayyaz A., Sidra R., 2017. Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/ RNS generation. J Biomed Sci. 24 (1): 76.
- Ahmed E., Arshad M., Khan M.Z., Amjad M.S., Sadaf H.M., Riaz I., Sabir S., Ahmad N., Sabaoon., 2017. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(2): 205–214
- Ahmed S., Mallick I.A., Mohtasheemul M., 2017. Exploring globally used antiurolithiatic plants of A to L families: Asteraceae, Fabaceae and Lamiaceae revisited. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(5): 1780-1787.
- Aires A., Carvalho R., 2017. Screening of Polyphenol Composition and Antiradical Capacity of Wild *Erica arborea*: A Native Plant Species from the Portuguese Flora. J. Chromatogr. Sep. Tech. 8. 1000379.
- Ait Youssef M., 2006. Plantes Médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. Paris. pp.37–38.
- Akhlaghi M., et Foshati S., 2017. Bioavailability and Metabolism of Flavonoids: A Review Int J Nutr Sci. 2 (4): 180-184
- Akkol E.K., Yeşilada E., Güvenc A. 2008. Valuation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Erica* species native to Turkey. J. Ethnopharmacol. 116: 251–257.
- Amenya H.Z., Gathumbi P.K., Mbaria J.M., Thaiyah A.G. Thoithi G.N., 2014. Sub-acute toxicity of the chloroformic extract of *Rapanea melanophloeos* (L.) Mez in rats. J Ethnopharmacol. 154: 593-599.
- Amezouar F., Badri W., Hsaine M., Bourhim N., Fougrach H., 2013. Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire d'*Erica arborea* L. du Maroc. Pathol. Biol. 61: 254–258.

- Ansari M. Y., Ahmad N., Haqqi T. M., 2020. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110452.
- Anulika N.P., Ignatius E.O., Raymond E.S., Osasere O.I., Abiola A.H., 2016. The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res.* 4 (8): 1-9.
- Aouachria S., Boumerfeg S., Benslama A., Benbacha F., Guemmez T., Khennouf S., Arrar L., Baghiani A., 2017. Acute. sub-acute toxicity and antioxidant activities (*in-vitro and in-vivo*) of *Reichardia picroides* crude extract. *J. Ethnopharmacol.* 208. 105–116.
- Aouiachria. S.. 2018. Contribution to the phytochemical study and evaluation of the in vitro and in vivo antioxidant activity of *Reichardia picroides* L. Thèse de doctorat en in biochimie.. Département de Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1 (Algérie). 100 p.
- Ashley C. (2004). Renal failure: how drugs can damage the kidney. *Royal Free Hampstead NHS Trust* 11: 48-53.
- Aslan A., Güllüce M., Sökmen M., Adigüzel A., Sahin F., Özkan H., 2006. Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricate*, *Evernia prunastri*, and *Neofuscella pulla*. *Pharm. Biol.* 44. 247–252.
- Atanasov A.G., Waltenberger B., Pferschy-Wenzig E.M., Linder T., Wawrosch C., Uhrin P., Temml V., Wang L., Schwaiger S., Heiss E.H., Rollinger J.M., Schuster D., Breuss J.M., Bochkov V., Mihovilovic M.D., Kopp B., Bauer R., Dirsch V.M., Stuppner H., 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review , *Biotechnol. Adv.*, 33 (8) : 1582-1614
- Awuchi C.G., 2019. Medicinal Plants: The Medical. Food. And Nutritional Biochemistry And Uses. *International Journal of Advanced Academic Research | Sciences. Technology and Engineering.* 5 (11): 220-241.
- Ay M., Bahadori F., Öztürk M., Kolak U. Topçu G., 2007. Antioxidant activity of *Erica arborea*. *Fitoterapia.* 78: 571–573.
- Ayroldi E., Macchiarulo A., Riccardi C., 2014. Targeting glucocorticoid side effects: selective glucocorticoid receptor modulator or glucocorticoid-induced leucine zipper? A perspective. *The FASEB Journal.* 28 (12): 5055–5070.
- Azevedo C.M., Afonso C.M., Sousa D., Lima R.T., Vasconcelos M.H., Pedro M., Barbosa J., Correa A.G., Reis S., Pinto M.M.M., 2013. Multidimensional optimization of promising antitumor xanthone derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 21 (11): 2941-2959.
- Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N., 2012. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes

- mellitus in the North Western and South Western Algeria. *J. Med. Plants Res.* 6(10): 2041-2050.
- Badri W., Miladi K., Nazari Q.A., Greige-Gerges H., Fessi H., Elaissari A., 2016. Encapsulation of NSAIDs for inflammation management: Overview. progress. challenges and prospects. *International Journal of Pharmaceutics.* 515 (1-2): 757–773.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Inkas M., Uycky M., Gazin M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim.-Forsch.* 46. 1086–1094.
- Barbosa A.G.R., Oliveira C.D.M., Lacerda-Neto L.J., Vidal C.S., Saraiva R.A., Da Costa J.G.M., Coutinho H.D.M., Galvao H.B.F., De Menezes I.R.A., 2015. Evaluation of chemical composition and antiedematogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii Benth.* *Saudi J Biol Sci.* 24 (2): 355–361
- Bardaa S., Turki M., Ben Khedir S., Mzid M., Rebai T., Ayadi F, Sahnoun., Z., 2020. The Effect of Prickly Pear, Pumpkin, and Linseed Oils on Biological Mediators of Acute Inflammation and Oxidative Stress Markers. *BioMed Research International.* 2020, 5643465: 1-11.
- Barker D., 2019. Lignans. *Molecules.* 24(7) : 2–5.
- Baudoux T et Nortier J. L., 2017. Nephrotoxicity of Herbal Products. *Toxicology of Herbal Products.* Springer International Publishing Switzerland. 307–344.
- Beghalia M., Ghalem S., Allali H., Belouatek A., Marouf A., 2008. Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. *J. Med. Plant Res.* 2(3): 66-70.
- Ben Khedir S., Mzid M., Bardaa S., Moalla D., Sahnoun Z., Rebai T., 2016. *In vivo* evaluation of the anti-inflammatory effect of *Pistacia lentiscus* fruit oil and its effects on oxidative stress. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2016: 1-12.
- Benarba B., Belabid L., Righi K., Bekkar A.A., Melouissi M., Khaldi A., Hamimed A., 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *J. of Ethnopharmacol.* 175: 626–637.
- Bessah R et Benyoussef E.H., 2014. Essential oil composition of *Erica arborea* L. leaves from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants.* 17 (5): 931-935.
- Bhagat J., Ingole B.S., Singh N., 2016. Glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and lipid peroxidation as biomarkers of oxidative stress in snails: A review. *Invertebrate Survival Journal.* 13 (1): 336-349.

- Bhattacharya A., Sood P., Citovsky V., 2010. The roles of plant phenolics in defence and communication during Agrobacterium and Rhizobium infection. *Mol. Plant. Pathol.* 2010. 11(5) : 705–719.
- Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U., 2020. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology.* 180, 114147.
- Biswas S.K., 2016. Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2016, 5698931: 1- 9.
- Black P., Saleem A., Dunford A., Guerrero-Analco J., Walsche-Roussel B., Haddad P., Cuerrier A., Arnason J.T., 2011. Seasonal variation of phenolic constituents and medicinal activities of northern Labrador tea. *Rhododendron tomentosum* ssp. *subarcticum*. an Inuit and Cree first nations traditional medicine. *Planta Medica.* 77(14): 1655–1662.
- Bouaziz A., Khennouf S., Abu Zarga M., Abdalla S., Baghiani A., Charef N., 2015. Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Res. J. Biol. Chem. Sci.* 5(1) : 19-28.
- Bouchouka E., 2016. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat en Faculté des sciences département chimie option phytochimie. 2016
- Bouzabata A., 2016. Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement. *Phytothérapie.* 15 (6) : 401–408.
- Bouzabata, A et Yavuz, M., 2019. Médecine traditionnelle et ethnopharmacologie en Algérie : de l'histoire à la modernité. *Ethnopharmacologia.* 62 : 86-92p
- Brieger K., Schiavone S., Miller F.J., Krause K.H., 2012. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss medical weekly,* 142, w13659.
- Brondani J.C., Reginato F.Z., Da Silva Brum E., De Souza Vencato M., Lima Lhamas C., Viana C., Ugalde Marques da Rochac M.I., De Freitas Bauermann L., Palermo Manfrona M., 2017. Evaluation of acute and subacute toxicity of hydroethanolic extract of *Dolichandra unguis-cati* L. leaves in rats. *J. Ethnopharmacol.* 202: 147-153.
- Carocho M et Ferreira I.C., 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology.* 51: 15-25.
- Caro-Ordieres T., Marín-Royo G., Opazo-Ríos L., Jiménez-Castilla L., Moreno J.A., Gómez-Guerrero C., Egidio J., 2020. The Coming Age of Flavonoids in the Treatment of Diabetic Complications. *J. Clin. Med.* 9 (2): 346 : 1-27.

- Carotti S., Morini S., Carpino G., Gaudio E., 2020. Liver Diseases: A Multidisciplinary Textbook , Liver histology. Springer. 17-28.
- Catelan T.B.S., Radai S.A.J., Leitão M.M., Branquinho S.L., Vasconcelos P.C.P., Heredia-Vieira S.C., Kassuya C.A.L., Cardoso C.A.L., 2018. Evaluation of the toxicity and anti-inflammatory activities of the infusion of leaves of *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. berg. J. Ethnopharmacol. 226. 132–142.
- Chalmers. C., 2019. Applied Anatomy and Physiology and the Renal Disease Process in Renal Nursing. 21–58.
- Chanda S., Parekh J., Vaghasiya Y., Dave R., Baravalia Y., Nair R., 2015. Medicinal plants - from traditional use to toxicity assessment: a review. International journal of pharmaceutical sciences and research. 6 (7): 2652-2670
- Chandrasekara A., 2019. Phenolic Acids. In L. Melton. F. Shahidi. & P. Varelis (Eds.). Encyclopedia of food chemistry (pp. 535–545). Academic Press.
- Chauhan P., Singh S., Gupta Y.K., Kumar U., 2018. Evaluation of toxicity studies and anti-inflammatory activity of *Terminalia Bellerica* in carrageenan-induced paw edema in experimental rats. J Nat Sc Biol Med. 9 (2): 169-174.
- Chen J., Chen Y., Ye X., 2019. Lignans in Diets. Handbook of Dietary Phytochemicals, 1-22.
- Chen Z., Bertin R., Frolidi G., 2013. EC₅₀ estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. Food Chemistry. 138 (1): 414–420.
- Chinedu E., Arome D., Ameh F., 2013. A New Method for Determining Acute Toxicity in Animal Models. Toxicol Int. 20 (3): 224–226.
- Christenhusz M.J.M et Byng. J.W., 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa. 261(3): 201–217.
- Cong-Cong X.U., Bing W.A.N. G., Yi-Qiong P.U., Jian-Sheng T.A.O., Zhang T., 2017. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. Chinese journal of natural medicines. 15 (10): 721-731.
- Cordaro M., Siracusa R., Fusco R., D’Amico R., Peritore A.F., Gugliandolo E., Genovese T., Scuto M., Crupi R., Mandalari G., Cuzzocrea S., Di Paola R., Impellizzeri D., 2020. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts Counteract Oxidative Stress and Inflammation in an Acute Experimental Model of Carrageenan-Induced Paw Edema. Antioxidants. 9 (8): 660.
- Cornara L., La Rocca A., Marsili S., Mariotti M.G., 2009. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). Journal of Ethnopharmacology. 125 (1): 16-30.
- Cruz-Topete D et Cidlowski J.A., 2015. One hormone. two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. Neuroimmunomodulation. 22 (1-2): 20-32.

- Cuendet M., Hostettmann K., Dyatmiko W., Potterat O., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chim. Acta.* 80 (4): 1144–1152.
- Dangles O., 2012. Antioxidant Activity of Plant Phenols: Chemical Mechanisms and Biological Significance. *Current. Organic. Chemistry.* 16 (6): 692-714.
- Darias V., Martín-Herrera D., Abdala S., de la Fuente D., 2001. Plants Used in Urinary Pathologies in the Canary Islands. *Pharmaceutical Biology.* 39 (3) : 170–180.
- De Jesus N.Z., de Souza Falcão H., Gomes IF., de Almeida Leite T.J., de Morais Lima G.R., Barbosa-Filho J.M., et al. 2012. Tannins. peptic ulcers and related mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences* 13(3):3203-2328.
- De Melo J.G., Santos A.G., De Amorim E.L.C., Do Nascimento S.C., De Albuquerque U.P., 2011. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2011. 365359: 1-4.
- Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., Roberts R., 2012. Drug induced oxidative stress and toxicity. *J. Toxicol.* 2012, 645460: 1-13.
- Del Río L.A., 2015. ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 66 (10): 2827-2837.
- Demirkiran O., Topçu G., Bahadori F., Ay M., Nazemiyeh H., Choudhary I. 2010. Two new phenylpropanoid glycosides from the leaves and flowers of *Erica arborea*. *Helvetica Chimica Acta*, 93(1): 77-83.
- Denny KH., Stewart CW., 2013. Acute. sub-acute. sub-chronic and chronic general toxicity testing for preclinical drug development. In: *A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development.* Elsevier Inc.: London. 2013: 87-105
- Di Meo S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M., 2016. Harmful and Beneficial Role of ROS. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016, 1245049, 1-44.
- Diallo I., 2019. Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture. Thèse de doctorat en Science des Aliment et Nutriment. Université Montpellier. 181p.
- Dias P., Falé P.L., Martins A., Rauter A.P., 2015. Digestibility and Bioavailability of the Active Components of *Erica australis* L. Aqueous Extracts and Their Therapeutic Potential as Acetylcholinesterase Inhibitors. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2015, 854373: 1-7 pages.
- Dirar A.I., Alsaadi D.H.M., Wada M., Mohamed M. A., Watanabe T., Devkota, H.P., 2018. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany.* 120: 261-267.

- Do Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S., Ju Y.H., 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3): 296–302.
- Do Q.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetaredjo F.E., Ismadji S., Ju Y.H., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. 22 (3): 296-302.
- Dong W., Zhou Y., Yang Z., 2016. Review on the Effect of Resveratrol on Central Nervous System Disease. *Journal of Behavioral and Brain Science*. 6 (3): 118-123.
- Dooley J.S., Lok A.S.F., Burroughs A.K., Heathcote E.J., 2011. Sherlock's diseases of the liver and biliary system. 12ème édition. Blackwell science. John Wiley & Sons. Ltd. Milan. Italy. 1-254.
- Dubrovina A.S et Kiselev, K.V., 2017. Regulation of stilbene biosynthesis in plants. *Planta*, 246(4), 597-623.
- Dulcetti Junior, O., Andreucci, V.C., Cunha, I.B. da S., Araujo, C.E.P., de Oliveira, F., Marcucci, M.C., 2004. Investigation of the anti-inflammatory and analgesic activities of a sample of Brazilian propolis. *Acta Farm. Bonaerense* 23 (3), 285–291.
- Dupont F., Guignard J.L., 2007. *Botanique : Systématique moléculaire*. 14ème Edition Masson. Paris. France. 286 p.
- Durazzo A., Lucarini M., Souto E.B., Cicala C., Caiazzo E., Izzo A.A., Novellino E., Santini. A., 2019. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *33 (9): 2221-2243*.
- Eddaikra N., Boudjelal A., Sbabdji M.A., Eddaikra A., Boudrissa A.E.K., Bouhenna M.M., Chemat. S., Harrat Z., 2019. Leishmanicidal and Cytotoxic Activity of Algerian Medicinal Plants on *Leishmania major* and *Leishmania infantum*. *J. Med. Microbiol. Infect. Dis.* 7 (3): 66-71.
- Eddouks M., Chattopadhyay D., Feo V.D., Cho W.C., 2012. Medicinal plants in the prevention and treatment of chronic diseases. *Evid. Based Compl. Alt. Med.* 2012, 180981: 1-3.
- El Khawand T., Courtois A., Valls J., Richard T., Krisa S., 2018. A review of dietary stilbenes: Sources and bioavailability. *Phytochemistry Reviews*. 17: 1007–1029.
- Epoh N.J., Matafack-Dongmo O.L., Tadjoua H.T., Mbiapo Tchouanguép F., Telefo P.B., 2019. Evaluation of Acute and Sub-acute Toxicity of the Aqueous Extract from the Fruit of *Solanum indicum* Linn. (*Solanaceae*) in Rats. *EJMP*. 30 (3): 1-16.

- Erhirhie E.O., Ihekwereme C.P., Ilodigwe E.E., 2018. Advances in acute toxicity testing: strengths, weaknesses and regulatory acceptance. *Interdisciplinary Toxicology*. 11 (1): 5–12.
- Etame Loe G., Yinyang J., Okalla Ebongue C., Makondo B.V., Ngaba G.P., Mpondo Mpondo E., D.S., 2017. Étude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences* 120: 12077-12085
- Fatima N., et Nayeem N., 2016. Toxic Effects as a Result of Herbal Medicine Intake. *Toxicology - New Aspects to This Scientific Conundrum*. 2016:193–204.
- Faure S., 2009. Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*. 48 (487): 51-56.
- FDA, U.S. Food and Drug Administration, 2000. Guidance for Industry and Other Stakeholders: Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients: Redbook 2000 [Updated to July, 2007] [Internet]. U.S. Food and Drug Administration (US FDA), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN), Silver Spring (MD) [cited 2017 Jan 20].
- Febvre-James M., 2019. Effets régulateurs du ruxolitinib sur l'expression de marqueurs de l'inflammation et de protéines de détoxication des médicaments. Thèse doctorat en Science Pharmaceutique. Université de Rennes 1, France.
- Fokunang C.N., Fokunang E.T., Frederick K., Ngameni B., Ngadju B., 2018. Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) in resource limited countries. *MOJ Toxicology*. 4 (1): 5–13.
- Frenzel C et Teschke R., 2016. Herbal Hepatotoxicity: Clinical Characteristics and Listing Compilation. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (5): 1-38.
- García D.E., Glasser W.G., Pizzi A., Paczkowski S.P., Laborie M.P., 2016. Modification of condensed tannins: from polyphenol chemistry to materials engineering. *New J. Chem.* 40 (1) : 36–49
- Gautam M.K et Goel R.K., 2014. Toxicological Study of *Ocimum sanctum* Linn Leaves: Hematological, Biochemical, and Histopathological Studies. *J. Toxicol.* 2014, 135654 : 1- 9.
- Ghosh D., 2015. Tannins from foods to combat diseases. *Int J Pharm Res Rev*. 4 (5): 40-44.
- Ginwala R., Bhavsar R., Chigbu D. G.I., Jain P., Khan Z.K., 2019. Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants*, 8 (2), 35 : 2-28.
- Glorieux C., Calderon P.B., 2017. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach, *Biol. Chem.* 398 (2017): 1095–1108.
- Górniak I., Bartoszewski R., Króliczewski J., 2019. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochem Rev.* 18 (1) : 241–72.

- Guendouze-Bouchefa N., Madani K., Chibane M., Boulekbache-Makhlouf L., Hauchard D., Kiendrebeogo M., Stevigny C., Okusa P.N., Duez P., 2015. Phenolic compounds. antioxidant and antibacterial activities of three *Ericaceae* from Algeria. *Ind. Crop. Prod.* 70 (2015) : 459–466.
- Guido M., Sarcognato S., Sacchi D., Ludwig K., (2019). *The Anatomy and Histology of the Liver and Biliary Tract. Pediatric Hepatology and Liver Transplantation.* Springer, Cham. 41-55.
- Gutierrez-Orozco F et Failla M.L., 2013. Biological activities and bioavailability of mangosteen xanthenes: A critical review of the current evidence. *Nutrients.* 5 (8): 3163–3183.
- Hadjadj S., Bayoussef Z., El Hadj-Khelil A.O., Beggat H., Bouhafis Z., Boukaka Y., Khaldi I.A., Mimouni S., Sayah F., Tey, M., 2015). Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla). *Journal of medicinal plants research*, 9(41), 1049-1059.
- Hajjaj G., 2017. Screening phytochimique. étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de *l'ormenis mixta* l. (asteraceae). Thèse de Doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V. Maroc. 216 p.
- Halake Q., Birajdar M., Lee J., 2016. Structural implications of polyphenolic antioxidants. *J. IND. ENG. CHEM.* 35: 1-7.
- Halliwell B et Gutteridge J.M., 2015. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford University Press, USA.
- Hameister R., Kaur C., Dheen S. T., Lohmann C. H, Singh G., 2020. Reactive oxygen/nitrogen species (ROS/RNS) and oxidative stress in arthroplasty. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B. Applied Biomaterials.* 108 (5) : 2073–2087.
- Hammiche V., Merad R., Azzouz M., 2013. *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen.* Paris: Springer Verlag. 1-391.
- Harnafi H., el Houda Bouanani N., Aziz M., Caid H.S., Ghalim N., Amrani S., 2007. The hypolipidaemic activity of aqueous *Erica multiflora* flowers extract in Triton WR-1339 induced hyperlipidaemic rats: a comparison with fenofibrate. *Journal of Ethnopharmacology.* 109 (1): 156-160.
- He S., Zhang C., Zhou P., Zhang X., Ye T., Wang R., Sun. X., 2019. Herb-Induced Liver Injury: Phylogenetic Relationship. Structure-Toxicity Relationship. and Herb-Ingredient Network Analysis. *International Journal of Molecular Sciences.* 20 (15), 3633 : 1-25.
- Hussain G., Huang J., Rasul A., Anwar H., Imran A., Maqbool J., Razzaq A., Aziz N., Makhdoom E.U.H., Konuk M., Sun, T., 2019. Putative roles of plant-derived tannins in neurodegenerative and neuropsychiatry disorders: An updated review. *Molecules.* 24 (12): 2213.

- Ifeoma O., Oluwakanyinsola S., 2013. Screening of herbal medicines for potential toxicities. Gowder S. editor. *New insights into toxicity and drug testing*. 244: 63-88.
- Ighodaro O.M et Akinloye O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*. 54 (4): 287-293.
- Jiang Q., 2014. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology and Medicine*. 72: 76–90.
- Johann. S., Runhild R., Cristophe. P., 2013. *Le corps humain anatomy et physiologie* 635 illustration. 2013. 1. XII-450.
- Johnson R. J., Nakagawa T., Jalal, D., Sánchez-Lozada L.G., Kang D. H., Ritz, E. 2013. Uric acid and chronic kidney disease: which is chasing which?. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 28 (9): 2221-2228.
- Kabel, A.M., 2014. Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*. 2 (3): 35-38.
- Karak P., 2019. Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 10 (4): 1567-1574.
- Khodadadi S et Rafieian-Kopaei M., 2016. Herbs, health and hazards; a nephrology viewpoint on current concepts and new trends.. *Annals of Research in Antioxidants*.1 (1): e05.
- Khodadadi S et Rafieian-Kopaei M., 2016. Herbs, health and hazards; a nephrology viewpoint on current concepts and new trends. *Annals of Research in Antioxidants*. 1(1), e05.
- Kim D.W., Lee S.M., Woo H.S., Park, J.Y., Ko B.S., Heo J.Lee, W. S., 2016. Chemical constituents and anti-inflammatory activity of the aerial parts of *Curcuma longa*. *Journal of Functional Foods*, 26: 485-493.
- Köroğlu A., Hürkul M.M., Kendir G., Küçükboyacı N., 2019. *In-vitro* antioxidant capacities and phenolic contents of four *Erica L. (Ericaceae)* taxa native to Turkey. *J. Res. Pharm.* 23 (1): 93-100.
- Kumar N et Goel N., Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol. Rep.* 2019. 24, e00370.
- Kumar S et Pandey A.K., 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*. 2013, 162750.
- Kurutas E.B., 2015. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J.* 15 (1): 1-22.

- La Mantia T., Giaimi G., Veca, D.S.L.M., Pasta S., 2007. The role of traditional *Erica arborea* L. management practices in maintaining northeastern Sicily's cultural landscape. *Forest ecology and management*, 249(1-2) : 63-70.
- Lacour. B. (2013). Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 2013(451). 25–37
- Laddha A.P et Kulkarni Y.A., 2018. Tannins and Vascular Complications of Diabetes: An update. *Phytomedicine*. 56: 229-245.
- Lamy E., Pinheiro C., Rodrigues L., Capela e Silva F., Lopes O.S., Tavares S et al., 2016. Determinants of Tannin-Rich Food and Beverage Consumption: Oral Perception vs. Psychosocial Aspects. In *Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*. Ed Combs CA, Nova Science Publishers Inc, New York, USA, pp 29-58.
- Lattanzio V. 2013. Phenolic Compounds: Introduction. K.G. Ramawat, J.M. Mérillon (eds.) *Nat. Prod*, 1543-1580 p.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Jiang Y., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*. 102(3): 771-776.
- Li X., Jiang Q., Wang T., Liu J., Chen D., 2016. Comparison of the antioxidant effects of quercitrin and isoquercitrin: Understanding the role of the 6''-OH group. *Molecules*, 21 (9): 1246.
- Li X., Luo Y., Wang L., Li, Y., Shi Y., Cui Y., Xue M., 2010. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of ethnopharmacol*, 131(1), 110-115.
- Lu S.C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830 (5): 3143-3153.
- Lucas, S. (2016). The pharmacology of indomethacin. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*. 56 (2): 436-446.
- Luís. Â.. Domingues. F.. Duarte. A.P.. 2011. Bioactive compounds. RP-HPLC analysis of phenolics. and antioxidant activity of some Portuguese shrub species extracts. *Nat. Prod. Commun.* 6 (12) : 1863–1872.
- Luís. Â.. Domingues. F.. Gill. G.. Duarte. A.P.. 2009. Antioxidant activity of extracts of Portuguese shrubs: *Pterospartum tridentatum*. *Cytisus scoparius* and *Erica spp.* *J. Medicinal Plants Res.* 3(11): 886-893.
- Lushchak V.I., 2012. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J. Amino Acids*. 2012, 736837: 1-26.

- Macáková K., Kolečkář V., Cahlíková L., Chlebek J., Hošťálková A., Kuča K., Opletal, L. 2014. Tannins and their Influence on Health. *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. 1: 159-208.
- Maheshwari DG et Shaikh NK., 2016. An overview on toxicity testing method. *International Journal Of Pharmacy & Technology*. 8 (2): 3834–3849.
- Marinova E.M., Toneva. A., Yanishlieva N., 2009. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. *Food Chem*. 114 (4): 1498–1502.
- Marquez-García B., Fernandez M.A., Cordoba. F.. 2009. Phenolics composition in *Erica sp.* differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern Pyritic Belt. *Bioresour. Technol*. 100 (1): 446–451.
- Mebirouk-Boudechiche L., Abidi S., Boudechiche L., & Gherssi M., 2016. Evaluation of forage produced by *Erica arborea*, shrub species found in Algerian alder forests in wetlands of northeastern Algeria. *Fourrages*, (225), 71-74.
- Meddour R., Meddour-Sahar O., 2015. Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Tizi-Ouzou. Algeria). *AJMAP*. 1 (2): 137-151.
- Mensah M.L.K., Komlaga G., Forkuo A.D., Firempong C., Anning A.K., Dickson R.A., 2019. Toxicity and Safety Implications of Herbal Medicines Used in Africa. . *Herbal Medicine*. 63. 1-25.
- Milatovic D., Zaja-Milatovic S., Gupta R.C., 2019. Biomarkers of oxidative/nitrosative stress and neurotoxicity. in *Biomarkers in Toxicology*. seconde Edition. Academic Press. Boston. pp. 1013-1031.
- Mirończuk-Chodakowska I ET Witkowska A.M., Zujko M.E., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*. 63 (2018): 68-78.
- Mojzer E. B., Knez Hrnčič M., Škerge M., Knez Ž., Bren U., 2016. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*. 21 (7): 1–38.
- Moore K.L., Dalley A.F., 1999. *Clinical Oriented Anatomy* (4th Edition). Lippincot Williams and Williams; a Woller Klumner Corporation. Philadelphia. pp. 263-271.
- Morris C.J., 2003. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol*. 225: 115–121.
- Mouffouk C., Hambaba L., Hamada H., Mouffouk S., Bensouici C., Hachemi. M., Khadraoui H., 2018. Acute toxicity and *in-vivo* anti-inflammatory effects and *in-vitro* antioxidant and anti-arthritic potential of *Scabiosa stellate*. *Orient. Pharm. Exp. Med*. 18 (4) : 335–348.

- Moulla M., 2003. Contribution à l'étude des interactions plantes insectes chez les Ericacées d'algérie *Erica arborea* L. et *Arbutus unedo* L.. Thèse de Magister. Faculté des Sciences Biologiques, Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene. Algerie. 93 pages.
- Mrabti H.N., Sayah K., Jaradat N., Kichou K., Ed-Dra A., Belarj B., Cherrah Y., Faouzi M.E.A., 2018. Antidiabetic and protective effects of the aqueous extract of *Arbutus unedo* L. in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *J. Complement. Integr. Med.* 15 (3): 1-11.
- Naikoo M.I., Dar M.I., Raghiv F., Jaleel H., Ahmad B., Raina A., Khan F.A., Naushin F., 2019. Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: an overview. *Plant Signaling Molecules: Role and Regulation Under Stressful Environments.* 157–168.
- Nardi G.M., Farias Januario, Freire A.G., Megiolaro C.G., Schneider F., Perazzoli K., Do Nascimento M.R., Gon S.R., Mariano A.C., Wagner L.N., Niero G., Locatelli R., 2016. Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. *Pharmacogn. Res.* 8 (suppl 1) : 42-49.
- Nasri H et Shirzad H., 2013. Toxicity and safety of medicinal plants. *Journal of Herbmed Pharmacology.* 2 (2): 21-22.
- Nassar. M.I. Aboutabl. E.S.A. Ahmed. F.R.. El-Khrisy. E.D.A.. Ibrahim K.I. Sleem. A.S.. 2010. Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. *Pharmacogn. Res.* 2 (6): 325-329.
- Nations unies (2019). United Nations (2015). Globally harmonized system of classification and labeling of chemicals (GHS). Eight revised edition. United Nations: New York and Geneva. 564 p.
- Naveed M., Hejazi V., Abbas M., Kamboh A.A., Khan G.J., Shumzaid M., Ahmad F., Babazadeh D., Fangfang X., Modarresighazani F., 2018. Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research. *Biomed. Pharmacother.* 97: 67-74.
- Nazemiyeh H., Bahadori F., Delazar A., Ay M., Topcu, G., Kolak, U., Nahar L., 4 A. A. Auzie A.A., Sarker S. D., 2008. Tricetin 4'-O- α -L-rhamnopyranoside: A new flavonoid from the aerial parts of *Erica arborea*. *Chemistry of Natural Compounds.* 44 (2): 174-177.
- Negi J.S., Bisht V.K., Singh P., Rawat S.M., Joshi G.P., 2013. Naturally occurring xanthenes: Chemistry and biology. *Journal of Applied Chemistry.* 2013, 621459 : 1-9.
- Ngo T.V., Scarlett C.J., Bowyer M.C., Ngo P.D., Vuong Q.V., 2017. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality,* 2017, 9305047.

- Nigatu T.A., Afework M., Urga K., Ergete W., Makonnen E., 2017. Toxicological investigation of acute and chronic treatment with *Gnidia stenophylla* Gilg root extract on some blood parameters and histopathology of spleen, liver and kidney in mice. *BMC research notes*. 10 (1) : 1-13.
- Nunes C.D.R., Barreto Arantes M., Menezes de Faria Pereira S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos M., Pereira de Moraes L., Vieira I.J.C., Barros de Oliveira D., 2020. Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules* 25 (16), 3726.
- Nunes R., Anastácio A., Carvalho I.S., 2012. Antioxidant and free radical scavenging activities of different plant parts from two *Erica species*. *J. Food Qual.* 35 (5): 307–314.
- Nunes V et Mendez-Sanchez N., 2020. Impact of Herbal and Dietary Supplements Causing Drug-Induced Liver Injury in Latin America. *Clinical Liver Disease*. 16 (3): 83–86.
- OCDE. 2001. Guidelines for the testing of chemicals. Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. Test No. 423. 14.
- OCDE. 2008. Guidelines for the testing of chemicals. Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. Test No. 407. 13.
- Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Gómez-Romero, M., Aboud, F., Giuseppe, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017). Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 460–469.
- Olajide O.A et Sarker S.D., 2020. Anti-inflammatory natural products. *Annual reports in medicinal chemistry*, 55, 153-177.
- Oliveira-Tintino C.D.M., Pessoa R.T., Fernandes M.N.M., Alcöantara I.S., Da Silva B.A.F., De Oliveira M.R.C., Martins A.O.B.P.B., Do Socorro-Da Silva M., Tintino S.r., Rodrigues F.F.G. Da Costa J.G.M., De Lima S.G., Kerntopf M., Da Silva. R.T.G., Alencar de Menezes I.R., 2018. Anti-inflammatory and anti-edematogenic action of the *Croton campestris* A. St.-Hil (*Euphorbiaceae*) essential oil and the compound beta-caryophyllene in *in-vivo* models. *Phytomedicine*. 41: 82–95.
- OMS (2013) Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Hong Kong. 75 p.
- Ozougwu J.C., 2017. Physiology of the liver. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*. 4 (8): 13-24.
- Pahwa R., Jialal I., 2020. *Chronic Inflammation*; StatPearls: Treasure Island. FL. USA. 2020.

- Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*. 5, e47 : 1-15.
- Pandey K. B et Rizvi S.I., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2 (5): 270–278.
- Pavlović D., Tasić-Kostov M., Marčetić M., Lakušić B., Kitić D., Savić S., Kovačević N., 2013. Evaluation of *in-vivo* effects on surfactant-irritated human skin. antioxidant properties and phenolic composition of five *Ericaceae* species extracts. *RSC Advances*. 90 (4): 255–264.
- Perez G.R.M., 2001. Anti-Inflammatory Activity of Compounds Isolated from Plants. *Sci. World*. 1: 713-784.
- Phaniendra A., Dinesh Babu Jestadi • Latha Periyasamy.. 2015. Free Radicals: Properties. Sources. Targets. and Their Implication in Various Diseases. *Ind J Clin Biochem*. 30 (1): 11–26.
- Phull A.R et Kim. S. J., 2017. Fucoidan as bio-functional molecule: Insights into the anti-inflammatory potential and associated molecular mechanisms. *Journal of Functional Foods*. 38: 415–426.
- Pisoschi A.M et Pop A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97 (2015) 55- 74.
- Pizzi A., 2019. Tannins: Prospectives and Actual Industrial Applications. *Biomolecules*. 9 (8), 344: 2-29.
- Poljsak B., Suput D., Milisav I., 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2013, 956792: 1-11.
- Poulsen M. M., Jorgensen J. O., Jessen N., Richelsen B., Pedersen S. B., 2013. Resveratrol in metabolic health: an overview of the current evidence and perspectives. *Ann NY Acad Sci*. 1290 (1): 74-82.
- Quézel P et Santa S., 1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris. 603 p.
- Radi Z. A., 2019. Kidney pathophysiology, toxicology, and drug-induced Injury in drug development. *International journal of toxicology*, 38(3): 215-227.
- Rahman T., Hosen I., Islam M.M.T., Shekhar U.H., 2012. Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3 : 997-1019.
- Ramesh T., Lee K., Lee H.W., Kim, S. J. 2007. Acute Oral Toxicity Study of *Asiasari radix* Extract in Mice. *International Journal of Toxicology*. 26 (3): 247–251.

- Ramesh T., Lee K., Lee H.W., Kim, S.-J. 2009. Subacute toxicological evaluation of *Asiasari radix* methanol extract. *Drug and Chemical Toxicology*. 32 (3): 243–251.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 26 (9-10): 1231-1237.
- Ricciotti E., Garret A., Gerald F., 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 31 (5): 986–1000
- Ricklin D et Lambris J.D., 2013. Complement in immune and inflammatory disorders: pathophysiological mechanisms. *The Journal of Immunology*, 190 (8): 3831-3838.
- Rodríguez-García C., Sánchez-Quesada C., Toledo E., Delgado-Rodríguez M., Gaforio J.J., 2019. Naturally lignan-rich foods: a dietary tool for health promotion?. *Molecules*. 24 (5) : 917.
- Romano B., Iqbal A.J., Maione F., 2015. Natural Anti-Inflammatory Products/Compounds: Hopes and Reality. *Mediators of Inflammation*. 2015, 374239. 1-2.
- Ronchetti S., Migliorati G., Bruscoli S., Riccardi C., 2018. Defining the role of glucocorticoids in inflammation. *Clinical Science*. 132 (14) 1529-1543.
- Ryan M. J., Dudash H. J., Docherty M., Geronilla K. B., Baker B. A., Haff G.G., Robert G. Cutlip R.G., Always S.E., 2010. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress. improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Experimental Gerontology* . 45 (11): 882–895.
- Saganuwan S. A., 2017. Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: an overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 20 (4): 291–318.
- Saibabu V., Fatima Z., Khan L. A., Hameed S., 2015. Therapeutic potential of dietary phenolic acids. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2015, 823539 : 1-10.
- Saleem A., Harris C.S., Asim M., Cuerrier A., Martineau L., Haddad P. S., Arnason J.T., 2010. A RP-HPLC-DAD-APCI/MSD method for the characterisation of medicinal Ericaceae used by the Eeyou Istchee Cree First Nations. *Phytochemical Analysis*. 21 (4): 328-339.
- Saltveit M.E., 2017. Synthesis and metabolism of phenolic compounds. *Fruit Veget. Phytochem. Chem. Human Health*. 2, 115.
- Santos E.L., Maia B.H.L.N.S., Ferriani A.P., Teixeira S.D., 2017. Flavonoids: Classification, biosynthesis and chemical ecology. *Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health*; IntechOpen: London, UK, 1-14.

- Sato Y., Itagaki S., Kurokawa T., Ogura J., Kobayashi M., Hirano T., Sugawara M., Iseki K., 2011. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International journal of pharmaceutics*. 403 (1-2): 136-138.
- Saxena M., Saxena J., Nema R., Singh D., Gupta A., 2013. Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 1(6): 168-182.
- Scherholz M.L., Schlesinger N., Androulakis I.P., 2019. Chronopharmacology of glucocorticoids. *Advanced drug delivery reviews*. 151: 245-261.
- Segheto L., Santos B.C.S., Werneck A.F.L., Vilela F.M.P., de Sousa, O.V., Rodarte M.P., 2018. Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5-caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. *Ind. Crop. Prod.* 126: 48–57.
- Segheto L., Santos B.C.S., Werneck, A.F.L., Vilela F.M.P., de Sousa O.V., Rodarte M.P., 2018. Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5-caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. *Ind. Crop. Prod.* 126: 48–57.
- Serafini M., Peluso I., Raguzzini A., 2010. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*. 69 (3): 273-278.
- Shalaby E.A et Shanab S.M., 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian journal of Geo-marine Sciences*. 42 (5): 556-564.
- Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B., 2019. Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules* 2019. 24 (13): 2452.
- Sibulesky, L. (2013). Normal liver anatomy. *Clin. Liver Dis.* 2, S1–S3.
- Sies H., 2018. On the History of Oxidative Stress: Concept and Some Aspects of Current Development. *Current Opinion in Toxicology*. 7: 122-126.
- Sindhi V., Gupta V., Sharma K., Bhatnagar S., Kumari R., Dhaka N., 2013. Potential applications of antioxidants—A review. *Journal of pharmacy research*. 7 (9) : 828-835.
- Škrovánková S., Mišurcová L., Machů L., 2012. Antioxidant activity and protecting health effects of common medicinal plants. *Advances in food and nutrition research*. 67: 75-139.
- Sostres C., Gargallo C.J., Arroyo M.T., Lanás A., 2010. Adverse effects of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs. aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 24 (2): 121–132.
- Sousa B.C., Pitt A.R., Spickett, C.M., 2017. Chemistry and analysis of HNE and other prominent carbonyl-containing lipid oxidation compounds. *Free Radical Biology and Medicine*. 111: 294-308

- Sova M and Saso L., 2020. Natural Sources. Pharmacokinetics. Biological Activities and Health Benefits of Hydroxycinnamic Acids and Their Metabolites. *Nutrients*. 12 (8): 2190.
- Sparvoli F., Martin C., Scienza A., Gavazzi G., Tonelli C., 1994. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant molecular biology*. 24 (5): 743-755.
- Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G., 2019. Phenolic compounds from five Ericaceae species leaves and their related bioavailability and health benefits. *Molecules*. 24 (11): 2046.
- Stevens P.F., Luteyn J., Oliver E.G.H., Bell T.L., Brown E.A., Crowden R.K., George A.S., Jordan G.J., Ladd P., Lemson K., McLean C.B., Menadue Y., Pate J.S., Stace H.M., Weiller C.M., 2004. *Ericacea*: In Kubitzki. K. Ed. *The Families and Genera of Vascular Plants*. Vol. 6. Springer-Verlag. Berlin. p. 145-194.
- Subramanian K., Sankaramourthy D., Gunasekaran M., 2018. Toxicity studies related to medicinal plants. In: Mandal SC. Mandal V. Konishi T. (eds). *Natural products and drug discovery: An integrated approach*. 2018: 491-505.
- Suna S., Özcan-Sinir G., Tamer C. E., İncedayi B., Çopur, Ö. U., 2018. Antioxidant capacity and physicochemical characteristics of carbonated Erica arborea tea beverage. *Beverages*, 4(3), 50.
- Tajik N., Tajik M., Mack I., Enck P., 2017. The potential effects of chlorogenic acid. the main phenolic components in coffee. on health: a comprehensive review of the literature. *Eur. J. Nutr.* 56 (7) : 2215-2244.
- Tehrani, H. S., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2018). Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 140, 5-12.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Sokmen A., 2006. Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey. *Food Chemistry*. 95 (2): 200–204.
- Teponno RB., Kusari S., Spiteller M., 2016. Recent advances in research on lignans and neolignans. *Nat Prod Rep*. 33 (9): 1044–1092.
- Teschke R et Eickhoff A., 2015. Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: actual key issues and new encouraging steps. *Frontiers in Pharmacology*. 6: 72.
- Thompson M., Jaiswal Y., Wang I., Williams L., 2017. Hepatotoxicity: Treatment, causes and applications of medicinal plants as therapeutic agents. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(3) : 186-193.
- Tošović J., Marković S., Marković J.M.D., Mojović M., Milenković, D., 2017. Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. *Food chemistry*, 237, 390-398.

- Tortora, G. J., et Derrickson, B., 2017. Principe d'anatomie et de physiologie humaines. 4 ème édition, De Boeck supérieur. 1264 p.
- Toudji A.G., Dosseh K., Karou D.S., Ajrah Y., Anani K., Ameyapoh Y., Simpore J., 2017. Acute and sub-acute toxicity of *Pithecellobium dulce* (Roxb) Benth. Stem bark hydroalcoholic extract on Wistar rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy research*. 5 (5): 310-319.
- Traber M.G et Stevens J.F., 2011. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*. 51 (5): 1000-1013.
- Traber M.G., 2007. Vitamin E regulatory mechanisms. *Annual Review of Nutrition*. 27: 347–362.
- Traber, M.G., et Atkinson, J., 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*. 43 (1): 4-15.
- Traesel G.K., Machado C.D., Tirloni C.A.S., Vergutz-Menetret J., Aparecida dos Reis Lívero F., Lourenc E.L.B., Aparecida Oesterreich S., Manfron Budel J., Gasparotto A.J., 2017. Safety assessment and botanical standardization of an edible species from South America. *J. Med. Food*. 20 (5): 519-525.
- Truong D.H., Nguyen D.H., Ta N.T.A., Bui A.V., Do T.H., Nguyen H.C., 2019. Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*. 2019: 1–9.
- Tungmunnithum D., Thongboonyou A., Pholboon A., Yangsabai A., 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicine*. 5(3). pii: E93
- Ugwah-Oguejiofor C.J., Okoli C.O., Ugwah M.O., Umaru M.L., Ogbulie C.S., Mshelia H.E., Umar M., Njan A.A., 2019. Acute and sub-acute toxicity of aqueous extract of aerial parts of *Caralluma dalzielii* N. E. Brown in mice and rats. *Heliyon*. 5 (1), e01179.
- Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L.; Oomah B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem*. 46(10): 4113–4117.
- Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem*. 46: 4113–4117.
- Vysakh A., Jayesh K., Helen L. R., Jyothis M., Latha, M.S., 2020. Acute oral toxicity and anti-inflammatory evaluation of methanolic extract of *Rotula aquatica* roots in *Wistar* rats. *Journal of ayurveda and integrative medicine*. 11(1): 45-52.
- Wang J.B., Zhu Y., Bai Z. F., Wang F. S., Li X.H., Xiao, X.H., 2018. Guidelines for the diagnosis and management of herb-induced liver injury. *Chinese journal of integrative medicine*. 24 (9): 696-706.

- Wang Y.H., Zeng K.W., 2019. Natural products as a crucial source of anti-inflammatory drugs: recent trends and advancements. *Trad Med Res.* 4 (5): 257- 268
- Wong S. P., Leong L.P., Koh J.H.W., 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry.* 99 (4): 775-783.
- Wu M., Luo Q., Nie R., Yang X., Tang Z., Chen H., 2020. Potential implications of polyphenols on aging considering oxidative stress, inflammation, autophagy, and gut microbiota. *Critical reviews in food science and nutrition.* 1-19.
- Xavier A.A.O et Pérez-Gálvez A., 2016. Carotenoids as a Source of Antioxidants in the Diet. *Carotenoids in nature,* 359-375.
- Xiao J., 2017. Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance?. *Critical reviews in food science and nutrition.* 57 (9): 1874-1905.
- Xiao T.S., 2017. Innate immunity and inflammation. *Cell Mol Immunol.* 14(1), 1-3.
- Xu X., Zhu R., Ying J., Zhao M., Wu X., Cao G., Wang K., 2020. Nephrotoxicity of herbal medicine and its prevention. *Frontiers in pharmacology.* 11, 569551.
- Yaici K., 2020. Etude floristique et Ethnobotanique des plantes médicinales dans le Tell Sétifien (forêt de Tamntout, Beni Aziz), Essai de caractérisation biologique et pharmacopée de l'espèce *Erica arborea* L. Thèse de doctorat, Département Ecologie et Environnement, Université Ferhat Abbas Sétif1, Algérie. 180p.
- Yaici K., Dahamna S., Moualek I., Belhadj H., Houali K., 2019. Evaluation of the Content of Phenolic Compounds. Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Erica arborea* L. (*Ericaceae*) in Traditional Medicine of Setifian Tell in the East Algerian. *Phytothérapie.* 16, 353–364.
- Yaici K., Dahamna S., Toumi M., 2020. Contribution to the floristic and ethnobotanic study of the most utilized medicinal plants in the Sétifian Tell (south of the Tamentout forest) east Algeria. *Mediterranean Botany,* 41(1), 55-65.
- Yang B., Liu H., Yang J., Gupta V.K., Jiang Y., 2018. New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. *Trends in food science & technology.* 79: 116-124.
- Yang B., Xie Y., Guo M., Rosner M. H., Yang H., Ronco, C., 2018. Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 13: 1605-1611.
- Yao J., Peng S., Xu J., Fang J., 2019. Reversing ROS-mediated neurotoxicity by chlorogenic acid involves its direct antioxidant activity and activation of Nrf2-ARE signaling pathway. *BioFactors.* 45(4): 616-626.

- Yousef Yengej F.A., Jansen J., Rookmaaker M.B., Verhaar M.C., Clevers H., 2020. Kidney organoids and tubuloids. *Cells*. 9 (6), 1326.
- Yun N., Kang J.W., Lee S.M., 2012. Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 23 (10): 1249-1255.
- Zakaryan H., Arabyan E., Oo A., Zandi K., 2017. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. *Archives of virology*. 162 (9): 2539-2551.
- Zengin G., Cvetanović A., Gašić U., Stupard A., Bulute G., Senkardese I., Dogane A., Seebaluck-Sandoramf R., Rengasamyg K.R.R., Sinana K.I., Mahomoodallyf M.F., 2019. Chemical composition and bio-functional perspectives of *Erica arborea* L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights. *Ind. Crop. Prod.*142, 111843.
- Zhang J., Onakpoya I.J., Posadzki P., Eddouks M., 2015. The safety of herbal medicine: from prejudice to evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015, 316706: 1- 3.
- Zhang Q.W., Lin L.G., Ye, W.C., 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*. 13 (1): 1-26.
- Zhang Y., Shen Y., Zhu Y., Xu Z., 2015. Assessment of the correlations between reducing power, scavenging DPPH activity and anti-lipid-oxidation capability of phenolic antioxidants. *LWT-Food Science and Technology*. 63 (1): 569-574.
- Zhao Y., Tang H., Zeng X., Ye D., Liu J., 2018. Resveratrol inhibits proliferation, migration and invasion via Akt and ERK1/2 signaling pathways in renal cell carcinoma cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 98: 36-44.
- Zhong J et Shi G., 2019. Editorial: Regulation of Inflammation in Chronic Disease. *Front. Immunol.* 10, 737.

Erica arborea المعروفة محليا بالخلنج ، عبارة عن شجيرة تنتمي إلى عائلة *Ericaceae* . تستخدم أجزائها الهوائية في الطب التقليدي الجزائري لأغراض مضادة للالتهابات، مدرة للبول، مضادة للميكروبات ومضادة للقرحة. إلى حد علمنا، لم تجرى أي دراسات النشاطية المضادة للالتهابات، المضادات للأكسدة، التقدير السمي على الحيوانات ، و التحليل الكيميائي للنبات، للمستخلص المائي (AQ)، الإيثانولي (EtOH) والمستخلص الهيدروإيثانولي (70% EtOH) لهذه النبتة. لهذا الغرض ، تم تصميم هذه الدراسة لتقييم التأثير الفرماكولوجي (الصيدلاني)، تقييم الخصائص المضادات للأكسدة ، تسليط الضوء على سمية هذه المستخلصات، وتعميق المعرفة في التركيب الكيميائي لهذه المستخلصات. من خلال النتائج، أبدى التقييم الفرماكولوجي لمستخلصات *E. arborea* تأثير معتبرا كمضاد للالتهابات، حيث أظهر مستخلص AQ أفضل تأثير مضاد للالتهابات مقارنة للمستخلصات الأخرى. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات النبتة من خلال أربعة اختبارات: اختبار إزاحة جذر DPPH، ABTS، اختبار التبييض β -caroten و اختبار القدرة الإرجاعية . أظهرت النتائج أن المستخلصات المختبرة لها نشاط قوي مضاد للأكسدة و قد يعود ذلك إلى نوعية وكمية المركبات الفينولية والفلافونويد. لم تؤدي السمية الحادة لمستخلصات AQ و EtOH و 70% EtOH إلى حدوث وفيات أو آثار جانبية لدى الجرذان و هذا يشير إلى أن الجرعة المميتة 50 (DL₅₀) تفوق 5000 مغ/كغ. أظهرت السمية الشبه حادة (28 يوما) للمستخلص AQ (500 / 1000 مغ/ كغ) انخفاضا معنويا في مستويات ثلاثي الجليسيريدات لدى الجرذان الذكور والإناث، بينما لم يلاحظ أي تغيرات في المؤشرات البيوكيميائية والدموية الأخرى. كما أظهرت النتائج النسيجية المرضية بعض التغيرات في أنسجة الكبد والكلى لدى الجرذان المعاملة من كلا الجنسين بالجرعتين 500 و 1000 مغ/ كغ من مستخلص AQ . كشف تحليل التركيب الكيميائي للمستخلصات عن وجود كمية عالية من المركبات الفينولية، وأدى تحليل HPLC-DAD-MS إلى تحديد كل من حمض الكلوروجينيك 3-O-*p*-كوماريل كينيك و *p*-كوماريل كينيك و *p*-كوماريك هيكسوسيد وكذلك خمسة جليكوزيدات فلافونول: ميريسيتين بنتوسيد ، كيرسيتين 3-O-*p*-جلوكوزيد ، ميريسيتين 3-O-*p*-رامنوزيد ، كيرسيتين 3-O-*p*-رامنوزيد ، و كيرسيتين 3-O-*p*-رامنوزيد. كخاتمة، يمكن اعتبار المستخلصات غير سامة في حالة الاستخدام الحاد بينما يظهر مستخلص AQ سمية معتدلة في السمية شبه الحادة. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها مخبريا فعالية الاستخدام التقليدي للمستخلص المائي للخلنج في علاج الاضطرابات الالتهابية. يمكن أن تكون نبتة الخلنج مصدرا واعدًا للمركبات الطبيعية التي يمكن دمجها في نظامنا الغذائي والتطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: *Erica arborea* ، تأثير مضاد للالتهابات، النشاط المضاد للأكسدة، السمية الحادة وفوق الحادة ، مركبات الفينولية، الفلافونويد، HPLC-DAD-MS.

Abstract

Erica arborea known as Akhlenj is a shrub, belonging to *Ericaceae* family which its aerial parts are used in Algerian traditional medicine for anti-inflammatory, diuretic and antilucer purposes. To our knowledge, no studies reveal the combination between *in-vivo* anti-inflammatory activity, antioxidant effect, toxicological evaluation, and phytochemical characterization of the aqueous (AQ), ethanolic EtOH and hydro-ethanolic (EtOH 70%) extracts of this plant. For this purpose, this study was designed to evaluate the pharmacological activity cited above, the antioxidant effect, highlight on the toxicity of these extracts, and deepen the knowledge on and phytochemical composition of these extracts. The anti-inflammatory activity of the extracts was assessed using carrageenan induced paw edema and croton oil induced ear edema. This pharmacological investigation revealed that the *E. arborea* extracts possess a strong anti-inflammatory effect where the AQ extract displayed the best effect. The antioxidant activity of the different extracts have been evaluated by association of four tests: DPPH scavenging test, radical cation ABTS⁺, β -carotene bleaching test and reducing power. The results showed that the extracts have a strong antioxidant activity that can be attributed to the quality and quantity of the phenolic and flavonoid compounds. Acute administration of the AQ, EtOH and EtOH 70% extracts did not reveal any mortality or side effects indicating that the lethal dose 50 (LD₅₀) is above 5000 mg/kg. Repeated administration (28 days) of the AQ extract (500 and 1000 mg/kg) showed a significant reduction in triglyceride levels in male and female rats, while no significant changes in other biochemical and hematological parameters were observed. Histo-pathological damages were observed in liver and kidney tissues of animals of both sexes treated with 500 and 1000 mg/kg dose of the AQ extract. HPLC-DAD-MS analysis led to the identification of phenolic acids and derivatives such as chlorogenic acid 5-*O*-*p*-coumaroylquinic acid and *p*-coumaric hexoside acid and five flavonol glycosides: myricetin pentoside, quercetin-3-*O*-glucoside, myricetin-3-*O*-rhamnoside, quercetin-3-*O*-pentoside, and quercetin-3-*O*-rhamnoside. The extracts can be considered non-toxic in acute administration while the AQ extract shows moderate toxicity in sub-acute administration. The results obtained in the anti-inflammatory study corroborate the traditional use of *E. arborea* aqueous extract to treat inflammatory disorders. This plant can be considered as promising source of natural compounds that can be incorporated into our diet and pharmaceutical applications.

Key words: *Erica arborea*, anti-inflammatory activity, antioxidant activity, acute toxicity, sub-acute toxicity, antioxidant activity, phenolic compounds, Flavonoids, HPLC-DAD-MS.

Résumé

Erica arborea connue sous le nom vernaculaire Akhlenj, est un arbuste de la famille des Ericaceae dont les parties aériennes sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne comme agents anti-inflammatoire, diurétique, antimicrobien et antilucéux. A notre connaissance, aucune étude ne combine entre l'effet anti-inflammatoire, antioxydant, toxicologique, et la caractérisation phytochimique des extraits aqueux (AQ), éthanolique (EtOH) et hydro-éthanolique (EtOH 70%) de cette plante. A cet effet, notre thématique de recherche a pour objectifs d'évaluer l'activité pharmacologique citée précédemment, l'effet antioxydant, d'établir le profil toxicologique, et de prendre connaissance des composés phytochimiques de ces extraits. L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in-vivo* des trois extraits a été réalisée en utilisant deux modèles expérimentaux : l'œdème plantaire provoqué par la carragénine et l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton. L'administration orale des trois extraits (250 et 500 mg/kg) réduit significativement l'œdème plantaire et auriculaire. Cependant, l'extrait AQ montre un effet plus important. L'activité antioxydante des différents extraits d'*E. arborea* a été déterminée par l'association de plusieurs tests tels que le test du DPPH, ABTS, test du blanchiment du β -carotène et le pouvoir réducteur. Les résultats ont montré que les extraits possèdent une forte activité antioxydante qui peut être attribuée à la qualité et quantité des composés phénoliques et flavonoïdes. L'évaluation toxicologique des différents extraits a permis de démontrer que leur administration aiguë n'induit ni mortalité ni effets indésirables indiquant que la DL50 est supérieure à 5000 mg/kg. L'administration répétée (28 jours) de l'extrait AQ (500 et 1000 mg/kg) a montré une réduction significative des niveaux de triglycérides chez les rats mâles et femelles alors qu'aucune altération significative des autres paramètres biochimiques et hématologiques n'a été observée. Des dommages histo-pathologiques ont été observés dans les tissus hépatiques et rénaux des rats des deux sexes traités avec la dose 500 et 1000 mg/kg de l'extrait AQ. L'analyse HPLC-DAD-MS a permis d'identifier des acides phénoliques dont l'acide chlorogénique, l'acide p-coumarique hexoside et l'acide 5-O-p-coumaroylquinique et cinq flavonoïdes glycosides: myricétine pentoside, quercétine-3-O-glucoside, myricétine-3-O-rhamnoside, quercétine-3-O-pentoside et quercétine-3-O-rhamnoside. Nos extraits peuvent être considérée comme non toxiques en administration aiguë tandis que l'extrait AQ présente une toxicité modérée en administration subaiguë. Les résultats obtenus lors de l'étude anti-inflammatoire corroborent l'utilisation traditionnelle de l'extrait AQ d'*E. arborea* pour traiter les troubles inflammatoires. Ainsi, cette plante peut être considérée comme une source prometteuse de composés naturels qui peuvent être incorporés dans notre alimentation et les applications pharmaceutiques.

Mots clefs : *Erica arborea*, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante, toxicité aiguë, toxicité subaiguë, polyphénols, flavonoïdes, HPLC-DAD-MS.