

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE MOSTEF ABEN BOULAÏD-BATNA 2

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES ORGANISMES

*Thèse en vue de l'obtention du diplôme de
DOCTORAT troisième cycle*

Filière : Sciences Biologique

Option : Biotechnologie Des Molécules Bioactives Et Pathologie Moléculaire

Thème

**Evaluation des activités biologiques des extraits de
deux plantes : *Eryngium campestre* L. et *Paronychia
capitata* L.**

Présentée par :

BOUZIDI Soumia

Devant le jury

| | | | |
|------------------------------|-------------------|-----|---------------------------|
| Président : | LAROUÏ Salah | Pr | Université Batna 2 |
| Examineur : | YAHIA Abdelouahab | Pr | Centre Universitaire Mila |
| Examineur : | YAHIA Mouloud | Pr | Université Batna 2 |
| Examinatrice : | HAMBABA Leila | Pr | Université Batna 2 |
| Examineur : | BOUFENNARA Souhil | MCA | Université de Khenchela |
| Directrice de thèse : | BENKIKI Naima | MCA | Université Batna 2 |

Année universitaire : 2017-2018

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE MOSTEF ABEN BOULAÏD-BATNA 2
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES ORGANISMES**

*Thèse en vue de l'obtention du diplôme de
DOCTORAT troisième cycle*

Filière : Sciences Biologique

Option : Biotechnologie Des Molécules Bioactives Et Pathologie Moléculaire

Thème

**Evaluation des activités biologiques des extraits de
deux plantes : *Eryngium campestre* L. et *Paronychia
capitata* L.**

Présentée par :

BOUZIDI Soumia

Devant le jury

| | | | |
|------------------------------|-------------------|-----|---------------------------|
| Président : | LAROUI Salah | Pr | Université Batna 2 |
| Examineur : | YAHIA Abdelouhab | Pr | Centre Universitaire Mila |
| Examineur : | YAHIA Mouloud | Pr | Université Batna 2 |
| Examinatrice : | HAMBABA Leila | Pr | Université Batna 2 |
| Examineur : | BOUFENNARA Souhil | MCA | Université de Khenchela |
| Directrice de thèse : | BENKIKI Naima | MCA | Université Batna 2 |

Année universitaire : 2017-2018

*In life, you will realize there is a role for
everyone you meet...*

*Some will test you, some will use you,
some will love you and some will teach you.*

*However, the ones who are truly important
are the ones who will bring out the best in
you.*

*They are rare and amazing people who
remind you "why it's all worth it ..."*

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH, le Tout Puissant de m'avoir accordé santé, courage et foi. Pour l'aboutissement de ce travail de thèse est évidemment lié à des moments durant lesquels diverses contributions m'ont été bénéfiques.

Je remercie, Madame **BENKIKI NAIMA**, Maître de conférences à l'université Mustapha Ben Boulaïd, Batna d'avoir dirigée mes travaux au cours de toutes ces années avec beaucoup de patience. Votre rigueur, vos conseils et vos encouragements m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier sincèrement l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment :

Monsieur le professeur **LAROUÏ SALAH**, l'Université Mustapha Ben Boulaïd, Batna de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse. Messieurs les professeurs **YAHIA MOULOUD** (Université Mustapha Ben Boulaïd, Batna) et **YAHIA ABDELOUHAB** (Centre Universitaire Mila) je suis honorée que vous ayez accepté d'être juges de ma thèse. Vos compétences étaient d'une valeur inestimable pour enrichir ce travail.

Monsieur **BOUFENNARA SOUHIL**, Maître de conférences à l'université Abbès Laghrour, Khenchela et Madame **HAMBABA LEILA** Professeur à l'Université Mustapha Ben Boulaïd, Batna qui m'ont fait l'honneur de juger et siéger dans le jury de ma thèse.

Une grande part de ma reconnaissance s'adresse à Monsieur le Professeur **HABA HAMADA**, l'Université Hadj Lakhder, Batna pour son aide précieuse et son soutien.

Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur **KALLA ADEL** et à mademoiselle **GOUGIL RIMA** pour l'accueil et la disponibilité dont vous avez fait preuve dans votre laboratoire. Je vous remercie pour tous vos efforts, pour votre collaboration dans le suivi de l'activité antimicrobienne des plantes étudiées.

Docteur **ZINA ALLOUAI** et Madame **BOUZID Wafa**, je vous exprime mes plus sincères remerciements pour votre présence, votre aide et

vosre gentillesse au quotidien, tous vos encouragements et votre soutien. Monsieur **HACHEMI MASOUAAD** je tiens à vous remercier chaleureusement pour votre soutien infailible. Je vous exprime ici ma plus profonde reconnaissance pour vos conseils et votre aide concernant l'étude *in vivo* de ce travail.

Mes sincères remerciements, à tous les membres de l'équipe du laboratoire de biotechnologie des molécules bioactives et de la physiopathologie cellulaire à l'université Batna 2. A mes collègues de l'université Mustapha Ben Boulaïd, Batna en particulier, ceux et celles de la faculté des sciences de la nature et de la vie. Ainsi que mes collègues du staff administratif de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Je ne saurais oublier de vous remercier, vous, **OUMAIMA, MERIEM** et **BATOUL**, chère sœurs, pour votre soutien, votre aide, votre présence ainsi que votre affection. Un très grand merci à **mes parents** pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études et la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée. Merci à toute ma famille et mes amis pour leur présence à mes côtés. Aussi, un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Abstract

The main purpose of this work was the valorization of medicinal flora of Algeria, to promote the sustainable use of medicinal plant resources. This thesis specially aimed to evaluate the potential of two plants *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) used as a folk remedy worldwide for the treatment of various disorders and *Paronychia capitata* L. (Caryophyllaceae) in the treatment of oxidative stress, microbes and inflammation related diseases. Moreover, this study was accomplished to evaluate and compare the *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from the roots and aerial parts of *Eryngium campestre* L. and of various extracts of *Paronychia capitata* L. In addition, to assess the acute oral toxicity the *in vivo* antipyretic and the anti-inflammatory activities of the *n*-butanol extract of roots and aerial parts of Algerian *Eryngium campestre* L. and the *n*-butanol extract of *Paronychia capitata* L.

Extracts were obtained of roots and aerial parts of *E. campestre* L. using several solvents: ethyl acetate, *n*-butanol and water the yields were: [**ECRAC** 0.82 %, **ECAAC** 0.71 % (w/w)], [**ECRBU** 4.08%, **ECABU** 3.05% (w/w)] and [**ECRAQ** 1.68, **ECAAQ** 1.55% (w/w)] respectively. Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and found to be 22.30, 27.77, 7.18, 21.52 and 18.21, 21.50 µg GAE/mg of extract in ethyl acetate, *n*-butanol and water (roots and aerial parts) extracts respectively. Flavonoids were evaluated by AlCl₃ method and shown to be 3.58, 6.46, 3.21, 3.26 and 9.46, 7.54 µg QE/mg of extract in ethyl acetate, *n*-butanol and water (roots and aerial parts) extracts respectively. On one hand, organic extracts of *P. capitata* L. were obtained with three solvents: petroleum ether then ethyl acetate and final *n*-butanol. The yields were 0.41% (w/w), 0.78 % (w/w) and 3 % (w/w) respectively. Whereas the aqueous extract had a yield 0.69 % (w/w) of extraction. Moreover, the butanol extract of *P. capitata* L. **PCBU** contains a high amount of total polyphenols (32.23 µg GAE/mg of extract) and the highest flavonoids goes to the aqueous extract (6.08 µg QE/mg of extract)

The antioxidant properties were evaluated using four different methods (CAT/FRAP / β-Carotene linoleic acid/ DPPH) of various extracts from roots, aerial parts of *Eryngium campestre* L. and from *P. capitata* L. According to the results of our investigation, butanol extract of aerial parts **ECABU** had considerably higher antioxidant activity in (CAT, FRAP and DPPH) assays (263.40 µg/mg extract, EC₅₀ = 263.37µg/ml and IC₅₀ value of 16.14µg/ml) while the roots aqueous extract **ECRAQ** showed the highest inhibition of oxidation in the β-Carotene linoleic acid with (89.78%). Furthermore, results indicated that *n*-butanol extract of *P. capitata* L. showed greater antioxidant activity than other *P. capitata* L. extracts in (CAT,DPPH and β-Carotene linoleic acid) assays (259.70 µg/mg extract, IC₅₀ = 08.667µg/ml and 84.92 %). The *in vitro* screening of the antimicrobial activity was determined using eight bacterial strains (GRAM+ and GRAM-) and seven fungi strains, according to the disk diffusion assay; extracts of both plants have shown a modest inhibitory effect against the microorganisms tested.

The acute oral toxicity study of butanol extracts of *E. campestre* L. (roots, aerial parts) and *P. capitata* L. were evaluated on Albino Wistar female rats. Extracts at a single dose of 2000 mg/kg did not produce treatment related signs of toxicity or mortality in any of the animals tested during 14 days observation period; therefore, the LD₅₀ of both plants was estimated above 2000 mg/kg. The obtained results revealed no significantly difference (p< 0.05) in the hematological parameter, all the serum biochemical parameters when compared to the control group. Furthermore, the anti-inflammatory and antipyretic activities of the *n*-butanol extracts of both plants were investigated on Wistar albino rats at the dose levels of 250 and 500 mg/kg body weight, using the egg albumin induced oedema, and brewer's yeast induced pyrexia method respectively. The *n*-butanol extracts of *E. campestre* L. showed a good anti-inflammatory activity comparable to the standard drug diclofenac and the butanol extract of roots **ECRBU** possessed a better antipyretic effects (at both dose 250 mg/kg and 500 mg/kg) compared to the butanol extract of aerial parts. Regarding the second plant *P. capitata* L., the *n*-butanol fraction evoked a non-dose related anti-inflammatory activity and inhibited significantly the increase of paw edema from 30 minutes to 5 hours. The maximum inhibitory effect (96.63%) was recorded at the dose 500 mg/kg of the *n*-butanol extract after 5 hours. Treatment with the *n*-butanol extract of *P. capitata* L. revealed a significant decrease (p< 0.01) in rectal temperature between 2 and 5 hours after administration, in a dose-dependent manner when compared to the control.

Keywords: *Eryngium campestre* L., *Paronychia capitata* L., antioxidant activity, anti-inflammatory activity, Caryophyllaceae, Apiaceae.

Résumé

L'objectif principal de cette thèse était la valorisation de la flore médicinale d'Algérie, afin de promouvoir l'utilisation durable des ressources en plantes médicinales. Cette thèse visait essentiellement à évaluer le potentiel de deux plantes *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) utilisées comme remède populaire dans le monde entier pour le traitement de divers troubles et *Paronychia capitata* L. (Caryophyllaceae) dans le traitement des maladies liées au stress oxydatif, les microbes et l'inflammation. En outre, cette étude a été réalisée pour évaluer et comparer les activités antioxydantes et antimicrobiennes *in vitro* d'extraits obtenus à partir des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* et de divers extraits de *Paronychia capitata* L. par ailleurs, pour évaluer la toxicité orale aiguë *in vivo* antipyrétique et les activités anti-inflammatoires de l'extrait de *n*-butanol des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et l'extrait de *n*-butanol de *Paronychia capitata* L.

Les extraits de racines et de parties aériennes d'*E. campestre* ont été obtenus en utilisant plusieurs solvants : acétate d'éthyle, *n*-butanol et l'eau, les rendements étaient : [ECRAC 0.82%, ECAAC 0.71%] [ECRBU 4.08%, ECABU 3.05%] et [ECRAQ 1.68, ECAAQ 1.55%] respectivement. Les teneurs en composés phénoliques totales ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu : 22.30, 27.77, 7.18, 21.52 et 18.21, 21.50 µg EAG/mg d'extrait sec pour les extraits acétate d'éthyle, le *n*-butanol et l'extrait aqueux (racines et parties aériennes) respectivement. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode AlCl₃ et se sont révélés être 3.58, 6.46, 3.21, 3.26, 9.46 et 7.54 µg EQ/mg d'extrait sec pour les extraits acétate d'éthyle, le *n*-butanol et l'extrait aqueux (racines et parties aériennes) respectivement. D'une part, les extraits organiques de *P. capitata* ont été obtenus avec trois solvants : l'éther de pétrole puis l'acétate d'éthyle, le *n*-butanol. Les rendements ont été de 0.41%, 0.78% et 3% respectivement. Alors que l'extrait aqueux avait un rendement de 0.69%. De plus, l'extrait butanolique de *P. capitata* PCBU a montré une haute teneur en polyphénols totaux (32.23 µg EAG/mg d'extrait) et l'extrait aqueux PCAQ est le plus riche en flavonoïdes (6.08 µg EQ/mg d'extrait).

Les propriétés antioxydantes ont été évaluées en utilisant quatre méthodes différentes (CAT / FRAP / β-carotène / DPPH) de divers extraits de racines, parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et de *P. capitata* L. Selon les résultats de notre étude, l'extrait butanolique de parties aériennes ECABU avait une activité antioxydante considérablement plus élevée dans les essais (CAT, FRAP et DPPH) (263.40 µg/mg d'extrait, EC50 = 263.37 µg/ml et IC50 de 16.14 µg/ml) tandis que l'extrait aqueux de racines ECRAQ a montré l'inhibition la plus élevée de l'oxydation avec (89.78%). De plus, les résultats indiquent que l'extrait *n*-butanol de *P. capitata* a montré une activité antioxydante supérieure aux autres extraits de *P. capitata* dans les essais (CAT, DPPH et β-carotène) (259.70 µg/mg extrait, IC50 = 08.667 µg/ml et 84.92%). Le criblage *in vitro* de l'activité antimicrobienne a été réalisé en utilisant huit souches bactériennes (GRAM + et GRAM-) et sept souches fongiques, selon le test de diffusion des disques ; les extraits de deux plantes ont montré un effet inhibiteur modeste contre les microorganismes testés.

La toxicité orale aiguë des extraits butanoliques d'*E. Campestre* (racines, parties aériennes) et de *P. capitata* a été évaluée chez des rats femelles Albinos Wistar. Les extraits à une dose unique de 2000 mg / kg n'ont produit aucun signe de toxicité ou de mortalité lié au traitement chez aucun des animaux testés pendant la période d'observation de 14 jours ; par conséquent, la DL50 des deux plantes a été estimée au-dessus de 2000 mg/kg. Les résultats obtenus n'ont révélé aucune différence significative ($p > 0.05$) dans tous les paramètres hématologiques, les paramètres biochimiques sériques des rats par rapport au groupe témoin. En outre, les activités anti-inflammatoires et antipyrétiques des deux plantes ont été étudiées chez des rats Wistar albinos à des doses de 250 et 500 mg/kg de poids corporel, en utilisant l'œdème induit par l'albumine d'œuf et la pyrexie induite par la levure de bière respectivement. Les extraits butanoliques d'*E. campestre* ont montré une bonne activité anti-inflammatoire comparable au diclofénac et l'extrait butanolique des racines ECRBU a montré le meilleur effet antipyrétique (à la dose de 250 mg/kg et 500 mg/kg) que l'extrait butanolique des parties aériennes. En ce qui concerne la deuxième plante *P. capitata*, la fraction *n*-butanol a provoqué une activité anti-inflammatoire non liée à la dose et a inhibé significativement l'augmentation du volume d'œdème de la patte de 30 minutes à 5 heures. L'effet inhibiteur maximal (96.63%) a été enregistré à la dose de 500 mg/kg de l'extrait butanolique après 5 heures. Le traitement avec l'extrait butanol de *P. capitata* a révélé une diminution significative ($p < 0.01$) de la température rectale entre 2 et 5 heures après l'administration, d'une manière dose-dépendante par rapport au témoin.

Mots-clés : *Eryngium campestre* L., *Paronychia capitata* L., activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, Caryophyllaceae, Apiaceae.

تهدف أطروحة الدكتوراه هذه إلى تثمين الثروة النباتية الجزائرية من منظور طبي. بالإضافة إلى تطوير الاستعمال الفعال للأعشاب الطبية نتطرق في هذه المذكرة إلى تقييم نوعين من النبات (*Eryngium campestre* L. (Apiaceae) التي تستعمل كعلاج تقليدي حول العالم لمختلف الاضطرابات و (*Paronychia capitata* L. (Caryophyllaceae) علاوة على ذلك أنجزت هذه الدراسة لتقييم ومقارنة النشاط المضاد للأوكسدة ومضادات الميكروبات لمستخلصات الجزء الهوائي والجذور للنباتة *Eryngium campestre* L. ومستخلصات مختلفة من النباتة *Paronychia capitata* في المختبر. بالإضافة إلى تقييم السمية الحادة (عن طريق الفم) للمستخلصات وإمكانية استعمالها كخافض للحرارة ومضاد للالتهاب باستخدام مستخلص البيوتانول من الجزء الهوائي وجذور *Eryngium campestre* وكذا مستخلص البيوتانول للنباتة *Paronychia capitata*.

باستعمال مذبيبات مختلفة: اسيتات الاثيل، البيوتانول والماء. تحصلنا على مستخلصات الجزء الهوائي الجذور. *E. Campestre* وكان المرود كالتالي على الترتيب [ECRBU 4.08, ECAAC 0.71%] [ECRAC 0.82, ECABU 3.05%] و [ECRAQ 1.68, ECAAQ 1.55%]. كما حدد إجمالي محتويات الفينول باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu كانت النتائج كالتالي للمستخلصات الثلاث السابقة على الترتيب: 22.30, 27.77 7.18, 21.52 et 18.21, 21.50 µg de EAG / mg d'extrait sec لكل من الجذور والجزء الهوائي للنباتة كالتالي: في مستخلصات اسيتات الاثيل والبيوتانول والماء على الترتيب (للجذور والجزء الهوائي) 3.58, 6.46, 3.21, 3.26, 9.46 et 7.54 µg EQ/mg d'extrait sec. من جهة اخرى حصلنا على المستخلصات العضوية للنباتة *P. capitata* باستخدام ثلاث مذبيبات: ايثر البترول، اسيتات الاثيل، البيوتانول وكانت العائدات كما يلي: 0.41%, 0.78% و 3% على الترتيب، بينما كانت المستخلصات المائية بنسبة 0.69 % من المستخلص. بالإضافة إلى أن مستخلص البيوتانول *PCBU* يحتوي نسبة عالية من إجمالي البوليفينول (32.23 µg (EAG/mg d'extrait), وكانت النسبة الكبرى للفلافونويدات في المستخلص المائي *PCAQ* بقيمة (6.08 µg EQ/mg d'extrait).

تم تقييم خصائص مضادات الأوكسدة باستخدام أربع طرق مختلفة (CAT / FRAP / β-carotène / DPPH) لمستخلصات متعددة من لكل من *P. capitata* الجزء الهوائي والجذور *E. Campestre*. وفق النتائج المتحصل عليها من التجارب وجدنا ان مستخلص البيوتانول للجزء الهوائي *ECABU* يمتلك وبشكل ملحوظ على نسبة كبيرة من مضادات الاكسدة في تجارب (CAT, FRAP et DPPH) (263.40 µg/mg d'extrait, EC50 = 263.37 µg/ml et IC50 de 16.14 µg/ml) بينما اظهر المستخلص المائي للجذور *ECRAQ* اعلى معدل تثبيط بنسبة للأوكسدة (89.78%). علاوة على ذلك اشارت النتائج الى ان مستخلص البيوتانول *P. capitata* اظهر فعالية أكثر في تجارب (CAT, DPPH et β-carotène) حيث كانت القيم: (259.70 µg / mg IC50 = 08.667 µg/ml et (84.92%). تم تحديد الفحص المختبري للنشاط المضاد للميكروبات باستخدام ثماني سلالات بكتيرية (GRAM + et GRAM-) وسبع سلالات فطريات، وفقا لفحص نشر القرص أظهرت مستخلصات كلتا النباتتين تأثير مثبط طفيف ضد الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها.

دراسة السمية الحادة (عن طريق الفم) لمستخلصات بيوتانول من *E. campestre* (جذور، أجزاء هوائية) و *P. capitata* تمت على الفئران البيضاء Wistar. المستخلصات بجرعة واحدة 2000 mg/kg لم تنتج أي علامات علاج من تسمم أو وفيات في أي من الحيوانات التي تم اختبارها خلال فترة مراقبة 14 يوما. النتائج المتحصل عليها لم تبين أي اختلاف ($p < 0.05$) بالنسبة للمؤشر الدموي وباقي المؤشرات البيو كيميائية للمصل بالمقارنة بالمجموعة الشاهدة كما قدر LD50 لكلتا النباتتين بأكثر من 2000 mg/kg.

أظهر مستخلص البيوتانول فعالية مضادة للالتهاب في كلتا الجرعتين (250 mg/kg et 500 mg/kg) غير متعلقة بالجرعة اما مستخلص البيوتانول للجذور *ECRBU* فإظهر فعالية اكبر، كما اظهر فعالية في تقليل التورم بشكل ملحوظ من 30 دقيقة الى 5 ساعات مقارنة بمستخلص البيوتانول للأجزاء الهوائية كخافض للحرارة تم تسجيل تثبيط اعظمي (96.63%) عند الجرعة 500 mg/kg بعد 5 ساعات. فيما يتعلق بمستخلص البيوتانول *P. capitata* سجل انخفاض ملحوظ في درجة الحرارة بين ساعتين و5 ساعات بعد العملية *P. capitata* العلاج باستخدام مستخلص البيوتانول حيث يوجد تناسب طردي مع التركيز، مقارنة بالشاهد.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط خافض للحرارة، Caryophyllaceae,

Eryngium campestre L., *Paronychia capitata* L., Apiaceae

Sommaire

| | |
|--|----------|
| Remerciements | |
| Abstract | i |
| Résumé | ii |
| ملخص | iii |
| Liste des abréviations et des symboles | iv |
| Sommaire | v |
| Liste des tableaux | ix |
| Liste des figures | xii |
| I. Introduction générale | 1 |
| II. Etude théorique | |
| 1. Les plantes dans la thérapeutique | 5 |
| 2. De la plante au médicament | 6 |
| 3. Présentation des plantes étudiées | 7 |
| 3.1. Présentation de la plante <i>Eryngium campestre</i> L. | 7 |
| 3.1.1. La famille des Apiaceae | 7 |
| 3.1.1.1. Généralités | 7 |
| 3.1.1.2. Description botanique | 8 |
| 3.1.1.3. Données phytochimiques | 8 |
| 3.1.1.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques | 9 |
| 3.1.2. Le genre <i>Eryngium</i> L. | 9 |
| 3.1.2.1. Généralités | 9 |
| 3.1.2.2. Description botanique | 10 |
| 3.1.2.3. Position systématique | 10 |
| 3.1.2.4. Données phytochimiques | 11 |
| 3.1.2.5. Utilisation traditionnelle | 12 |
| 3.1.2.6. Activités biologiques | 13 |
| 3.1.3. L'espèce <i>Eryngium campestre</i> L. | 14 |
| 3.1.3.1. Généralités | 14 |
| 3.1.3.2. Description botanique | 15 |
| 3.1.3.3. Distribution géographique | 16 |
| 3.1.3.4. Classification systématique | 17 |
| ✓ Synonymes | 17 |
| ✓ Noms locaux | 18 |
| 3.1.3.5. Utilisation traditionnelle | 18 |
| 3.1.3.6. Activités biologiques | 20 |
| 3.1.3.7. Etudes phytochimiques antérieures sur l'espèce <i>Eryngium campestre</i> L. | 22 |
| 3.2. Présentation de la plante <i>Paronychia capitata</i> L. | 27 |
| 3.2.1. La famille des Caryophyllaceae | 27 |
| 3.2.1.1. Généralités | 27 |
| 3.2.1.2. Description botanique | 27 |
| 3.2.1.3. Données phytochimiques | 28 |
| 3.2.1.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques | 28 |

| | | |
|-------------|--|----|
| 3.2.2. | Le genre <i>Paronychia</i> | 30 |
| 3.2.2.1. | Généralités | 30 |
| 3.2.2.2. | Description botanique | 30 |
| 3.2.2.3. | Position systématique | 30 |
| 3.2.2.4. | Donnés phytochimiques | 31 |
| 3.2.2.5. | Utilisation traditionnelle et activités biologiques | 31 |
| 3.2.3. | L'espèce <i>Paronychia capitata</i> L. | 31 |
| 3.2.3.1. | Généralités | 31 |
| 3.2.3.2. | Position systématique | 32 |
| | ✓ Synonymes | 33 |
| | ✓ Noms communs | 33 |
| 3.2.3.3. | Donnés phytochimiques | 34 |
| 3.2.3.4. | Utilisations traditionnelles et activités biologiques | 34 |
| III. | Etude pratique Chapitre I : Matériels et Méthodes | |
| 1. | Matériel végétal et extraction | 35 |
| 1.1. | Collecte du matériel végétal | 35 |
| 1.1.1. | <i>Eryngium campestre</i> L. | 35 |
| 1.1.2. | <i>Paronychia capitata</i> L. | 35 |
| 1.2. | Méthode d'extraction | 40 |
| 1.2.1. | Macération par les solvants organiques | 40 |
| 1.2.1.1. | Préparation des extraits d' <i>Eryngium campestre</i> | 40 |
| 1.2.2.2. | Préparation des extraits de <i>Paronychia capitata</i> | 40 |
| 1.2.3. | Décoction aqueuse | 41 |
| 2. | Criblage phytochimique | 44 |
| 2.1. | Dosage des polyphénols totaux | 44 |
| 2.2. | Dosage des flavonoïdes totaux | 44 |
| 3. | Evaluation des activités biologiques <i>in vitro</i> | 45 |
| 3.2. | Le potentiel antioxydant des plantes | 45 |
| 3.2.2. | L'activité antioxydante totale | 45 |
| 3.2.2.1. | Principe | 45 |
| 3.2.2.2. | Mode opératoire | 45 |
| 3.2.3. | Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) | 46 |
| 3.2.3.1. | Principe | 46 |
| 3.2.3.2. | Mode opératoire | 46 |
| 3.2.4. | Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) | 46 |
| 3.2.4.1. | Principe | 46 |
| 3.2.4.2. | Mode opératoire | 47 |
| 3.2.5. | Test de blanchissement du β -carotène | 48 |
| 3.2.5.1. | Principe | 48 |
| 3.2.5.2. | Mode opératoire | 48 |
| 3.3. | Le potentiel antimicrobien des plantes | 49 |
| 3.3.1. | Propriétés des Souches utilisées | 49 |
| 3.3.2. | Préparation des milieux de culture | 49 |
| 3.3.3. | Mise en culture des souches | 50 |

| | | |
|--|--|----|
| 3.3.4. | Préparation des extraits | 50 |
| 3.3.5. | Les témoins | 51 |
| 3.3.6. | L'évaluation de l'activité antimicrobienne (test de sensibilité) | 51 |
| 3.3.7. | L'évaluation de l'activité antifongique | 51 |
| 3.3.8. | Lecture des résultats | 52 |
| 4. | Evaluation des activités biologiques <i>in vivo</i> | 52 |
| 4.3. | Le test de toxicité orale aiguë | 52 |
| 4.2.1. | Les animaux | 52 |
| 4.2.2. | Mode opératoire | 52 |
| 4.2.3. | Observations | 53 |
| 4.2.4. | Analyse des urines | 53 |
| 4.2.5. | Analyses biochimiques et hématologiques | 53 |
| ➤ | Les paramètres hématologiques | 54 |
| ➤ | Les Paramètres biochimiques | 54 |
| 4.3. | Evaluation de l'activité anti-inflammatoire | 54 |
| 4.3.1. | Principe | 54 |
| 4.3.2. | Protocole expérimental | 54 |
| 4.4. | Evaluation de l'activité antipyrétique | 55 |
| 4.4.1. | Principe | 55 |
| 4.4.2. | Protocole expérimental | 55 |
| 5. | Analyses statistiques | 56 |
| Chapitre II : Résultats et Discussion | | |
| 1. | Rendement et aspects des extraits | 57 |
| ❖ | Résultats | 57 |
| 2. | Détermination de teneur en composés phénoliques | 59 |
| 2.1. | Dosage des composés polyphénoliques totaux | 59 |
| ❖ | Résultats | 59 |
| A. | <i>Eryngium campestre</i> L. | 60 |
| B. | <i>Paronychia capitata</i> L. | 61 |
| 2.2. | Dosage des flavonoïdes totaux | 63 |
| ❖ | Résultats | 63 |
| A. | <i>Eryngium campestre</i> L. | 64 |
| B. | <i>Paronychia capitata</i> L. | 64 |
| 3. | Evaluation des activités biologiques <i>in vitro</i> | 66 |
| 3.1. | L'activité antioxydante et antiradicalaire | 66 |
| 3.1.1. | La capacité antioxydante totale | 66 |
| ❖ | Résultats | 66 |
| A. | <i>Eryngium campestre</i> L. | 66 |
| B. | <i>Paronychia capitata</i> L. | 68 |
| 3.1.2. | Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) | 69 |
| ❖ | Résultats | 69 |
| A. | <i>Eryngium campestre</i> L. | 70 |
| B. | <i>Paronychia capitata</i> L. | 71 |
| 3.1.3. | Test de réduction du radical libre DPPH | 72 |

| | |
|--|------------|
| ❖ Résultats | 72 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 72 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 75 |
| 3.1.4. Essai de blanchiment de β -carotène | 77 |
| ❖ Résultats | 77 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 77 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 80 |
| ❖ Discussion | 80 |
| 3.1.5. Etude des corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes | 84 |
| 1. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes des extraits d' <i>Eryngium campestre</i> L. | 84 |
| 1.1. Les extrais des racines <i>ECR</i> | 85 |
| 1.2. Les extrais des parties aériennes <i>ECA</i> | 85 |
| 2. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 85 |
| 3.2. L'activité antibactérienne et antifongique | 88 |
| 3.2.1. Test de l'activité antibactérienne | 88 |
| ❖ Résultats | 88 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 88 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 89 |
| ❖ Discussion | 92 |
| 3.2.2. Test de l'activité antifongique | 94 |
| ❖ Résultats | 94 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 94 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 95 |
| ❖ Discussion | 95 |
| 4. Evaluation des activités biologiques <i>in vivo</i> | 104 |
| 4.1. Test de la toxicité orale aiguë | 104 |
| ❖ Résultats | 105 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 105 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 106 |
| ❖ Discussion | 110 |
| 4.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire | 112 |
| ❖ Résultats | 112 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 112 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 113 |
| ❖ Discussion | 116 |
| 4.3. Evaluation de l'activité antipyrétique | 121 |
| ❖ Résultats | 122 |
| A. <i>Eryngium campestre</i> L. | 122 |
| B. <i>Paronychia capitata</i> L. | 123 |
| ❖ Discussion | 127 |
| IV. Conclusion générale | 130 |
| Références | 132 |

➤ Liste des abréviations et des symboles

| | | | |
|--------------------------------|---|---|--|
| 5HT | 5-hydroxytryptamine | IL-1 | Interleukine-1 |
| AA | acide arachidonique | IL-10 | Interleukine-10 |
| Abs | Absorbance | IL-2 | Interleukine-2 |
| AH | antioxydant | IL-4 | Interleukine-4 |
| AINS | Anti-inflammatoires non stéroïdiens | IL-6 | Interleukine-6 |
| AIS | Anti-inflammatoires stéroïdiens | IL-8 | Interleukine-8 |
| AlCl₃ | Chlorure d'aluminium | iNOS | Inducible nitric oxide synthase |
| AST | Test de sensibilité aux antimicrobiens | LAK | Lymphokine Activated Killer |
| ATCC | American Type Culture Collection | LPS | lipopolysaccharides |
| ATP | Adénosine-Triphosphate | MCP-1 | monocyte chemoattractant protein 1 |
| BHA | Hydroxyanisole Butylé | MH | gélose Mueller-Hinton |
| BHT | Hydroxytoluène Butylé | Na₂SO₄ | Sulfate de sodium |
| CAT | capacité antioxydante totale | NF-KB | Facteur nucléaire-kappa B |
| cellules NK | cellule Natural Killer | NO | monoxyde d'azote |
| COX | Cyclooxygénase | NOS | oxyde nitrique synthase (Nitrique oxyde synthase) |
| COX2 | Cyclooxygénase 2 | OECD | Organisation de la coopération Economique et Développement |
| DL50 | dose létale | OMS | Organisation Mondiale de Santé |
| DPPH | 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl | PAF | Facteur d'activation plaquettaire |
| EC50 | Concentration Efficace 50 (effective concentration 50) | PC | <i>Paronychia capitata</i> |
| ECA | parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> | PCAC | Extrait acétate d'éthel de <i>Paronychia capitata</i> |
| ECAAC | Extrait acétate d'éthel des parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> L. | PCAQ | Extrait aqueux de <i>Paronychia capitata</i> |
| ECAAQ | Extrait aqueux des parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> | PCBU | Extrait butanolique de <i>Paronychia capitata</i> |
| ECABU | Extrait butanolique des parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> | PCEP | Extrait éther de pétrole de <i>Paronychia capitata</i> |
| ECR | racines d' <i>Eryngium campestre</i> | PGE2 | prostaglandines E2 |
| ECRAC | Extrait acétate d'éthel des racines d' <i>Eryngium campestre</i> | (PM_{0.12}O₄₀)³⁻ | phosphomoldate |
| ECRAQ | Extrait aqueux des racines d' <i>Eryngium campestre</i> | PPT | teneurs en polyphénols totaux |
| ECRBU | Extrait butanolique des racines d' <i>Eryngium campestre</i> | (PW₁₂O₄₀)³⁻ | phosphotungstate |
| EOR | Espèces oxygénées réactives | RAM | résistance aux antimicrobiens |
| FAO | formes Activées de l'Oxygène | SD | Standard deviation |
| FeCl₃ | Chlorure de fer | SEM | Standard Error of Mean |
| FRAP | pouvoir réducteur de l'ion ferrique (Ferric ions Reducing Antioxidant Power) | SET | transfert d'électron (Single-Electron Transfer) |
| FVT | teneurs en flavonoïdes totaux | TNF-α | Facteur de nécrose tumorale- α |
| HAT | transfert d'atome d'hydrogène (Hydrogen Atom Transfer) | UV | Ultraviolet |
| HE | Huile Essentielle | | |
| IC50 | concentration d'inhibition 50 (inhibitory concentration 50) | | |
| IFN-γ | Interféron gamma | | |
| IL | Interleukines | | |

➤ Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau 1 : Activités biologiques d' <i>E campestre</i> illustrées par des études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> . | 20 |
| Tableau 2 : Composés isolés de l'espèce <i>Eryngium campestre</i> L. | 22 |
| Tableau 3 : Présentation des souches microbiennes testées | 50 |
| Tableau 4 : Aspects, couleurs et rendements des divers extraits d' <i>E. campestre</i> L. en pourcentage par rapport au poids total de la poudre. | 57 |
| Tableau 5 : Aspects, couleurs et rendements des divers extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. en pourcentage par rapport au poids total de la poudre. | 58 |
| Tableau 6 : Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits d' <i>E. campestre</i> L. | 61 |
| Tableau 7 : Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 61 |
| Tableau 8 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et des différents extraits d' <i>E. campestre</i> L. | 70 |
| Tableau 9 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique de différent extrait de <i>P. capitata</i> L. | 71 |
| Tableau 10 : Activité antiradicalaire (piégeage de DPPH) des extraits d' <i>E. campestre</i> L. | 73 |
| Tableau 11 : Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 75 |
| Tableau 12 : Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène des extraits d' <i>E. campestre</i> L. et du BHT. | 77 |
| Tableau 13 : Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène des extraits d' <i>P. capitata</i> L.et du BHT. | 79 |
| Tableau 14 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits des racines d' <i>E. campestre</i> ECR . | 86 |
| Tableau 15 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits des parties aériennes d' <i>E. campestre</i> ECA . | 86 |
| Tableau 16 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits de <i>P. capitata</i> PC | 88 |

| | |
|---|------------|
| Tableau 17: Diamètres des zones d'inhibition des différentes extraite d' <i>E. campestre</i> relatives aux différentes souches bactériennes selon la méthode de diffusion des disques. | 90 |
| Tableau 18 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de <i>P. capitata</i> relatives aux différentes souches bactériennes selon la méthode de diffusion des disques. | 90 |
| Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions d' <i>E. campestre</i> relatives aux différentes souches fongiques selon la méthode diffusion en puits | 101 |
| Tableau 20 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions relatives aux deux levures selon la méthode de diffusion des disques | 102 |
| Tableau 21 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de <i>P. capitata</i> relatives aux deux levures selon la méthode de diffusion des disques | 102 |
| Tableau 22 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions de <i>P. capitata</i> relatives aux différentes souches fongiques selon la méthode diffusion en puits | 103 |
| Tableau 23 : Activité antimicrobienne des extraits d' <i>E. campestre</i> | 97 |
| Tableau 24 : l'effet d' <i>ECRBU</i> et <i>ECABU</i> sur les paramètres biochimiques relatifs au test de la toxicité aigüe chez les rats. | 108 |
| Tableau 25 : L'effet d' <i>ECRBU</i> et <i>ECABU</i> sur les paramètres hématologiques ; test de toxicité aigüe chez les rats. | 108 |
| Tableau 26 : L'effet d' <i>ECRBU</i> et <i>ECABU</i> sur les paramètres chimiques des urines ; test de toxicité aigüe chez les rats. | 108 |
| Tableau 27 : L'effet <i>PCBU</i> sur les paramètres chimiques des urines ; test de toxicité aigüe chez les rats. | 109 |
| Tableau 28 : l'effet de <i>PCBU</i> sur les paramètres biochimiques relatifs au test de la toxicité aigüe chez les rats. | 109 |
| Tableau 29 : L'effet de <i>PCBU</i> sur les paramètres hématologiques ; test de toxicité aigüe chez les rats. | 109 |
| Tableau 30 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> L. sur l'œdème induit par l'injection de l'albumine d'œuf chez les rats | 115 |

| | |
|--|------------|
| Tableau 32 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties ariennes d' <i>Eryngium campestre</i> L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats. | 126 |
| Tableau 33 : Effet de l'extrait butanolique de <i>Paronychia capitata</i> L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats. | 126 |

➤ Liste des figures

| | |
|---|-----------|
| Figure 1 : L'espèce <i>Eryngium campestre</i> L. | 16 |
| Figure 2 : Distribution géographique de l'espèce <i>Eryngium campestre</i> L. | 17 |
| Figure 3 : L'espèce <i>Paronychia capitata</i> L. | 33 |
| Figure 4 : situation géographique de station de recolte d' <i>Eryngium campestre</i> L. | 37 |
| Figure 5 : situation géographique de station de recolte de <i>Paronychia capitata</i> L. | 38 |
| Figure 6 : Schéma d'extraction d' <i>Eryngium campestre</i> L. (racines <i>ECR</i> , parties aériennes <i>ECA</i>). | 41 |
| Figure 7 : Schéma d'extraction de <i>Paronychia capitata</i> L. (<i>PC</i>). | 42 |
| Figure 8 : Schéma de décoction d' <i>Eryngium campestre</i> L. (<i>EC</i>) et <i>Paronychia capitata</i> L. (<i>PC</i>). | 43 |
| Figure 9 : Réaction antioxydant / radical libre DPPH | 48 |
| Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux, | 60 |
| Figure 11 : Courbe d'étalonnage du quercitine (0-40µg/ml) pour le dosage des flavonoïdes totaux. | 63 |
| Figure 12 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits des racines et des parties aériennes d' <i>Eryngium campestre</i> L. | 65 |
| Figure 13 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 65 |
| Figure 14 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test CAT entre le complexe molybdène Mo (VI) et un antioxydant (AH). | 66 |
| Figure 15 : Courbe d'étalon de l'acide ascorbique pour la mesure de la capacité antioxydante totale. | 67 |
| Figure 16 : La capacité antioxydante totale (CAT), exprimée en µg E AA/mg d'extrait des extraits d' <i>Eryngium campestre</i> L. | 67 |
| Figure 17 : Capacité antioxydante totale, exprimée en µg EAA/mg d'extrait d' <i>Eryngium campestre</i> L. | 68 |
| Figure 18 : Capacité antioxydante totale(CAT), exprimée en (µg E AA/mg d'extrait) des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 68 |
| Figure 19 : Capacité antioxydante totale, exprimée en (µg EAA/mg d'extrait) des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 69 |

| | |
|---|------------|
| Figure 20 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH). | 69 |
| Figure 21 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et les différents extraits d' <i>E. campestre</i> L. | 71 |
| Figure 22 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et les différents extraits des extraits de <i>Paronychia capitata</i> L. | 72 |
| Figure 23 : Profils de l'activité antiradicalaire (test DPPH) des extraits bruts et du standard. | 74 |
| Figure 24 : Profils de l'activité antiradicalaire (test DPPH) des extraits de <i>P. capitata</i> et du standard. | 76 |
| Figure 25 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence des extraits d' <i>E. campestre</i> L. et du BHT. | 79 |
| Figure 26 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence des extraits de <i>P. capitata</i> L. et du standard BHT. | 79 |
| Figure 27 : Les facteurs influencent la capacité antioxydante et l'activité antiradicalaire des flavonoïdes | 84 |
| Figure 28 : Activité anti-inflammatoire des extraits butanoliques des racines (<i>ECRBU</i>) et les parties ariennes (<i>ECABU</i>) d' <i>Eryngium campestre</i> L. sur l'œdème induit chez les rats | 114 |
| Figure 29 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique de <i>P. capitata</i> L. (<i>PCBU</i>) sur l'œdème induit chez les rats par l'injection de la de l'albumine d'œuf | 115 |
| Figure 30 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties ariennes d' <i>Eryngium campestre</i> L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats. | 124 |
| Figure 31 : Effet de l'extrait butanolique de <i>P. capitata</i> L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats. | 125 |



Introduction générale

I. Introduction générale

Les plantes ont représenté depuis longtemps, un atout très important pour l'humanité, elles constituent de merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique : on s'en sert traditionnellement pour se soigner, se détendre, aromatiser la nourriture et conserver les aliments (ou les cadavres). La pharmacopée traditionnelle revêt un aspect sacré qui a longtemps été démystifié et combattu par la médecine moderne.

La recherche de la santé éternelle, de la longévité et des remèdes pour soulager la douleur et l'inconfort a conduit l'homme à explorer son environnement naturel et a conduit à l'utilisation de nombreuses plantes, produits animaux, minéraux, etc...et au développement d'une variété d'agents thérapeutiques [Nair & Chanda, 2005].

L'humanité est actuellement en crise économique et écologique profonde. Il y a de plus en plus de gens qui ont faim et soif. Un grand nombre de personnes ne disposent pas de soins médicaux adéquats et un accès aux médicaments. Les sources conventionnelles de médicaments et de diététique sont plus difficiles d'accès et de nouvelles maladies surviennent nécessitant de nouvelles réponses. Les ressources naturelles offrent encore des occasions importantes d'accéder à une large gamme de médicament et de diététique [Prakash & gupta, 2005].

Récemment, il y a eu un changement dans la tendance universelle de l'artificiel ou chimique au naturel, qui peut être nommé comme un «retour à la nature». Les plantes médicinales sont connues depuis des millénaires et sont très appréciées dans le monde entier comme une source riche d'agents thérapeutiques pour la prévention et la guérison des maladies [Sharma *et al.* 2008].

Partout dans le monde, l'intérêt pour la médecine naturelle ne cesse de s'accroître constamment. En Afrique, la pratique de la médecine traditionnelle nécessite toujours des améliorations considérables, quand on la compare avec la situation en Inde ou en Chine. Ce fait, s'ajoutant à la dette grandissante des nations africaines et à l'augmentation du coût des soins de la santé moderne, rendant le rôle des soins traditionnels de plus en plus important pour les 80% de la population africaine vivant dans les régions rurales. Ces habitants, ainsi que ceux des régions urbaines et même ceux des pays industrialisés, se tournent maintenant vers la nature pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes [Pousset, 1998 ; WHO, 2002].

INTRODUCTION GENERALE

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les Hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries, les virus et les champignons se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme, en général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. Les avantages les plus importants de l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales dans diverses affections, sont leur sécurité en plus d'être économiques, efficacité et leur facilité de disponibilité. Il est donc très important que la médecine moderne et la médecine traditionnelle collaborent :

- ✓ afin de permettre la validation et l'amélioration des remèdes traditionnels.
- ✓ afin de pouvoir apprendre l'une de l'autre et se compléter, en faisant évoluer la recherche.

La médecine traditionnelle a toujours occupé une place importante dans la thérapeutique en Algérie. Cependant, la flore médicinale de l'Algérie reste inconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers (4120) d'espèces végétales, les espèces médicinales comptées ne dépassent pas les 260 espèces [Hammadi *et al.* 2015]. L'étude de la médecine traditionnelle et du traitement par les plantes est particulièrement intéressante en Algérie pour plusieurs raisons ;

- ✓ La richesse de la flore médicinale.
- ✓ La persistance de l'usage des plantes par proportion importante de la population [Baba Aissa, 1990].

INTRODUCTION GENERALE

Ce travail de recherche, réalisé au sein du Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactives et de la Physiopathologie Cellulaire (LBMBPC) « université Batna2 » vise à valoriser notre flore végétale naturelle riche et diversifiée. Cette étude se focalise sur les plantes, source importante de molécules bioactifs utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Donc, le but est d'apporter des éléments pour la validation de l'utilisation traditionnelle, l'évaluation de certaines propriétés biologiques et pharmacologiques des plantes étudiées, d'approfondir les connaissances sur les deux plantes étudiées méconnues, jouissant pourtant d'une répartition géographique très étendue. La sélection des plantes étudiées est basée principalement sur leur utilisation en médecine traditionnelle en Algérie et à travers le monde ; *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) et *Paronychia capitata* L. (Caryophyllaceae).

La démarche suivie dans la réalisation de cette thèse consiste à faire une étude ethnobotanique, suivie par une extraction et une analyse quantitative de différents composés chimiques susceptibles d'avoir une activité biologique. L'évaluation des différentes activités biologiques des extraits des deux plantes étudiées, à savoir l'activité antiradicalaire et antioxydante (piégeage de radicaux libres DPPH, FRAP, blanchissement de β -carotène et le dosage de l'activité antioxydante totale CAT), l'activité antimicrobienne, test de toxicité orale, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antipyrétique aussi bien qu'une étude comparative entre différents extraits des racines et des parties aériennes d'*Eryngium Campestre* L.

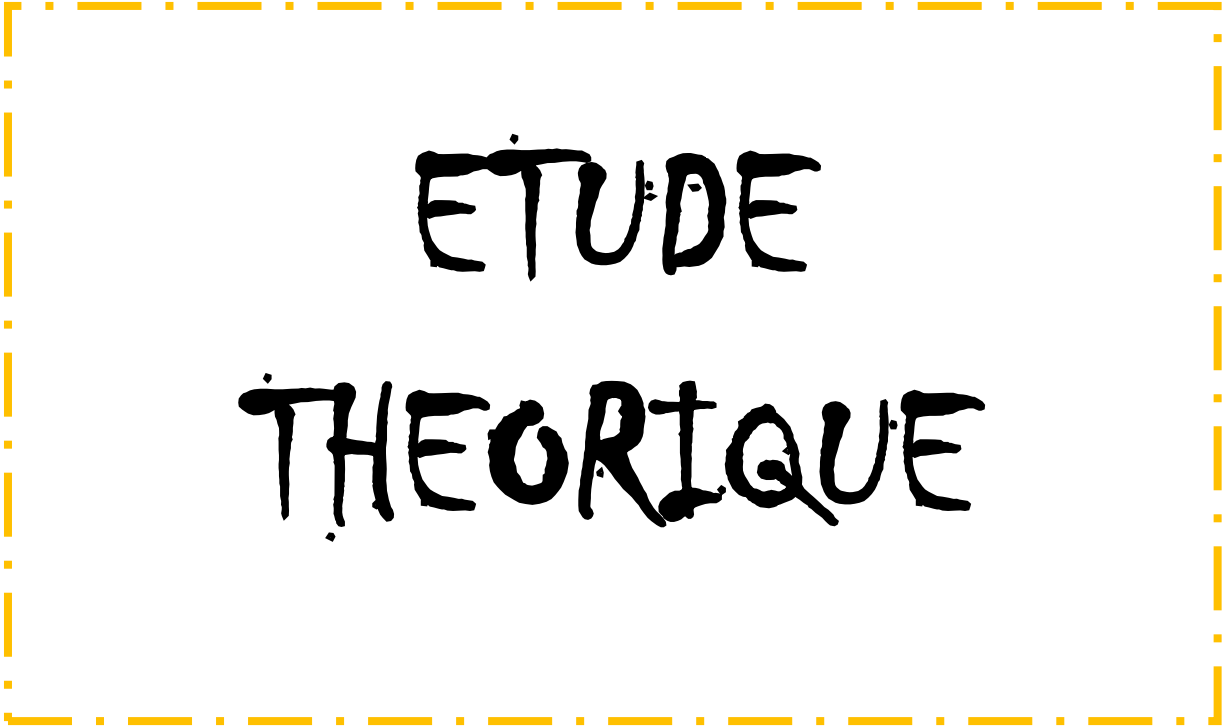
Ce manuscrit est divisé en deux parties principales :

La première partie, qui est la partie bibliographique, sera consacrée à une présentation des plantes étudiées, une étude décrivant la classification botanique, la description morphologique, distribution géographique, métabolites secondaires et activité biologique déjà rapportés des deux familles Apiaceae et Caryophyllaceae ainsi que celles des deux genres *Eryngium* et *Paronychia*, puis nous présenterons l'utilisation traditionnelle, les molécules bioactifs et les propriétés biologiques des espèces étudiées au travers les travaux ethnopharmacologiques phytochimiques réalisés .

La deuxième partie, avec deux chapitres ; le premier décrit la partie expérimentale, avec une présentation des techniques d'extraction, dosages spectrophotométriques, en plus de l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne et anti-inflammatoire et antipyrétique

INTRODUCTION GENERALE

des extraits des deux plantes. Le deuxième chapitre consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion qui mettra l'emphase sur leur signification par rapport aux données de la littérature. Enfin, le manuscrit se terminera par une conclusion générale de l'ensemble des travaux réalisés.



ETUDE
THEORIQUE

II. Etude théorique

1. Les plantes dans la thérapeutique

Les personnes qui utilisent des remèdes traditionnels peuvent ne pas comprendre la raison scientifique derrière leurs médicaments, mais ils savent, par expérience que certaines plantes médicinales peuvent être très efficaces si elles sont utilisées à des doses thérapeutiques [**Gurib-Fakim, 2006**].

La médecine utilisant les plantes, autrement appelée phytothérapie, est la méthode de traitement la plus ancienne au monde. On la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles. L'usage des plantes pour remédier à un mal remonte à l'aube de l'humanité. Il paraît que l'homme a compris très tôt tout ce que le monde végétal pouvait lui apporter, non seulement pour se nourrir et se vêtir mais aussi se soigner ou se concilier avec les forces de la Nature [**Verbois, 2015**].

Il existe de nombreux systèmes de médecine traditionnelle, dont la médecine traditionnelle chinoise, indienne et la médecine arabe. Une variété de ces systèmes traditionnelle indigènes ont également été développés tout au long de l'histoire par des cultures asiatiques, africaines, arabes, amérindiennes, océaniques, centre et sud-américaines et d'autres cultures. Influencé par des facteurs tels que l'histoire, les attitudes personnelles et la philosophie et la pratique peut varier considérablement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre.

La phytothérapie a de nombreuses caractéristiques positives, y compris : la diversité et la flexibilité ; l'accessibilité et l'abordabilité dans de nombreuses régions du monde et une large acceptation parmi de nombreuses populations dans les pays en développement, de plus ces plantes ont une popularité et une importance économique croissantes dans les pays développés grâce à un coût relativement faible soit pour l'investissement (faible niveau d'apport technologique) ou pour l'usage personnel [**WHO, 2002**].

La médecine traditionnelle africaine est la plus ancienne et peut-être la plus diversifiée de tous les systèmes de médecine. L'Afrique est considérée comme le berceau de l'humanité avec une riche diversité biologique et culturelle caractérisée par des différences régionales dans les pratiques de guérison [**Gurib-Fakim, 2006**].

L'Organisation mondiale de la Santé définit la médecine traditionnelle comme incluant des pratiques, des approches, des connaissances et des croyances incorporant des plantes, des animaux et / ou des médicaments à base de minéraux, les thérapies spirituelles, les techniques

manuelles et les exercices appliqués singulièrement ou en combinaison pour maintenir le bien-être, ainsi que pour traiter, diagnostiquer ou prévenir la maladie [WHO, 2002].

L'utilisation de plantes médicinales est aussi ancienne que la civilisation humaine. Environ 200 000 produits naturels d'origine végétale sont connus et beaucoup d'autres sont identifiés à partir de plantes et de microorganismes supérieurs. Certains médicaments à base de plantes ont été utilisés pendant des siècles et il n'existe pas de médecine synthétique alternative pour beaucoup d'entre eux, comme les glycosides cardiaques. Par conséquent, les plantes médicinales et leurs molécules bioactives sont toujours en demande et constituent un point central de recherche [Fallis *et al.* 2013].

Les plantes médicinales contiennent généralement des mélanges de composés chimiques différents qui peuvent agir individuellement, de manière additive ou en synergie pour améliorer la santé. Une seule plante peut, par exemple, contenir des substances amères qui stimulent la digestion, des composés antiinflammatoires qui réduisent les gonflements et la douleur, des composés phénoliques qui peuvent agir comme antioxydants et veinotoniques, tanins antibactériens et antifongiques qui agissent comme des antibiotiques naturels, des substances diurétiques qui améliorent l'élimination des déchets et des toxines et des alcaloïdes qui améliorent l'humeur et donnent un sentiment de bien-être.

2. De la plante au médicament

De nos jours, les plantes sont encore des sources importantes de médicaments, en particulier dans les pays en développement, l'OMS a estimé que jusqu'à 80% de la population en Afrique et la majorité des populations en Asie et en Amérique latine utilisent encore des médicaments traditionnels à base de plantes pour leurs besoins de soins. Dans les pays industrialisés, les médicaments traditionnels ou phytothérapeutiques à base de plantes sont souvent appelés médicaments complémentaires ou alternatifs, leur utilisation a régulièrement augmenté au cours des dix dernières années. Aux seuls États-Unis, le total estimé des ventes de «médicaments complémentaires» pour l'année 2005 était de 4,4 milliards de dollars, soit une augmentation importante par rapport à 2,5 milliards de dollars en 1995 [Fallis *et al.* 2013].

Les produits naturels ont joué un rôle important en tant que nouvelles entités chimiques, environ 28% des nouvelles entités chimiques entre 1981 et 2002 étaient des produits naturels ou dérivés de produits naturels. De plus 20% des nouvelles entités chimiques au cours de cette période ont été considérées comme des mimétiques de produits naturels, ce qui signifie que le composé synthétique provient de l'étude des produits naturels.

En combinant ces catégories, la recherche sur les produits naturels représente environ 48% des nouvelles entités chimiques déclarées de 1981 à 2002. Les produits naturels constituent un point de départ pour de nouveaux composés synthétiques, avec des structures diverses et souvent avec de multiples stéréocentres qui peuvent être difficiles à produire de manière synthétique [Newman *et al.* 2003].

Malgré l'intérêt récent pour la découverte de médicaments par la modélisation moléculaire, la chimie combinatoire et d'autres méthodes de chimie synthétique, les composés dérivés du produits naturels se révèlent toujours être une source précieuse de médicaments pour les humains. L'importance des plantes dans la médecine moderne est indiscutable. Outre l'utilisation directe des métabolites secondaires des plantes sous leur forme originale comme médicament, ces composés peuvent également être utilisés comme précurseurs de médicaments, des gabarits pour la modification synthétique ou bien des sondes pharmacologiques [Fallis *et al.* 2013]. Les métabolites secondaires découverts à partir de plantes médicinales (et leurs dérivés) ont fourni de nombreux médicaments cliniquement utilisés. Même avec tous les défis auxquels sont confrontées les découvertes de médicaments à partir de plantes médicinales, on peut prédire que les produits naturels isolés des plantes médicinales demeurent un élément essentiel de la recherche de nouveaux médicaments [Balunas & Kinghorn, 2005].

La découverte de médicaments à partir de plantes médicinales a été traditionnellement celle la plus longue et la plus compliquée. De meilleures méthodes rapides et efficaces pour la collecte des plantes, le dépistage biologique, l'isolement et développement des composés doivent être appliquées ainsi que la nécessité de stratégies plus innovantes pour améliorer ce processus de collecte [Balunas & Kinghorn, 2005].

3. Présentation des plantes étudiées

3.1. Présentation de la plante *Eryngium campestre* L.

3.1.1. La famille des Apiaceae

3.1.1.1. Généralités

Apiaceae anciennement appelées (Umbelliferae) est l'une des familles les plus connues de plantes à fleurs. C'est une grande famille incluant 300 à 455 genres et environ 3000 à 3750 espèces réparties en trois sous-familles : Hydrocotyloideae, Saniculoideae et Apioideae et 12 tribus. Les plantes appartenant à cette famille (Apiaceae (Umbelliferae)) sont cosmopolites,

mais elles sont plus répandues dans les régions tempérées et les régions tropicales, et particulièrement abondantes dans l'hémisphère nord [Downie *et al.* 2000; Oroojalian *et al.* 2010; Abdulmanea *et al.* 2012; Ebadollahi, 2013; Liu *et al.* 2014].

La famille qui comprend de nombreuses herbes, épices, et plantes médicinales, se classerait parmi les dix familles les plus importantes ; et les Apiacées sont mieux connues comme source d'herbes et d'épices culinaires importantes, y compris l'anis (*Pimpinella anisum*), la coriandre (*Coriandrum sativum*), le cumin (*Cuminum cyminum*) ...etc. La plupart des membres comestibles de la famille ont également une valeur médicinale [Bennett, 2012].

Selon Quezel & Santa (1963), les Ombellifères est une famille importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres. La détermination des espèces appartenant à cette famille est délicate est doit toujours porter sur des échantillons complets.

3.1.1.2. Description botanique

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces. L'appareil souterrain pérennant est très varié : racine pivotante, rhizome ou tubercule. La tige est ordinairement cannelée et creuse par résorption précoce de la moelle au cours de la croissance ; elle est dite fistuleuse. Les feuilles sont alternes, souvent très découpées. La nervation étant pennée et la découpe séquée, on parle de feuille pennatiséquée. La gaine est très développée ; chez certaines espèces, la feuille se réduit même à la gaine. La majorité des Apiacées sont des plantes aromatiques grâce à leurs sécrétions d'huile essentielle. Cette famille portait le nom d'Ombellifères en référence à son inflorescence bien caractéristique. Les fleurs sont en effet groupées en ombelles simples et le plus souvent, en ombelles composées [Quezel & Santa, 1963 ; She Menglan *et al.* 2005].

3.1.1.3. Données phytochimiques

La nature aromatique de ces plantes, à la fois dans leur feuilles et leurs fruits, a conduit à leur usage courant comme aliments et épices, et leur chimie distinctive est également reflétée dans leur toxicité et leur utilisation médicale généralisée [Liu *et al.* 2014].

Les plantes d'Apiaceae sont connues pour accumuler des flavonoïdes principalement sous la forme de flavonols et de flavones. La présence et l'absence de flavonoïdes ont été utilisées pour diviser la famille Apiaceae en deux grands groupes : le premier groupe de neuf tribus où les flavones sont rares ou absents et le deuxième groupe de quatre tribus dans lesquelles les flavones sont communs ou prédominants [Abdul-manea *et al.* 2012].

3.1.1.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques

Les Apiaceae ont été largement étudiées, en raison notamment de leur importance économique, de nombreuses espèces étant utilisées dans l'alimentation ; citons par exemple *Daucus carota*, *Foeniculum vulgare* et *Petroselinum crispum*... Ils sont également largement utilisés en médecine traditionnelle pour certaines propriétés thérapeutiques ; beaucoup de plantes de cette famille possèdent des propriétés oestrogéniques et ont été utilisées dans la médecine folklorique : pour la contraception, comme sédatif, diurétique, carminatif, stimulant de la contraction utérine, antispasmodique et stimulant, ou bien comme traitements de : l'arthrite, la jaunisse, l'asthme, la diarrhée, la mauvaise haleine (halitose) et les problèmes génito-urinaires [El-soud *et al.* 2012].

D'après Oroojalian *et al.* (2010), les plantes de la famille Apiaceae possèdent une gamme de métabolites secondaires avec de nombreuses activités biologiques. Parmi les propriétés les plus principales sont la capacité d'induire l'apoptose, l'activité antibactériennes, l'activité hépatoprotectrice, l'action vaso-relaxantes, l'effet inhibiteur de la cyclooxygénase et l'activité anti-tumorale.

Cette famille est aussi connue comme excellente source d'huiles essentielles (HE) avec des propriétés insecticides et larvicides intéressantes. L'activité insecticide de nombreux HE provenant d'Apiaceae a été évaluée contre un certain nombre d'insectes et a prouvé que cette famille présente des propriétés insecticides intéressantes contre plusieurs insectes nuisibles [Oroojalian *et al.* 2010; Ebadollahi, 2013].

3.1.2. Le genre *Eryngium* L.

3.1.2.1. Généralités

Eryngium L. est le genre le plus important, le plus grand est probablement le genre le plus étendu et taxonomiquement complexe de la famille *Apiaceae*. Il représente environ les trois quarts de la diversité des espèces au sein de *Saniculoideae*, la sous-famille à laquelle il appartient avec environ 250 à 317 espèces réparties dans le monde entier. Ce genre est extrêmement variable morphologiquement, mais il se distingue facilement des autres membres de la famille *Apiaceae* par des inflorescences capitules et une seule bractée par fleur [Calviño Martínez & Downie, 2008; Zhang *et al.* 2008; Campos, 2010; Cavaleiro *et al.* 2011; Wang *et al.* 2013; Cádiz-Gurrea *et al.* 2013; Bouzergoune *et al.* 2016].

Eryngium est distribué dans le monde entier ; dans les régions tempérées de tous les continents principalement en Eurasie, au nord de l'Afrique, en Amérique du sud et en Australie. Cependant, la richesse des espèces est inégalement répartie entre les deux hémisphères est et ouest [Calviño Martínez & Downie, 2008; Cavaleiro *et al.* 2011; Cádiz-Gurrea *et al.* 2013; Ural *et al.* 2014; Kikowska *et al.* 2016].

En Algérie, *Eryngium* L. est présenté par sept espèces ; *E. barrelieri* Boiss, *E. ilicifolium* Lam, *E. triquetrum* Vahl, *E. maritimum* L., *E. campestre* L., *E. dichotomum* Desf, *E. tricuspdatum* L. [Quezel & Santa, 1963].

3.1.2.2. Description botanique

Le genre *Eryngium* (Panicaut) est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace plus au moins épineuse. Inflorescences capituliformes entourées de bractées en général épineuses. Fleurs sessiles, chacune à l'aisselle d'une bractée épineuse. Calice à cinq dents foliacées épineuses. Cinq pétales, petits, connivents. Fruits ovoïdes couvert d'écailles ou de tubercules à côtes bandelettes nulles ou peu apparentes [Quezel & Santa, 1963].

Eryngium se distingue facilement des autres membres des Apiaceae par ses effets de flot de capitaux et de saut de bractées unique. Le genre, cependant, est extrêmement variable morphologiquement. Certaines plantes sont prostrées et seulement de quelques centimètres de hauteur ; d'autres sont dressées jusqu'à 3 m de hauteur. La plupart des espèces sont vivaces herbacées, mais de nombreuses espèces sont annuelles. La morphologie et la venation des feuilles sont également variables. Ces plantes peuvent avoir de longues feuilles pétiolées ou sessiles, avec des lames entières, des marges entières, des côtés ou des épines, avec plusieurs types de nervation soit pennée, palmée et même parallèle. Les bractées florales à la base du capitule peuvent être révélatrices ou indiscernables des autres brides orales. Le fruit est ovoïde ou presque globuleux, plus ou moins comprimé parallèlement à la cloison, sans côtes apparentes et couvert de petites écailles dressées, se recouvrant les unes les autres de bas en haut. On ne distingue pas les canaux sécréteurs résinifères dans les parois du fruit, car ils y forment un réseau visible seulement au microscope. Ce sont des plantes sans poils, épineuses, à fleurs blanches ou bleues [Calviño Martínez & Downie, 2008].

3.1.2.3. Position systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Sous-famille : Saniculoideae

Tribu : *Saniculeae*

Genre : *Eryngium*

3.1.2.4. Données phytochimiques

Les données phytochimiques du genre *Eryngium* L. ont été rapidement développées pendant les dernières années. Le genre a fait l'objet d'une cinquantaine de publications décrivant les compositions chimiques des huiles essentielles et des extraits de plusieurs espèces ainsi que l'activité biologique de ces derniers. Une vingtaine d'espèces de ce genre ont déjà fait l'objet de plusieurs études à travers le monde, et certaines composés ont été identifiées en tant que constituants principaux : des composés phénoliques tels que des flavonoïdes et les coumarines [Claire *et al.* 2005; Darriet *et al.* 2014; Ural *et al.* 2014 ; Bouzergoune *et al.* 2016]. Des dérivés de la coumarine, des esters de terpène aldéhyde, l'acide chlorogénique et l'acide rosmarinique [Claire *et al.* 2005]. Ainsi que des saponines [Claire *et al.* 2005; Ural *et al.* 2014]. Des triterpénoïdes [Ural *et al.* 2014; Bouzergoune *et al.* 2016], des monoterpènes des sesquiterpènes, des stéroïdes et des acétylènes [Darriet *et al.* 2014. Ural *et al.* 2014]. Des polyacétylènes [Bouzergoune *et al.* 2016]. Des saponines triterpénoïdes [Darriet *et al.* 2014].

Erdem *et al.* (2015) a mentionné que la plupart des saponines isolées des espèces d'*Eryngium* possèdent des aglycons de type oleanane hydroxylés tels que bartingtogenol C, A1-barrigenol ou R1-barrigenol, de plus une richesse en saponines triterpènes.

Les huiles essentielles de plus de 20 espèces d'*Eryngium* ont déjà été étudiées et leurs compositions chimiques sont généralement dominées par les sesquiterpènes d'hydrocarbures tels que le germacrène D, bicyclogermacrène, gmurolène et le transcallophyllène ou par des composés oxygénés non terpéniques tels que le triméthylbenzaldéhyde et (E)-2-dodécenal [Darriet *et al.* 2014].

Selon Darriet (2011), les constituants des huiles essentielles des plantes du genre *Eryngium* se répartissent en deux groupes principaux : les composés non terpéniques oxygénés et les composés terpéniques hydrocarbonés.

D'après Cavaleiro et ses collaborateurs : une partie remarquable des enquêtes chimiques et des rapports concernant la composition des extraits volatiles dont certains révèlent des compositions particulières inhabituelles, dominées par les dérivés méthyliques du benzaldéhyde, par ex. *Eryngium corniculatum*, *E. amethystinum* ou *E. foetidum*. Des composés sésquiterpéniques rares, par exemple: muurol-9-en-15-al, cadina-9-en-15-al et cadina-9-en-15-ol d'*Eryngium maritimum* ou eryng-9-en-15-al d'*Eryngium creticum* [Cavaleiro *et al.* 2011].

3.1.2.5. Utilisation traditionnelle

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives. La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [Encyclopédie des plantes médicinales, 2001].

À la suite de leur large distribution géographique, les plantes de ce genre sont bien connues dans la culture ethnobotanique à travers le monde, de nombreuses espèces d'*Eryngium* L. sont connues depuis l'antiquité en tant que remèdes traditionnels utilisés pour soigner une large gamme de maladies. Plusieurs espèces sont utilisées comme des médicaments traditionnels pour la préparation des remèdes ; diurétique, anti-inflammatoires, stimulant de l'appétit et des laxatifs [Cavaleiro *et al.* 2011].

L'infusion des parties aériennes et des racines de ces espèces est utilisée dans les remèdes populaires comme antitussif, diurétique, apéritif, stimulant et aphrodisiaque. Les racines, également, favorisent la menstruation (emménagogue), favorise les flatulences, cytotonique, remède contre l'urétrite, permet d'éliminer les calculs et les obstructions du foie, du rein et de la vésicule biliaire. En Algérie, la racine en poudre a été utilisée dans la soupe pour provoquer la menstruation [Kholkhal *et al.* 2012].

Au Maroc, les racines *Eryngium triquetrum* Vahl (Mrîzla) en décoction sont employées contre les douleurs des intestins et le refroidissement. La racine est donnée aux enfants contre l'amygdalite [Lahsissene *et al.* 2009]. Au Nigéria, les fruits d'*E. foetidum* L. ont été pris comme nourriture [Claire *et al.* 2005].

Les utilisations traditionnelles enregistrées pour ce genre sont nombreuses. Dans l'Amérique tropicale et les Antilles, l'utilisation dominante d'*Eryngium bourgatii* est de traiter les fièvres, les rhumes et les eaux. En tant que nourriture, les feuilles d'*Eryngium foetidum* sont ajoutées aux curries, aux chutneys, aux ragoûts et aux soupes comme agents aromatisants. Il est cultivé dans les jardins urbains de Belém, au Brésil, comme aliment. Cette espèce est utilisée comme substitut ou alternative pour la coriandre (*Coriandrum sativum*) en raison de l'arôme similaire [Cádiz-Gurrea *et al.* 2013].

Eryngium américain, généralement *Eryngium aquaticum* ou *Eryngium yuccifolium* (souvent var. *Synchaetum* ou *Michigan*), sont appelés «maître de serpent à sonnettes» et ethniquement utilisés (habituellement par voie topique) pour traiter les intoxications de serpents (*Micrurus* et *Micruroides*). *Eryngium* à cette fin a été utilisé par au moins six tribus, Choctaw, Chicachas et les Creek, Mesquakie, Cherokee et Miccosukee [Price III, 2016]. Traditionnellement, la racine d'*Eryngium yuccifolium* Michx est utilisée comme remède contre les morsures de serpent et les maux de dents, ainsi que pour les névralgies, les troubles de la vessie et des reins par diverses tribus d'Amérindiens [Wang *et al.* 2013].

En Turquie, les espèces *Eryngium* ; *Eryngium campestre* et *Eryngium maritimum* sont connues dans la médecine traditionnelle turque comme "Bogadikeni" et largement distribuées dans toutes les parties de la Turquie. L'infusion des parties aériennes et racines de ces espèces *Eryngium amethystinum* L. communément appelé «calcatreppola ametistina», est répandu en Italie. En médecine populaire, les racines sont utilisées pour leurs propriétés diurétiques et laxatives. Il est indiqué pour le traitement des affections urinaires, des œdèmes et de l'acidose ; il est également utile pour à la digestion. Dans la médecine traditionnelle de Amiata Mount, les racines sont utilisées comme diaphorétique et utilisées contre la cellulite [Flamini *et al.* 2008].

3.1.2.6. Activités biologiques

Grâce à son utilisation traditionnelle vaste et très répandue dans le monde, les espèces de ce genre ont fait l'objectif de plusieurs investigations biologiques et pharmacologiques dont le but est de vérifier et confirmer l'utilisation traditionnelle de ces plantes.

Les plantes de ce genre ont montré diverses activités telles que : les propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antioxydantes et antimicrobiennes [Khalfallah *et al.* 2014; Ural *et al.* 2014 ; Price III ,2016] ainsi qu'antipaludiques ,antidiabétiques et analgésiques [Khalfallah *et al.* 2014]. Ils ont également des propriétés cytotoxique, antimutagène, antihyperglycémique, et anti-venin (serpent et de scorpion)[Ural *et al.* 2014].

D'après **Claire et al. (2005)**, *E. foetidum* L., *E. creticum* L. et *E. maritimum* L. sont connus pour leurs activités antiinflammatoires, analgésiques, diurétique, antidiabétique et antiscorbutique.

L'effet protecteur contre le venin par l'extrait aqueux d'*Eryngium* prolonge de manière significative le temps de survie des cobayes Inoculés avec le venin du scorpion (*Leiurusquin questriatus*). Cet extrait a également pu inhiber l'activité hémolytique du venin hautement protéolytique *Cerastes Cerastes* (vipère du corbeau du désert). L'extrait aqueux des racines d'*Eryngium creticum* réduit la réponse hyperglycémique causée par *Cerastes ceras* chez le rat [Price III ,2016]. De plus, l'extrait aqueux d'*E. foetidum*, l'extrait d'éthanol d'*E. nudicaule* et l'extrait aqueux d'*E. yuccifolium* présentaient des activités antiplasmodiales. L'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* était actif sur le *Plasmodium gallinaceum* qui infecte les poulets [Ural et al. 2014].

Dans des études biologiques antérieures, *Eryngium kotschy* a montré des activités cytotoxiques, antinociceptive, anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydantes [Erdem et al. 2015]. De plus, diverses propriétés médicinales ont été traditionnellement attribuées à *E. foetidum*, y compris l'activité anti-inflammatoire, l'activité antiplasmodiale, les activités anti-hélimistes, anticonvulsivantes, antidiabétiques et le soulagement de la douleur menstruelle [Rojas-Silva et al. 2014].

3.1.3. L'espèce *Eryngium campestre* L.

3.1.3.1. Généralités

Le nom *Eryngium* désignait les plantes du genre en Latin (aussi *erynge*) et en Grec *éryggion* du Grec *éryggos* « barbe de chèvre » et *campestre* qui signifie champêtre, également nommé Chardon Roland qui vient de chardon roulant car en hiver, les pieds morts bien ramifiés sont facilement emportés en roulant par le vent, ce qui facilite la dispersion des graines [Couplan ,2012].

Eryngium campestre L. est une plante pérenne (vivace), xéromorphique, ramifiée et très épineuse, de couleur vert blanchâtre qui atteint une hauteur de 20 à 80 cm **figure1**. Les racines peuvent atteindre une profondeur allant jusqu'à deux mètres ou plus [Jesske & Brandes, 2012; Jaradat et al. 2015; www.frannsaltthealth.com]. Cette plante se trouve principalement dans les zones arides (sèches) surtout calcaires, herbeuses et en bordure des chemins [Jaradat et al. 2015 ;www.tela-botanica.org]. Convient pour les sols légers

(sableux) et moyens (limoneux), préfère un sol bien drainé et peut pousser dans un sol extrêmement pauvre, tolère les équilibres de pH allant des sols acides aux sols très alcalins et même salins, PH approprié : sols acides, neutres et basiques (alcalins).
[www.franssalthealth.com ; www.pfaf.org].

3.1.3.2. Description botanique

[Quezel & Santa, 1963; Jesske & Brandes, 2012 ; www.tela-botanica.org].

Appareil végétatif : figure 1

- **Racines** : brunes à noires à l'extérieur et blanches à l'intérieur, cylindriques, persistantes, très longues jusqu'à 5m, émettent des rejets.
- **Tige** : dressée, cylindrique, blanchâtre, pleine, striée, très rameuse dans la partie supérieure, ramifiée, robuste.
- **Feuilles** : vertes, alternes, radicales et caulinaires, nerveuses, les basales longuement pétiolées, coriaces, de contours ovales, trilobées, dentées, découpées, fortement épineuses à tige courte, les caulinaires sessiles, embrassant la tige par des oreillettes découpées et épineuses, à limbe palmatipartite à segments étroits. Inflorescences très ramifiées corymbiformes.

Appareil reproducteur : [Jesske & Brandes, 2012 ; www.pfaf.org]

- **Fleur** : blanche, pédonculée, réunie en tête ovoïde, à 5 étamines libres dépassant la corolle.
- **Inflorescence** : ombelles d'ombellules arrondies capitulées larges, involucre formé de 3 à 6 bractées étalées, étroites-linéaires, acuminées, à épines peu nombreuses, calice vert à sépales persistants, ovales-lancéolés, aristés ; corolle blanche à blanc verdâtre.
- **Fruit** : sec, diakène obovoïde long, comprimé parallèlement à la commissure, sans côtes bien apparentes, densément couvert d'écailles imbriquées.
- **Floraison** : juin à septembre. Pollinisé par les abeilles, les mouches, les coléoptères.

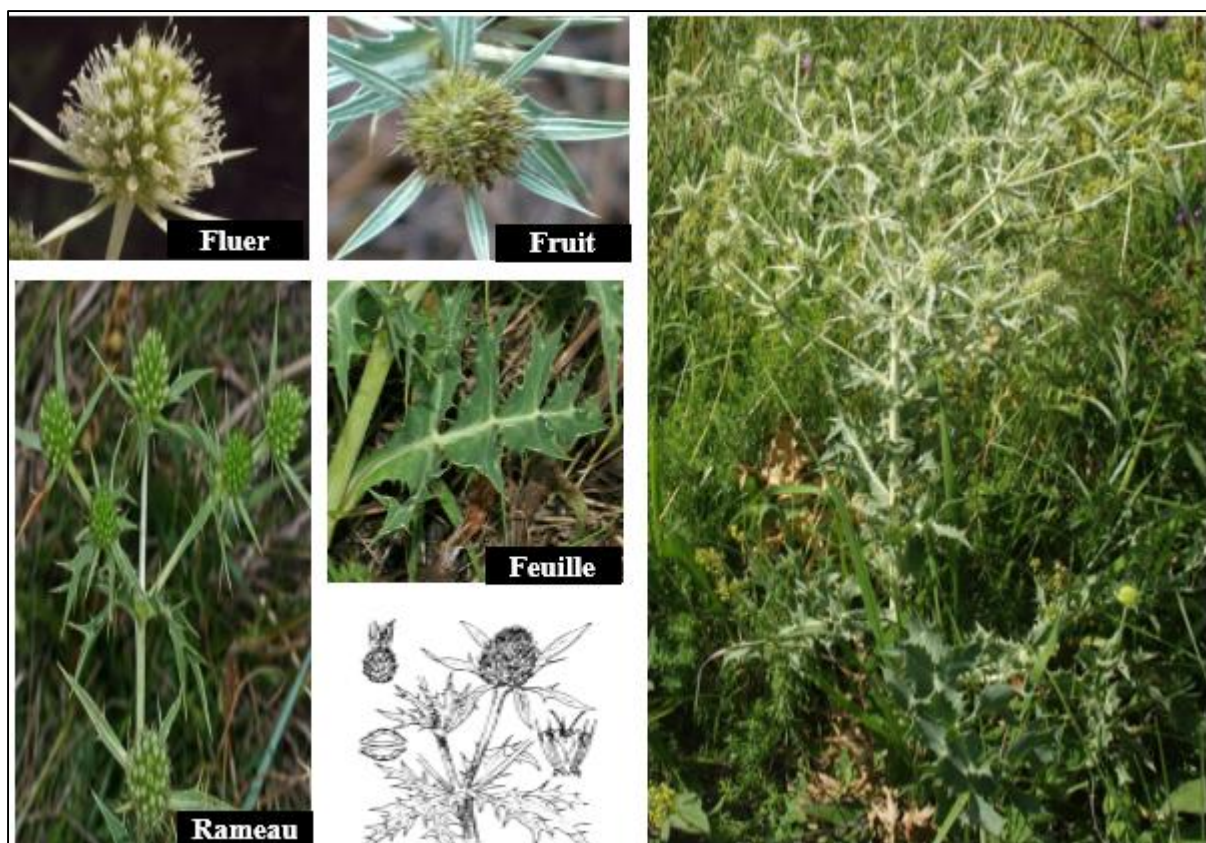


Figure 1 : L'espèce *Eryngium campestre* L. [www.tela-botanica.org].

3.1.3.3. Distribution géographique figure 2

Cette espèce présente un modèle de distribution très particulier. Dans l'ensemble, elle est distribuée en Méditerranée (du Maroc au Portugal et à l'Est jusqu'en l'Iran et Afghanistan) et en Europe centrale avec le sud de l'Angleterre comme frontière nord-ouest [Bylebyl *et al.* 2008]. Dans les régions sud-occidentales d'Asie, d'Afrique du Nord, de Hollande, de Grande-Bretagne, d'Allemagne et d'Amérique du Nord [Jaradat *et al.* 2015]. En Europe méridionale et centrale, jusqu'au Danemark ; Asie occidentale ; Afrique septentrionale. Europe centrale et méridionale, y compris la Grande-Bretagne, du nord d'Allemagne au nord de l'Afrique et de l'Afghanistan [www.tela-botanica.org]. Se répandent en Espagne, en France, en Allemagne, dans la péninsule des Balkans et dans d'autres localités dispersées en Europe, en Afrique et en Asie aussi [Nebija *et al.* 2009].

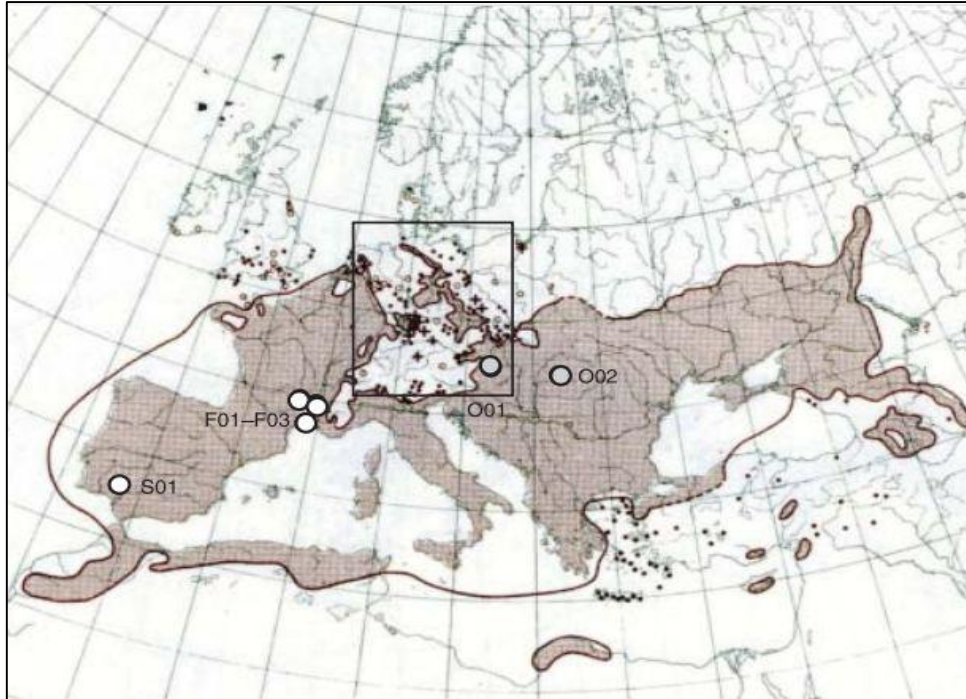


Figure 2 : Distribution géographique de l'espèce *Eryngium campestre* L.[Bylebyl *et al.*2008].

3.1.3.4. Classification systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Eryngium*

Espèce : *Eryngium campestre* L.

✓ Synonymes

Eryngium amethystinum Comolli, *Eryngium billardieri* Marches., *Eryngium campestre* subsp. *contractum* (Micheletti) Degen, *Eryngium campestre* var. *littorale* Rouy & E. G. Camus, *Eryngium campestre* var. *megacephalum* Pouzolx ex Des Moul., *Eryngium latifolium*

ETUDE THEORIQUE

Hoffmanns. & Link, *Eryngium officinale* Garsault, *Eryngium trifidum* L., *Eryngium virens* Link, *Eryngium vulgare* Lam. [www.tela-botanica.org].

✓ Noms locaux

| | |
|----------|-------------------------------------|
| Français | Panicaut Champêtre, Chardon roulant |
| Anglais | Field Eryngo, Common Eryngo |
| Italien | Vetrogon |
| Bulgare | Calcatreppola |
| espagnol | Cardo panical |
| Turc | Boğadikeni |
| Arabe | Chouk el Abiod, Garrana |
| Chaoui | Tabelwadha, Izighe |

3.1.3.5. Utilisation traditionnelle

Le Panicaut Champêtre est une plante médicinale qui était autrefois utilisée pour ces propriétés diurétiques. Elle est également utilisée en phytothérapie pour soulager les rhumatismes, l'arthrite et éliminer et les calculs rénaux, ainsi que la cellule, l'albumine, l'urée, accélère la circulation de la lymphe et permet de régulariser le débit des urines. On utilise essentiellement la racine qui renferme beaucoup de sels pour faire des décoctions, en poudre ou en extrait fluide. Elle peut être utilisée seule ou en association avec d'autres plantes. Une décoction de racines peut être utilisée pour traiter la tension nerveuse, les troubles du foie et des reins, la cystite, l'urétrite et le diurétique. Cette décoction est également utilisée arrêter la production de lait chez les mères allaitantes et elle est fortement expectorante, et utilisée dans le traitement de la toux chronique [www.fransalthhealth.com].

E. campestre a été utilisé dans la médecine populaire comme une perfusion pour traiter la toux, la coqueluche, les infections urinaires, les fonctions perturbées de l'insuffisance rénale, l'augmentation de la sécrétion d'urine, l'élimination des calculs du rein et de la vessie et pour réguler la fonction de la prostate. La racine d'*E. campestre* est connue comme étant antispasmodique, aromatique, diaphorétique, diurétique, expectorante, galactogène et stimulant. Très utile dans le traitement de l'accaparement de la toux de la maladie chronique aux stades avancés de la tuberculose. Il n'y a aucun risque connu de la consommation d'*Eryngium campestre*. de plus, les jeunes pousses et les racines sont comestibles et peuvent

être cuits et utilisés comme substitut d'asperges et comme légumes facilement digérés [Nebija *et al.* 2009].

En **Palestine**, les racines d'*Eryngium campestre* L. sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des calculs de la vessie, de l'hydropisie, des troubles de la peau, des infections des voies urinaires, de l'ictère colique abdominal, du délire, de la coqueluche. En décoction, elles favorisant la décharge menstruelle, tandis que sa perfusion est utilisée comme apéritif, stimulant, antitussif et aphrodisiaque, diurétique [Jaradat *et al.* 2015].

En **Espagne**, la partie aérienne ou les branches sont utilisés comme une cataplasme efficace pour traiter les piqûres (usage externe) [González & Vallejo, 2013]. *Eryngium campestre* L. est une espèce avec plusieurs utilisations thérapeutiques. La plupart des remèdes (utilisation externe / orale des branches et des racines) sont liés au traitement des troubles de la peau et aux maladies des systèmes respiratoire et digestif. De même pour soigner rhumatismes et inflammations, blessures et ulcères, douleurs dentaires et problèmes pancréatiques, hémorroïdes [Belda *et al.* 2013].

E. campestre est connu sous le nom de "Bogadikeni" dans la médecine traditionnelle **turque**. Les infusions des parties aériennes et des racines sont utilisées comme antitussif, diurétique, apéritif, stimulant et aphrodisiaque [Kartal *et al.* 2005]. L'infusion des racines est utilisée comme diurétique, spasmolytique et comme traitement de prostatite dans la médecine traditionnelle en **Bulgarie**

En **Sardaigne**, les racines sont utilisées pour traiter ; les calculs rénaux (diurétique), la rupture de la production du lait, l'emménagogue, les infections urinaires et comme cholagogue (cholécystokinétique) [Dall'Acqua *et al.* 2008]. D'après Benítez *et al.* (2010), ces racines (décoction/ fraîches) sont également utilisées pour la lutte contre les problèmes de circulation, les troubles digestifs, l'hypertension, l'oedema, l'eczéma et les hémorroïdes.

En **Italie**, *Eryngium campestre* L. a une utilisation thérapeutique bien connue ; la décoction des racines est utilisée comme anti-œdème, diurétique, cholagogue, cholérétique, pour favoriser la transpiration [Leporatti & Ivancheva, 2003]. Selon Di Tizio *et al.* (2012) la direction des feuilles est utilisée pour traiter les inflammations oculaires.

En **Algérie**, la décoction des racines a des propriétés diurétiques et apéritives, utilisée comme traitement des infections urinaires, la toux, l'amygdalite et la coqueluche.

3.1.3.6. Activités biologiques

Différentes activités biologiques (*in vitro* et *in vivo*) des extraits obtenus à partir des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. ainsi que les huiles essentielles ont été évalués, **tableau 1** résume certaines de ces études.

Tableau 1 : Activités biologiques d'*E campestre* illustrées par des études *in vitro* et *in vivo*.

| Activités | Parties étudiées | Extraits | Description | Références |
|--|------------------------------|-------------|---|-----------------------------|
| Activité antiradicalaire et antioxydante | Parties aériennes Racines | Ethanolique | - Activité antiradicalaire Piégeage du radical DPPH ; une activité modérée - Activité antiradicalaire Piégeage du radical hydroxyle ; un effet inhibiteur important et significatif supérieur au celui obtenu par la quercétine. -Essai de blanchiment de β -carotène, évaluation de la capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique ; les deux extraits d'éthanol de <i>E. campestre</i> de la partie aérienne et de la racine ont montré une faible activité antioxydante dans le système β -carotène/acide linoléique ainsi qu'une faible capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique spontanée dans l'homogénat de foie de rat. | [Nebija <i>et al.</i> 2009] |
| Activité hémolytique | Racines | Ethanolique | -Une Faible activité hémolytique. | [Küpeli <i>et al.</i> 2006] |

ETUDE THEORIQUE

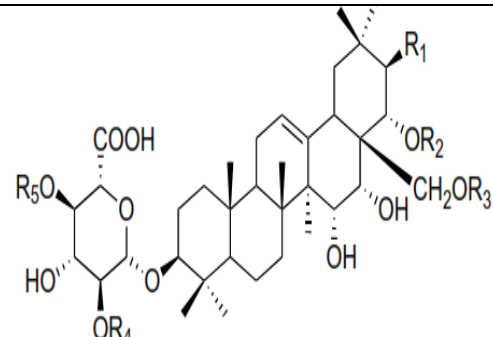
| | | | | |
|--|------------------------------|-----------------------|---|----------------------------|
| | | | | |
| Activité anti-inflammatoire | Parties aériennes Racines | Ethanolique Aqueux | - Œdème de la patte induite par la carraghénine chez les souris, œdème d'oreille induit par TPA chez souris ; les deux extraits éthanolique et aqueux ont montré une activité anti inflammatoire modérée. | [Küpeli et al.2006] |
| Activité antinociceptive | Parties aériennes Racines | Ethanolique Aqueux | -Test de constriction abdominale induite par la p-benzoquinone chez les souris ; les deux extraits éthanolique et aqueux ont montré une activité anti antinociceptive modérée | |
| Activité antibactérienne | La plante entière | Huiles essentielles | -Isolats cliniques Gram positif de <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méthicilline (SARM) ; faible activité antibactérienne. | [Çelik et al. 2011] |
| L'effet inhibiteur des enzymes glutathion-S-transférase Glutathion peroxydase et Catalase | Fleurs Feuilles | Méthanolique | L'extrait de fleurs d' <i>E. campestre</i> ayant une teneur en phénolique plus élevée, étaient également des inhibiteurs plus efficaces. | [Güne et al. 2014] |

TPA : (12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate).

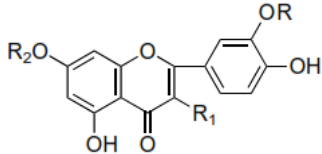
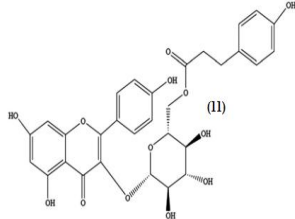
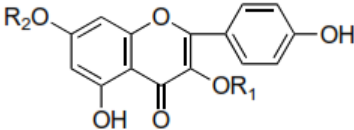
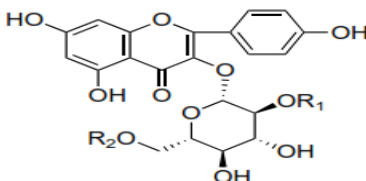
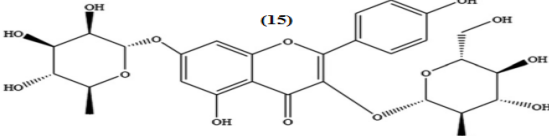
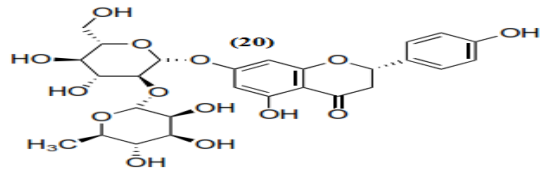
3.1.3.7. Etudes phytochimiques antérieures sur l'espèce *Eryngium campestre* L.

Les investigations chimiques réalisées sur l'espèce *Eryngium campestre* L. ont permis l'isolement et l'identification de divers types des métabolites secondaires, constitués majoritairement des saponosides triterpéniques, des composés phénoliques comme les flavonoïdes, les coumarines et des huiles essentielles. Le **tableau 2** rassemble les différents métabolites secondaires isolés de cette plante.

Tableau 2 : Composés isolés de l'espèce *Eryngium campestre* L.

| Composés | Parties étudiées | Composés identifiés | Structures | Réf |
|-----------|------------------|--|---|---|
| Saponines | Racines | <p>(1) 3-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranosyl (1\rightarrow2)-β-D- glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-β,β-dimethylacryloyl-A₁-barrigenol.</p> <p>(2) 3-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranosyl- (1\rightarrow2)-β-D-glu- curonopyranosyl-22-<i>O</i>-angeloyl-R₁-barrigenol.</p> <p>(3) 3-<i>O</i>-α-L- rhamnopyranosyl- (1\rightarrow2)-β-D-glucuronopyranosyl-21-<i>O</i>- acetyl-22-<i>O</i>-angeloyl-R₁-barrigenol.</p> <p>(4) 3-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranosyl- (1\rightarrow2)-β-D-glucuronopyranosyl-21-<i>O</i>-acetyl-22- <i>O</i>-β,β-dimethylacryloyl-R₁-barrigenol.</p> <p>(5) 3-<i>O</i>-α-L- rhamnopyranosyl- (1\rightarrow2)-β-D-glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-an- geloyl-28-<i>O</i>-acetyl-R₁-barrigenol.</p> <p>(6) 3-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyl- (1\rightarrow2)-[-L-rhamnopyranosyl-(14)]-β-D-glucuro- nopyranosyl-22-<i>O</i>-angeloyl-R₁-barrigenol.</p> <p>(7) 3-<i>O</i>-β-D- glucopyranosyl- (1\rightarrow2)-[-L-rhamnopyranosyl- (1\rightarrow4)]-β-D- glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-β,β-dimethylacryloyl-A₁-barrigenol.</p> |  <p>(1) R₁=H, R₂=dMA, R₃=H, R₄=α-L-rhamnose, R₅=H (2) R₁=OH, R₂=Ang, R₃=H, R₄=α-L-rhamnose, R₅=H (3) R₁=OAc, R₂=Ang, R₃=H, R₄=α-L-rhamnose, R₅=H (4) R₁=OAc, R₂=dMA, R₃=H, R₄=α-L-rhamnose, R₅=H (5) R₁=OH, R₂=Ang, R₃=Ac, R₄=α-L-rhamnose, R₅=H (6) R₁=OH, R₂=Ang, R₃=H, R₄=β-D-glucose, R₅=α-L-rhamnose (7) R₁=H, R₂=dMA, R₃=H, R₄=β-D-glucose, R₅=α-L-rhamnose</p> | [Kartal <i>et al.</i> 2005; Wang <i>et al.</i> 2012 ; Erdem <i>et al.</i> 2015] |

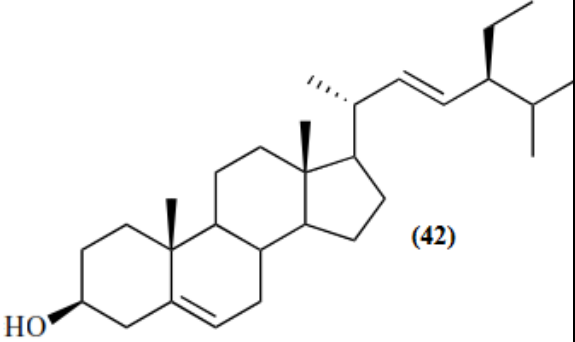
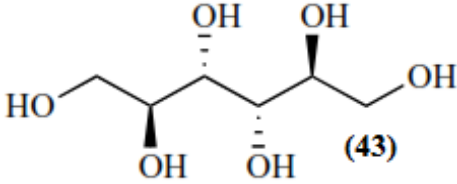
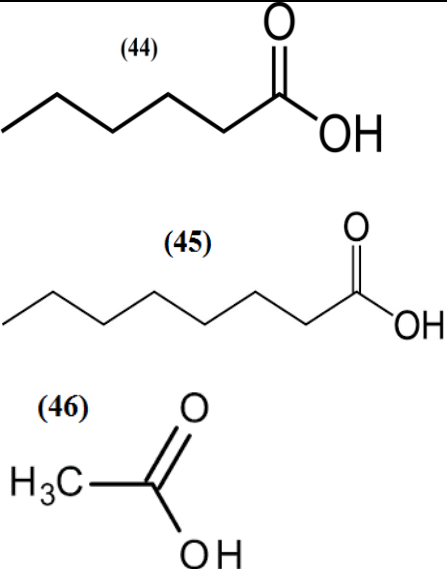
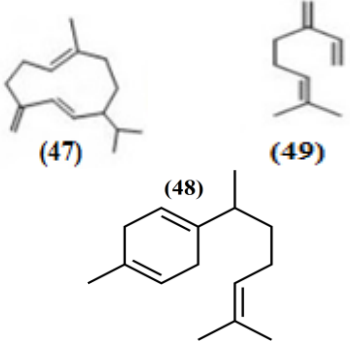
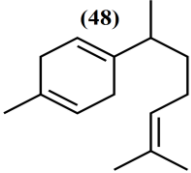
ETUDE THEORIQUE

| | | | | |
|--------------------|--------------------------|--|---|--|
| <p>Flavonoïdes</p> | <p>Parties aériennes</p> | <p>(8) Quercétine. (9) Isoquercitrine. (10) kaempferol. (11) tiliroside. (12) rutine. (13) astragaline. (14) Lutéoline 7-O-β-D-glucopyranoside. (15) kaempferol 3-O-β-D-glucoside-7-O-α-L-rhamnoside. (16) Kaempferol 7-O-α-β-L-rhamnopyranoside. (17) Kaempferol 3,7-di-O-α-β-L-rhamnopyranoside. (18) Kaempferol 3-O-β-D-(2'-p-E-hydroxycinnamoyl)-glucopyranoside. (19) Kaempferol 3-O-β-D-(2'-p-Z-hydroxycinnamoyl)-glucopyranoside. (20) naringénine 7-O-α-β-L-rhamnopyranosyl-(12)-O-β-D-glucopyranoside. (21) Quercétine 3-O-β-glucoside (22) Quercétine 3-O-β-glucuronide-4'-methylether. (23) Isorhamnetine. (24) Isorhamnetine 3-O-α-glucoside. (25) Isorhamnetine 3-O-β-galactoside. (26) Isorhamnetine 3-O-β-rhamnoside. (27) Isorhamnetine 3-O-β-rutinoside.</p> |  <p>(23) R₁=OH, R₂=H, R=CH₃ (8) R₁=O-α-L-rhamnose, R₂=H, R=H (9) R₁=O-β-D-glucose, R₂=H (12) R₁=O-α-L-rhamnose-(1→6))-β-D-glucose, R₂=H, R=H (14) R₁=H, R₂=β-D-glucose, R=H</p>   <p>(10) R₁=OH, R₂=H (13) R₁=β-D-glucose, R₂=H (16) R₁=H, R₂=α-L-rhamnose (17) R₁=α-L-rhamnose, R₂=α-L-rhamnose</p>  <p>(18) R₁=p-E-hydroxycinnamoyl, R₂=H (19) R₁=p-Z-hydroxycinnamoyl, R₂=H</p>   | <p>[Wang et al. 2012 ;Hawas et al.2013 ;Erдем et al. 2015]</p> |
|--------------------|--------------------------|--|---|--|

ETUDE THEORIQUE

| | | | | |
|--------------|-------------------|--|--|---|
| | | <p>(28) Isorhamnetine 3-O-β-glucoside-7-O-rhamnoside.</p> <p>(29) Myricetine 3-O-β-glucoside-3'-methylether.</p> <p>(30) Myricetine 3-O-β-glucoside-4'-methylether.</p> <p>(31) Myricetine 3-O-β-galactoside-4'-methylether.</p> | <p>(21) R₁ = H, R₂ = Glucose (22) R₁ = CH₃, R₂ = Acide glucuronique (24) R₁ = H, R₂ = Glucose (25) R₁ = H, R₂ = Galactose (26) R₁ = H, R₂ = Rahnose (27) R₁ = H, R₂ = Rutinoside (28) R₁ = Rhamnose, R₂ = Glucose</p> <p>(29) R = Glucose (30) R = Galactose</p> | |
| Coumarines | Parties aériennes | <p>(32) aegelinol benzoate.</p> <p>(33) agasyllinex.</p> <p>(34) aegelinol.</p> <p>(35) grandivittine.</p> | <p>R = </p> <p>(32) R = </p> <p>(33) R = H</p> <p>(35)</p> | [Glasby, 2005; Wang <i>et al.</i> 2012] |
| Phénols | Parties aériennes | <p>(36) Acide chlorogénique.</p> <p>(37) Acide caféique.</p> <p>(38) Acide rosmarinique.</p> <p>(39) Acide R-(+)-3'-O-β-D-glucopyranosylrosmarinique.</p> | <p>(36)</p> <p>(37)</p> <p>(38) R = H (39) R = β-D-glucopyranosyl</p> | [Wang <i>et al.</i> 2012; Erdem <i>et al.</i> 2015] |
| Monoterpènes | Parties aériennes | <p>(40) 3-(β-D- glucopyranosyloxymethyl)-2,4,4-trimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one.</p> <p>(41) 3-(β-D- glucopyranosyloxymethyl)-2,4,4-trimethyl-2-cyclohexen-1-one.</p> | <p>(40)</p> <p>(41)</p> | [Erdem <i>et al.</i> 2015] |

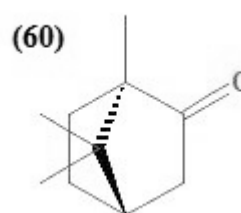
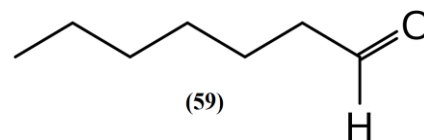
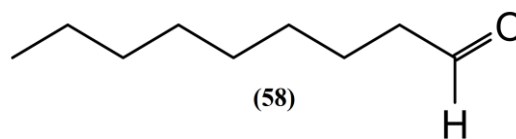
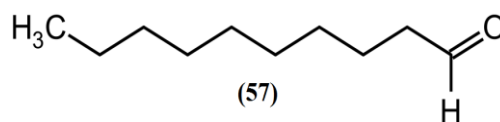
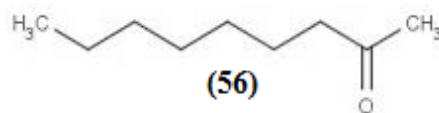
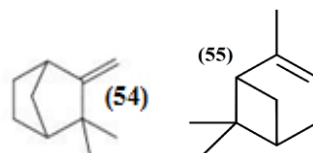
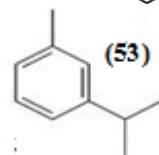
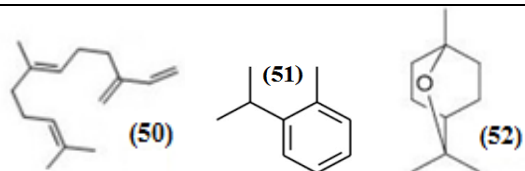
ETUDE THEORIQUE

| | | | | |
|--------------------------|--------------------------------|--|---|--|
| Phytostérols | Parties aériennes | (42) 3-D-glycopyranosyl Stigmastérole. |  <p>(42)</p> | [Sifouane, 2012] |
| | Acétylènes | Parties aériennes | (43) D-mannitol. |  <p>(43)</p> |
| Acides gras | Parties aériennes | (44) Acide Hexanoïque. (45) Acide Octanoïque. (46) Acide Acétique. |  <p>(44)</p> <p>(45)</p> <p>(46)</p> | [Çelik <i>et al.</i> 2011] |
| | Les huiles essentielles | inflorescence | (47) Germacrene D. (48) β-Curcumene. (49) Myrcene. (50) (E)-β-Farnesene. |  <p>(47)</p> <p>(48)</p> <p>(49)</p> |
| Tiges et feuilles | Parties aériennes | (47) Germacrene D. (49) Myrcene. |  <p>(47)</p> <p>(49)</p> | |

ETUDE THEORIQUE

Parties aériennes

- (51) *m*-Cymene.
- (52) Eucalyptol.
- (53) *O*-Cymene.
- (54) (*p*)-Camphene.
- (55) (1*R*)- α -Pinene .
- (56) Nonan-2-one.
- (57) Decanal.
- (58) Nonanal.
- (59) Heptanal.
- (60) (-)- α - Camphre.



3.2. Présentation de la plante *Paronychia capitata* L.

3.2.1. La famille des Caryophyllaceae

3.2.1.1. Généralités

Caryophyllaceae (de *caryon* = nœud, et *phyllon* = feuille ; la famille rose) est une famille grande et importante, avec 70 à 86 genres et environ 2000-2630 espèces d'herbes cosmopolites, annuelles ou vivaces [Bittrich, 1993; Wiart, 2006 ; Chandra & Rawat, 2015]. La famille des Caryophyllaceae est subdivisée en trois sous-familles (Paronychioideae, Alsinoideae et Caryophylloideae) [Greenberg & Donoghue, 2011]. Elles présentent une large répartition, surtout au niveau des régions tempérées et chaudes de l'hémisphère nord. De nombreuses espèces occupent des habitats secs et exposés, mais certaines peuvent se retrouver dans des habitats humides tels que les forêts tempérées et les prairies. Au moins sept genres ont des distributions circumpolaires et plusieurs espèces poussent aux plus hautes altitudes occupées par les plantes [Greenberg & Donoghue, 2011]. La famille Caryophyllaceae est connue pour les plantes ornementales comme *Dianthus chinensis*, *Dianthus barbatus*, *Gypsophila* spp., *Agrostemma* spp., *Saponaria* spp., *Lychnis* spp. et *Silene* spp. qui forment une fraction majeure du commerce mondial de fleurs [Chandra & Rawat, 2015].

Les plantes de cette famille sont présentes dans le monde entier, de l'Arctique à l'Antarctique en particulier dans l'hémisphère nord, à l'exception de la plupart des zones tropicales humides. La famille des Caryophyllacées est principalement centrée dans la région méditerranéenne, Irano-turanie et présente une grande diversité dans l'habitat et la forme de croissance. Il existe des genres endémiques en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie [Bittrich, 1993; Smissen *et al.* 2002; Greenberg & Donoghue, 2011; Chandra & Rawat, 2015].

3.2.1.2. Description botanique

Ce sont des plantes herbacées en général ; avec des tiges parfois à anneaux concentriques de xylème et de phloème. Elles ont des poils variables et des feuilles opposées, simples, entières, souvent étroites, à nervation pennée, les nervures secondaires souvent fugaces et la nervation paraissant ± parallèle, les paires de feuilles reliées par une crête transversale aux nœuds, les nœuds généralement renflés ; stipules absentes ou présentes. Leurs inflorescences sont déterminées, parfois réduites à une fleur solitaire, terminales. Les fleurs sont généralement hermaphrodites, actinomorphes, parfois munies d'un androgynophore. Les tépales 4-5 sont

libres à soudés, imbriqués, souvent sépaloïdes. Les pétales sont véritablement absents, mais un verticille externe de 4-5 étamines très souvent pétaloïdes et dénommées ici « pétales », ceux-ci sont fréquemment bilobés et parfois différenciés en une longue et mince partie basale (l'onglet) et une partie apicale élargie (le limbe) séparées par un appendice articulé. Quant aux étamines 4-10 ; à filets libres ou légèrement soudés, parfois adnés aux « pétales » ; grains de pollen tricolpés ou polyporés et les carpelles 2-5, soudés ; à ovaire supère et placentation centrale libre ou rarement basale ; stigmate réduit à linéaire. Les ovules sont généralement nombreux, rarement en petit nombre ou solitaires, plus ou moins campylotropes. Le nectar est produit par un disque ou à la base des étamines. Le fruit est généralement en forme d'une capsule loculicide, s'ouvrant par des valves ou par des dents apicales, mais parfois une utricule ; l'embryon est généralement courbé tandis que l'albumen absent est remplacé par un péricarpe [Bittrich, 1993; Wiart, 2006; Chandra & Rawat, 2015].

3.2.1.3. Données phytochimiques

La caractéristique inhabituelle de cette famille est l'apparence d'une mousse stable et supportable lorsque des parties des plantes sont mises dans l'eau. Ce comportement est dû à l'apparition d'une quantité élevée des saponines dans la famille. Le rendement des saponines peut atteindre jusqu'à 20% (poids sec) dans certaines espèces, mais peut varier selon le stade de croissance, la partie de la plante et la saison. Les saponines se trouvent dans divers organes des plantes, en particulier dans les racines ou les graines [Chandra & Rawat, 2015].

Les saponines triterpénoïdes « saponines triterpénoïdes pentacycliques » sont les métabolites secondaires les plus abondants chez la plupart des plantes de cette famille. On note aussi la présence d'un certain nombre d'autres composés tels que les dérivés d'acides gras, les benzénoïdes, les phénylpropanoïdes, les isoprénoïdes et les composés contenant de l'azote sont également isolés des plantes appartenant à la famille [Wiart, 2006].

La majorité des saponines de la famille des Caryophyllacées possèdent du gypsogénine, de l'acide gypsogène ou de l'acide quillayique en tant que composants aglyconiques, avec une légère préférence pour gypsogénine [Bottger & Melzig, 2011].

3.2.1.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques

C'est en horticulture que la famille Caryophyllaceae acquiert une importance économique remarquable ; on peut citer de nombreuses espèces cultivées dans les jardins, mais l'importance médicale de ses membres est peu connue. Parmi les 2630 espèces de la famille, seule une petite

fraction (50 à 90 espèces) connaît des propriétés médicinales. La majorité des plantes sont utilisées pour certaines affections courantes comme le rhume, la toux, la fièvre, la diarrhée, l'infection de la gorge et une infection gastro-intestinale[Chandra & Rawat, 2015].

Les espèces les plus connues pour leur utilisation médicinale sont : *Saponaria officinalis* L, *Quillaja saponaria* Molina et *Gypsophila Paniculata*. Une décoction de la racine séchée de *Saponaria officinalis* L. a été utilisée dans la médecine occidentale pour favoriser l'expectoration et l'urination. *Quillaja saponaria* Molina. est occasionnellement utilisé pour fabriquer du shampoing et aussi connu pour inhiber l'absorption intestinale du cholestérol[Wiart, 2006].

Près de 30 espèces de Caryophyllaceae sont utilisées à des fins médicales en Asie-Pacifique. La plupart d'entre elles ont un usage interne pour contrôler les hémorragies, purifier le sang, traiter la fièvre, favoriser la sécrétion du lait, l'avortement, l'accouchement, l'urination et la menstruation, et un usage externe pour guérir plaies malignes et empêcher la putréfaction[Wiart, 2006].

Effectivement, en raison de la présence de différentes classes métabolites secondaires, les plantes de la famille des Caryophyllaceae présentent de nombreuses activités biochimiques. On cite les activités qui suivent :

- **Propriétés anticancéreuses** ; Kaempferide triglycoside isolé de *Dianthus caryophyllus* L. présente des propriétés inhibitrices pour la lignée cellulaire du cancer du côlon humain.
- **Propriétés antibactériennes** ; Les extraits de plantes entières de *Dianthus caryophyllus* montrent une activité antibactérienne contre *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* et *Staphylococcus epidermidis*.
- **Propriétés antifongiques** ; la plante *Arenaria rubra* a été testée pour une activité antifongique contre les principaux agents pathogènes fongiques post-récolte des agrumes tels que *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotrichum candidum*.
- **Propriétés antioxydantes** ; Les plantes de la famille Caryophyllacées contiennent de bonnes quantités de composés phénoliques et des flavonoïdes ; ainsi, montrant une bonne activité de piégeage des radicaux DPPH ; l'extrait végétal d'*Arenaria rubra* présente une bonne activité et agit comme antioxydant[Chandra & Rawat, 2015].

3.2.2. Le genre *Paronychia*

3.2.2.1. Généralités

Paronychia est le genre le plus important de la tribu Paronychieae ainsi que dans la sous famille Paronychioideae avec environ 110 espèces [Core, 1941; Bittrich, 1993]. Il s'agit des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois suffrutescentes, presque cosmopolites [Bittrich, 1993]. Les espèces du genre *Paronychia* sont réparties dans les régions tempérées et chaudes des deux hémisphères, mais elles sont rares dans les régions tropicales. Mis à part l'Amérique du Nord, les principaux centres de distribution se situent dans la région méditerranéenne, des îles Canaries, de l'Espagne et du Maroc à l'Égypte, l'Éthiopie, l'Asie Mineure, la Palestine, l'Arabie et la Perse et en Amérique du Sud, principalement en Argentine et au Chili [Core, 1941].

3.2.2.2. Description botanique

Le genre *Paronychia* se compose d'herbes, souvent boisées à la base, ou de petits arbustes, souvent touffus. Stipules et bractées remarquables, souvent argentées. Les feuilles sont petites, simples, entières et opposées, souvent assez étroites, et munies de petites stipules connées, persistantes, parfois argentées, actinomorphes et bisexuées ou plus rarement unisexuées, sont groupées en cymes plus ou moins condensées, axillaires ou terminales et quelques fois, elles peuvent être solitaires. Les pétales se composent de cinq sépales soudés à la base de 5 étamines libres et d'un ovaire supère et uniloculaire. Les fruits sont des utricules ovoïdes à globuleuses. Les graines sont lenticulaires à globulaires [Core, 1941; Bittrich, 1993].

3.2.2.3. Position systématique

Règne : Plantae

Embranchement : Phanérogames

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Ordre : Caryophyllanae

Famille : Caryophyllaceae

Sous-famille : Paronychioideae

Tribu : *Paronychieae*

Genre : *Paronychia*

3.2.2.4. Donnés phytochimiques

Plusieurs espèces de ce genre ont été l'objectif d'études phytochimiques, par exemple *P. argentea*, *P. chionaea* et *P. kapela*. Les travaux phytochimiques réalisés sur ce genre ont conduit à l'isolement des saponines (type acide gypsogénique et polygalacique), des flavonoïdes, des tocophérols, des polyphénols et des acides gras [Masullo & Piacente, 2014; Sait *et al.* 2015; Curini *et al.* 2004].

3.2.2.5. Utilisation traditionnelle et activités biologiques

Paronychia argentea est la plante médicinale la plus populaire et la plus importante dans le genre *Paronychia* avec une large gamme au niveau mondial. L'infusion/ décoction de la partie aérienne *P. argentea* a été largement utilisée dans la médecine traditionnelle jordanienne pour le traitement du diabète ou comme diurétique, dans le traitement des infections et les calculs rénaux et les douleurs cardiaques [Barakat & Afifi, 2003; Afifi *et al.* 2005; Aburjai *et al.* 2007; Kasabri *et al.* 2011].

De plus, les parties aériennes de *P. argentea* sont traditionnellement utilisées pour le traitement de la vessie, de la prostate et des maladies abdominales, des ulcères d'estomac et comme analgésique gastrique au Portugal [Ferreira *et al.* 2006; Gonçalves *et al.* 2013; Masullo & Piacente, 2014], la plante est aussi utilisée pour traiter l'inflammation du système urinaire, les calculs rénaux, les troubles de la prostate et l'estomac dans la médecine folklorique palestinienne [Afifi *et al.* 2005; Masullo & Piacente, 2014].

Elle est également utilisée pour traiter les problèmes de circulation sanguine, l'hypertension, les varices, les intoxication alimentaire, l'eczéma et comme dermatite, digestive, fébrifuge, dépuratif du sang en Espagne [Santayana *et al.* 2005; Benítez *et al.* 2010; González *et al.* 2010]. Dans la médecine populaire algérienne cette plante est utilisée comme antiseptique pour les systèmes respiratoire et urinaire, comme diurétique et pour le traitement des maladies rénales et du diabète, et en particulier comme Anti-lithiasique [Bouanani *et al.* 2010; Zohra & Fawzia, 2014; Boudjelal *et al.* 2013]. *P. argentea* a montré une activité hypoglycémiant due à l'inhibition de l'alpha-amylase et une activité antimicrobienne et antioxydante [Bouanani *et al.* 2010; Sait *et al.* 2015].

3.2.3. L'espèce *Paronychia capitata* L.

3.2.3.1. Généralités

Le nom de *Paronychia*, dérivé d'un mot grec désignant un panaris (une infection aiguë des ongles des doigts) *Para* "à côté de" et *onyx, onychos* "ongle", la plante supposée le guérir. Ce nom est apparu pour la première fois dans la littérature moderne en 1763, alors qu'il était utilisé par Adanson, *Capitata* du latin *Capitatus (capitado)* ; sous la forme d'une tête [Core, 1941; Quattrocchi, 2012].

Cette plante est vivace, très polymorphe, de 5-15 cm de taille **figure 3**. Cette espèce est fortement répandue dans la région méditerranéenne. En Algérie, elle est distribuée dans la région Méditerranéenne et les Aurès à niveau des secteurs montagneux.

Habitat : les sols rocheux sur les pentes ensoleillées du haut à 300 m d'altitude.

Floraison : d'Avril à Juin

Tiges : Cette espèce forme toujours des tiges courtes, étalées en touffe ascendantes ou dressées, toutes couvertes de poils étalés denses formant comme un velours.

Les fleurs : blanchâtres, sont regroupées en têtes terminales d'un calice long de 3,5-5 mm, les sépales inégaux bien plus longs que la capsule, incurvés à l'apex. Les bractées ovales-aiguës.

Les feuilles : toujours aiguës, le plus souvent très petites, linéaires-aciculaires, parfois lancéolées ou oblongues, toutes couvertes de poils étalés. Les stipules sont étroitement lancéolées acuminées, ciliolées ; les bractées, toujours aiguës au sommet, sont très variables.

Cette petite plante aux grandes bractées argentées est surtout et toujours caractérisée par sa fleur à sépales très étroits, linéaires, inégaux, les deux internes plus courts, tous couverts, en dedans comme en dehors, de poils étalés [Quezel & Santa 1963 ; Bittrich, 1993].

3.2.3.2. Position systématique

Ordre : Caryophyllanae

Famille : Caryophyllaceae

Sous-famille : Paronychioideae

Tribu : Paronychieae

Genre : *Paronychia*

Espèce : *Paronychia capitata* Lamarck.

ETUDE THEORIQUE



Figure 3 : L'espèce *Paronychia capitata* L. [www.tela-botanica.org].

➤ **Synonymes** [www.inpn.mnhn.fr ; www.herbariovirtualbanyeres.blogspot.com]
Illecebrum capitatum L., *Illecebrum herniarioides* Pourr. , *Illecebrum niveum* (DC.) Pers.,
Ferriera nivea (DC.) Bubani, *Paronychia arragonica* Vest ex Schult., *Paronychia davaei*
 Sennen., *Paronychia nivea* DC. In. Lam., *Paronychia nivea* var. *capitata* (L.) Kunze nom.
 illeg. *Paronychia serpyllifolia* var. *herniarioides* (Pourr.) DC.

➤ **Noms communs**

| | |
|----------|--------------------------------|
| Français | Paronyque en tête |
| Anglais | Algerian tea |
| Italien | Tè algerino |
| Espagnol | Nevadilla, Hierba de la sangre |
| Arabe | Atai el Djebel |

3.2.3.3. Donnés phytochimiques

L'étude phytochimique de l'extrait n-butanolique des parties aériennes de l'espèce réalisée par **Allaoua (2017)** montre la présence des molécules suivantes :

- Un glycolipide

1-*O*-myristoyl-3-*O*-(6-sulfo- α -D-quinovopyranosyl)-glycérol.

- Deux phytostérols

Daucostérol (3-*O*- β -D-glucoopyranosyl Sitostérol).

3-*O*- β -D-glucoopyranosyl Stigmastérol.

- Un disaccharide

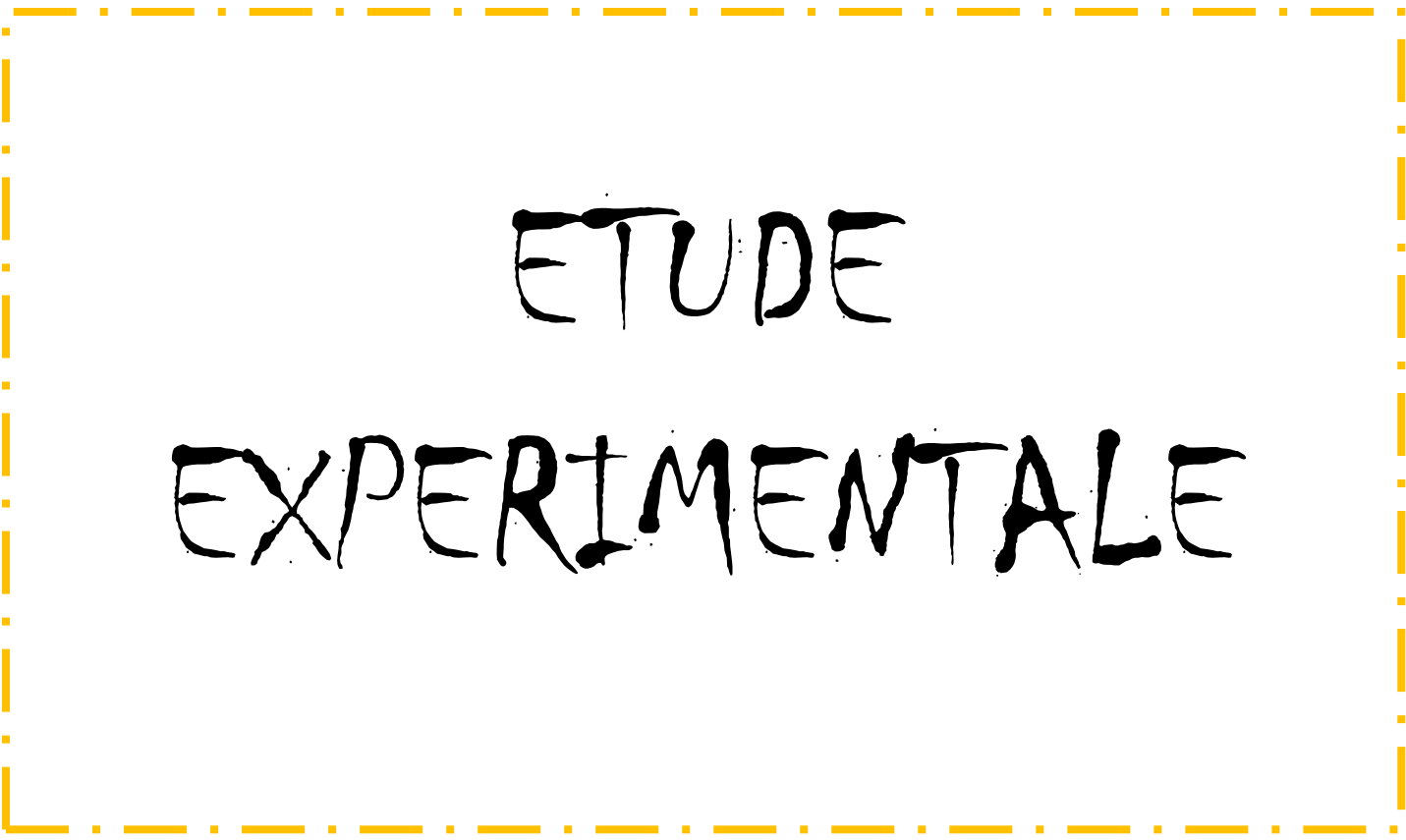
Saccharose

3.2.3.4. Utilisations traditionnelles et activités biologéque

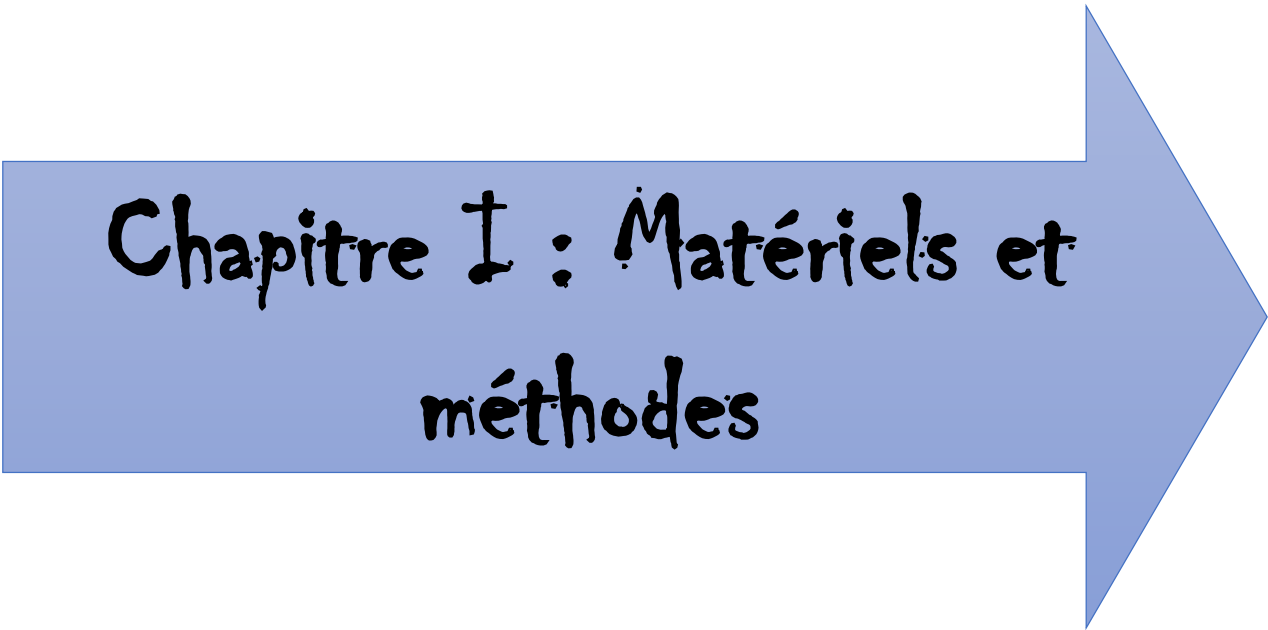
Dans la médecine populaire, cette espèce n'est généralement pas distinguée de *Paronychia argentea*, et dans certaines régions d'Europe, les deux plantes ont le même nom commun.

En Espagne, une infusion de la partie aérienne a été utilisée pour purifier le sang, pour réguler la circulation et traiter l'arthrite, et pour traiter le dermatite, d'autant plus qu'elle est utilisée en tant qu'expectorant [**González-Tejero et al. 1995; Alcazar et al. 1990**], anti-infectieux, lithotriptique, diurétique, digestif et antihypertenseur [**Novaretti & Lemordantb, 1990; Rivera-Nunez & Obon-De-Castro, 1993**]. Dans le désert d'**Egypte**, *P. capitata* est utilisé comme nourriture mais aussi à des fins médicamenteuses [**Bidak et al. 2015**]. Les fleurs sont utilisées comme substitut du thé [**Lim, 2012**].

Des rares travaux scientifiques ont été réalisés sur la plante, et cela dans un contexte écologique, botanique et statistique. La population algérienne la confond avec l'espèce *P. argentea* et l'utilise de manière identique.



ETUDE
EXPERIMENTALE



Chapitre I : Matériels et méthodes

III. Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

1. Matériel végétal et extraction

Plusieurs études sont en cours en Algérie, visant à déterminer la quantité des plantes médicinales et aromatiques afin de les développer et de les exploiter pour renforcer la production pharmaceutique et cosmétique.

Dans cette optique et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne et particulièrement celle des Aurès, nous nous sommes intéressés à :

- ✓ Une plante médicinale à usage thérapeutique : de la famille des Apiaceae *Eryngium campestre* L.
- ✓ Une plante à usage alimentaire : de la famille des Caryophyllaceae *Paronychia capitata* L.

1.1. Collecte du matériel végétal

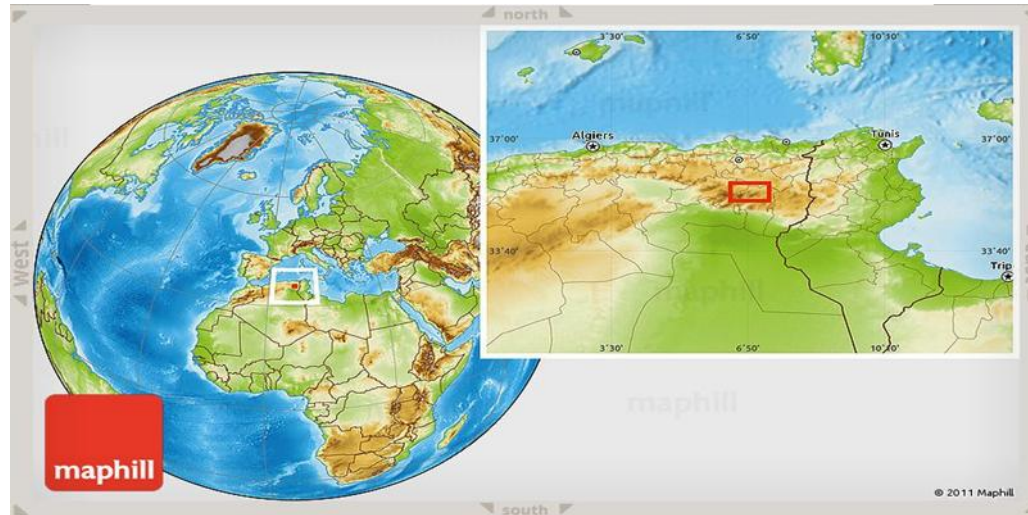
1.1.1. *Eryngium campestre* L.

Les racines et les parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. (**photo1**) ont été récoltées au mois de juin 2014 dans la région d'Al-hamma, wilaya de Khenchela (Machta Ouled Abd er Rahmane) **figure 4**. Après leur identification par le Professeur Bachir Oudjehih, Laboratoire de phytopharmacologie, université Batna1. Les échantillons (racines, parties aériennes) ont été nettoyés, découpés puis séchés à température ambiante dans un endroit aéré et à l'ombre.

1.1.2. *Paronychia capitata* L.

La récolte de *Paronychia capitata* L. (**photo1**) a été effectuée dans la région de Merouana. Wilaya de Batna (Mechta Hidoussa) **figure 5** au cours du mois de Mai 2015. Les différents organes de la plante (parties aériennes et racines) ont été broyés après nettoyage et séchage pour donner 800g de poudre fine.

MATERIELS ET METHODES

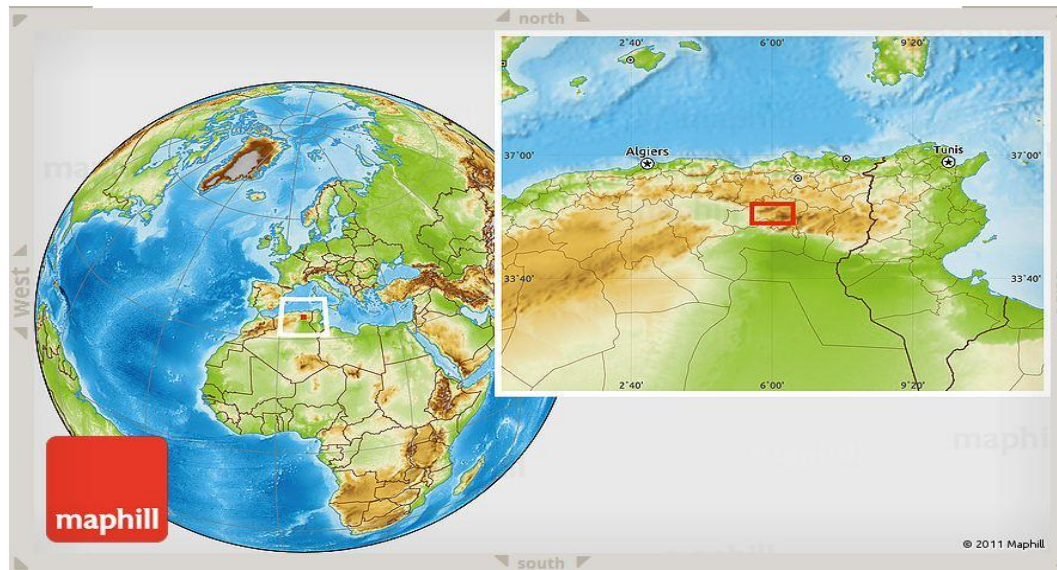


Zone de récolte



Figure 4 : Zone géographique de récolte d' *Eryngium campastre* L.[www.maphill.com].

MATERIELS ET METHODES



Zone de récolte



Figure 5 : zone géographique de récolte de *Paronychia capitata* L. [www.maphill.com].

MATERIELS ET METHODES

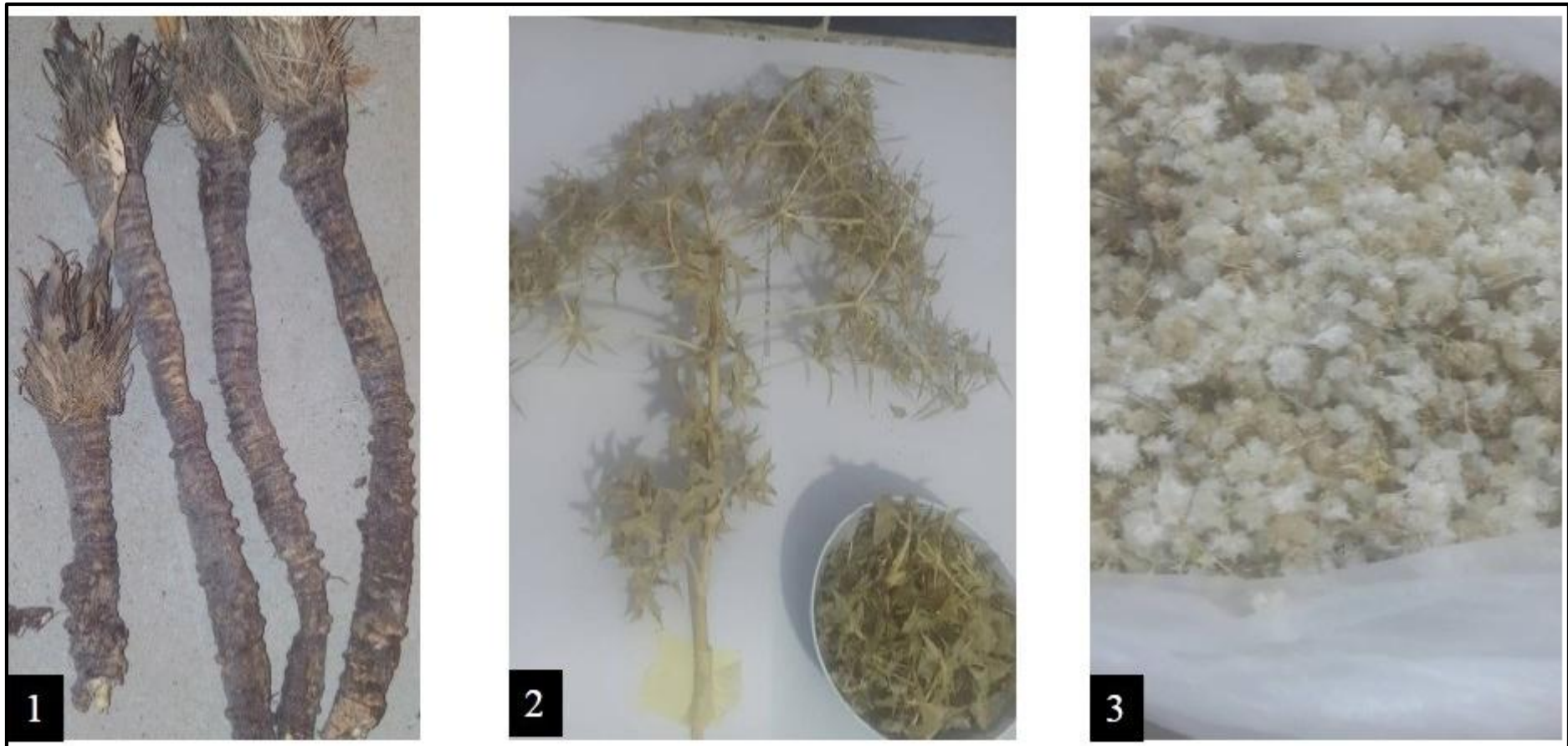


Photo1 : photos des deux plantes après recolte ; **1** : les racines d'*E. campestre*. **2** : la partie aérienne d'*E. campestre*. **3** : *Paronychia capitata*.

1.2. Méthode d'extraction

L'extraction, en tant que terme utilisé pharmaceutiquement, implique la séparation des molécules actives du point de vue médical ou biologique des tissus végétaux, et les séparer des composants inactifs ou inertes en utilisant des solvants sélectifs dans des procédures d'extraction standard.

1.2.1. Macération par les solvants organiques

Dans ce processus, la matière végétale broyée est placée dans un récipient de solvant fermé et laissée à tremper à température ambiante pendant une période d'au moins trois jours avec agitation fréquentes. Ensuite les liquides sont filtrés et séparés du marc [Handa, 2008].

1.2.1.1. Préparation des extraits d'*Eryngium campestre*

Différents extraits ont été préparés à partir des racines et des parties aériennes de la plante. Suivant le protocole d'extraction décrit par Merghem *et al.* (1995) avec quelques modifications.

900 g de matériel végétal broyé (*ECR* racines et *ECA* parties aériennes) est soumis à une extraction solide/ liquide par macération dans le mélange méthanol / eau (70/30 ; v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps.

Les macéras sont réunis puis filtrés sur un papier filtre, les filtrats sont évaporés à sec au moyen d'un évaporateur rotatif (Rotavapor, Buchi) à 40° C. Ensuite 100 ml d'eau distillée chaude est ajoutée et le mélange est gardé à 4°C pendant une nuit. Puis, le mélange a été soumis à des extractions liquide/liquide successivement avec deux solvants à polarité croissante, acétate d'éthyle (3 × 400 ml) et *n*-butanol (3 ×400 ml).

Les phases organiques récupérées sont séchées avec du Na₂SO₄ anhydre puis filtrées et concentrées à sec. La **figure 6** résume les différentes étapes de cette extraction.

1.2.2.2. Préparation des extraits de *Paronychia capitata*

La poudre fine de la plante entière (800 g) a été laissée macérer à température ambiante dans un mélange éthanol-eau (70/30 ; v/v). Cette macération est répétée deux fois avec renouvellement du solvant pendant trois jours. Après filtration et concentration, 500 ml d'un extrait aqueux a été récupéré après ajout de l'eau distillée chaude. Ce dernier a subi des extractions successives de type liquide-liquide par les solvants suivants : éther de pétrole,

acétate d'éthyle et enfin le *n*-butanol. Les trois phases organiques récupérées ont été évaporées à sec. **Figure 8** résume les différentes étapes de cette extraction.

1.2.3. Décoction aqueuse

Dans ce procédé, la poudre de la plante brute est bouillie dans un volume défini d'eau pendant un temps défini ; elle est ensuite refroidie et filtrée. Ce procédé convient à l'extraction des composants solubles dans l'eau et stables à la chaleur [Handa, 2008].

100 g de poudre fine d'*Eryngium campestre* (*ECR*, *ECA*) ou de *Paronychia capitata* (*PC*) ont été portés à ébullition avec 1l d'eau distillée pendant 5 minutes. Les extraits sont filtrés, évaporés puis lyophilisés, après refroidissement pendant toute la nuit. **Figure 8**

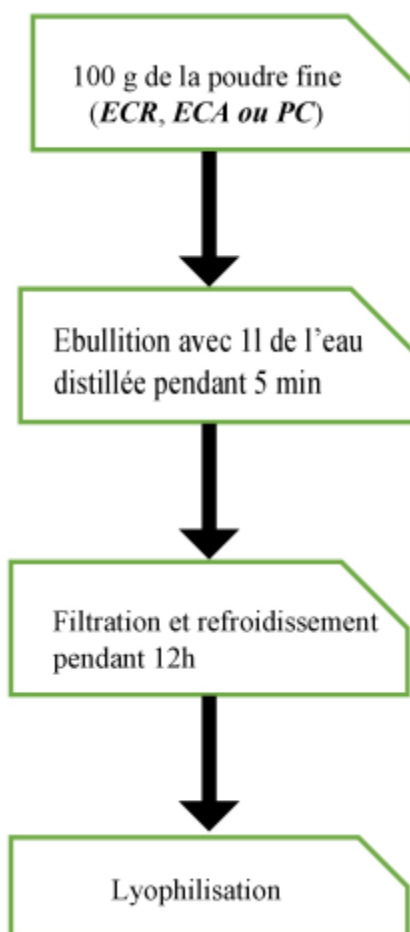


Figure 8 : Schéma de la décoction d'*Eryngium campestre* L. (*EC*) et *Paronychia capitata* L. (*PC*).

MATERIELS ET METHODES

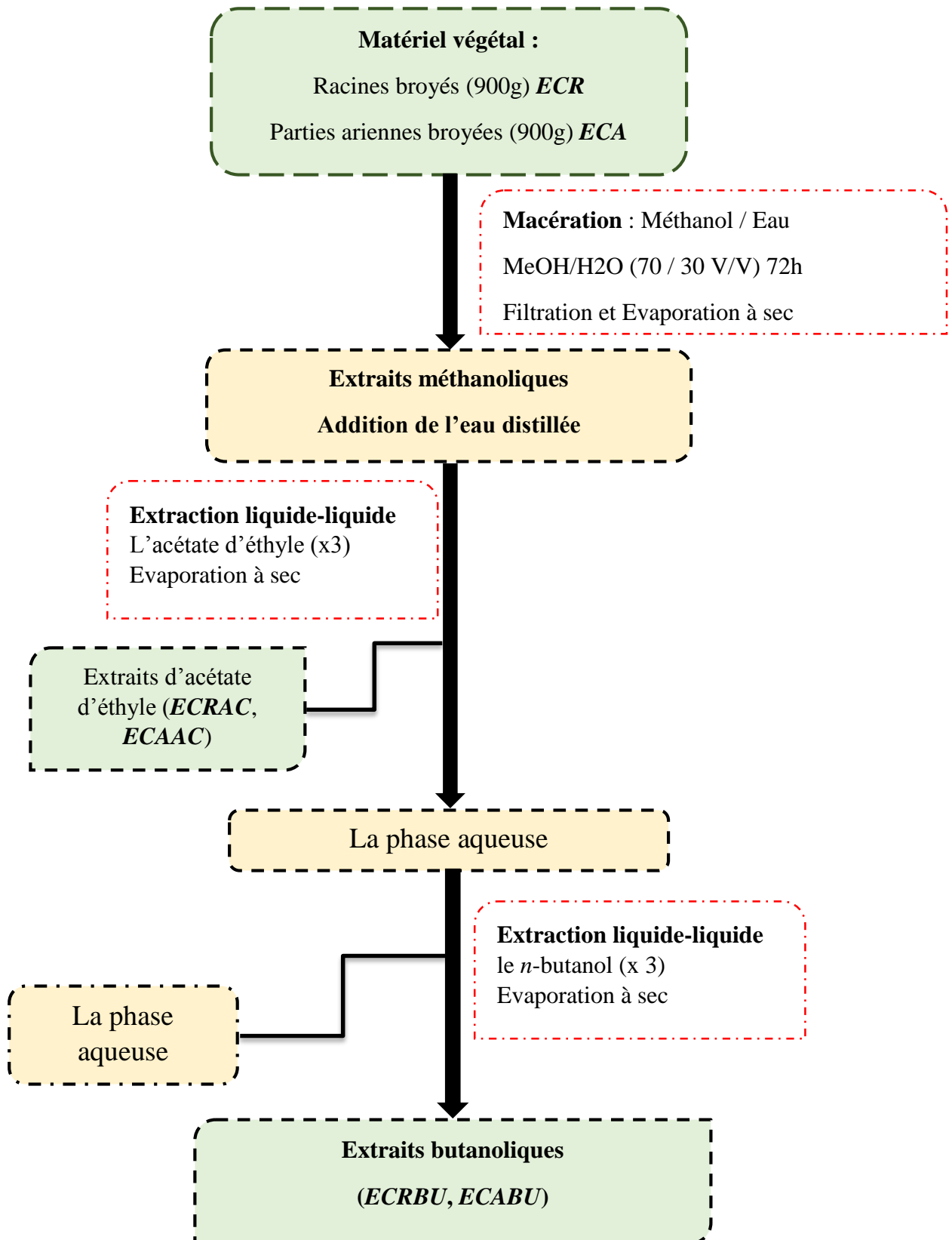


Figure 6 : Schéma d'extraction d'*Eryngium campestre* L. (racines *ECR*, parties ariennes *ECA*).

MATERIELS ET METHODES

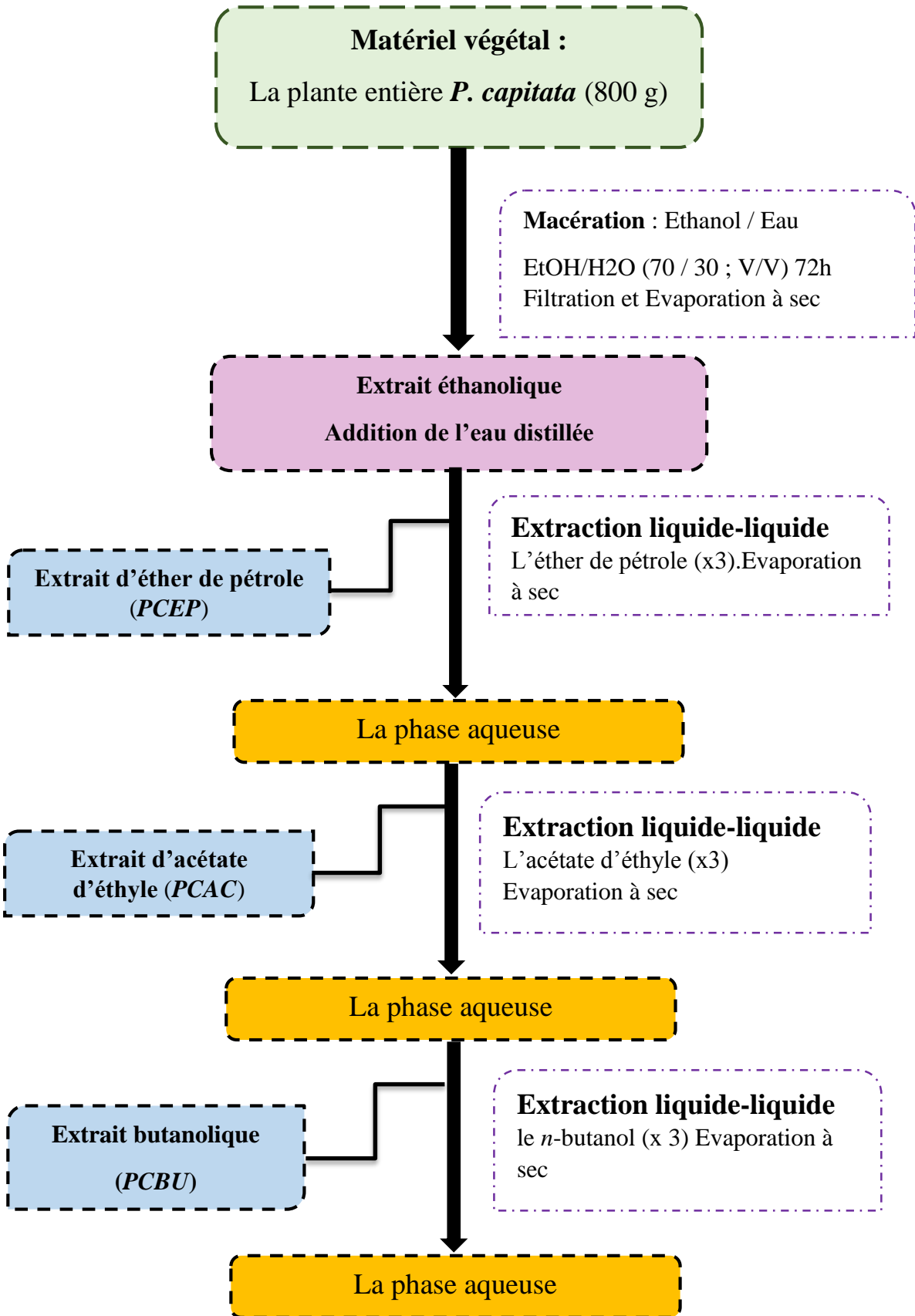


Figure 7 : Schéma d'extraction de *Paronychia capitata* L. (PC).

2. Criblage phytochimique

2.1. Dosage des polyphénols totaux

La concentration en polyphénols a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Li et al. (2007)** et qui est basée sur la réduction en milieux alcalins de la mixture phosphotungstate ($\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$)³⁻ phosphomoldate ($\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$)³⁻ de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [**Georgé et al. 2005**].

1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) a été ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 %) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765nm. La teneur des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg/ml) qui représente l'absorbance.

2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Pour le dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits d'*Eryngium campestre* et de *Paronychia capitata*, la méthode utilisée est celle du trichlorure d'aluminium [**Bahorun et al. 1996**]. D'abord, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la quercétine (0-40 µg/ml). À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) et le mélange est vigoureusement agité.

Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir de la courbe d'étalonnage du quercétine. La concentration est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait sec (µg QE/mg d'extrait).

3. Evaluation des activités biologiques *in vitro*

3.1. Le potentiel antioxydant des plantes

notre choix s'est porté sur l'utilisation de quatre protocoles ; à savoir : la réduction du phosphomolybdate (la capacité antioxydante totale CAT), le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP), le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH) et le blanchiment du β -carotène. Le principe de ceux-ci repose sur le changement de couleur suivi par la lecture de l'absorbance à des longueurs d'ondes spécifiques.

3.1.1. L'activité antioxydante totale

3.1.1.1.Principe

La capacité antioxydante totale est largement utilisée comme paramètre pour tester les aliments et les composants bioactifs. Cette méthode est définie comme la capacité d'un composé pour inhiber la dégradation oxydante comme de la peroxydation des lipides [Ilhami, 2012].

Le dosage de la capacité antioxydante totale (CAT) est une méthode spectroscopique pour la détermination quantitative de l'activité antioxydante grâce à la formation du complexe phosphomolybdène. Le dosage est basé sur la réduction de molybdates Mo (VI) en molybdène Mo (V) par les antioxydants présents dans l'extrait, et la formation d'un complexe vert (phosphate /Mo (V)) à pH acide [Alam et al. 2013].

3.2.2.2.Mode opératoire

La CAT des différents extraits des deux plantes a été évaluée par la méthode décrite par Prieto et al. (1999). Un volume de 100 μ l de chaque extrait des deux plantes a été mélangé avec 1 ml de réactif (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Ensuite, les tubes sont incubés à 95° C pendant 90 min.

Après refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 1 ml de la solution du réactif et 0.1 ml du méthanol incubé dans les mêmes conditions que les échantillons. Les expériences sont répétées en triplet.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de l'extrait (mg EAA/ g Ext).

3.2.3. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

3.2.3.1.Principe

Le pouvoir de réduction d'un extrait est associé à son activité antioxydante et peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle [Oktay *et al.* 2003]. Les molécules avec un pouvoir de réduction indiquent qu'ils sont des donneurs d'électrons et peuvent réduire les intermédiaires oxydés des processus de peroxydation lipidique, pour qu'ils puissent agir comme antioxydants primaires et secondaires [Chanda & Dave, 2009]. Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

3.2.3.2.Mode opératoire

Cette activité est déterminée selon le procédé d'Oyaizu (1986) [Soni & Sosa, 2013]. Les différentes concentrations des extraits (0.1 à 1 mg /ml) dans le méthanol sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%).

Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. A la fin, 2.5 ml de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm, l'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

La concentration CE50 qui est définie comme la concentration des antioxydants nécessaires pour réduire 50% de la concentration initiale du thiocyanate ferrique est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des extraits [Megdiche Ksouri *et al.* 2011].

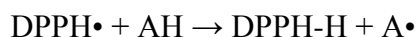
3.2.4. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.2.4.1.Principe

Le piégeage du DPPH est une méthode valide, facile, précise, sensible, et économique pour évaluer l'activité antiradicalaire des antioxydants des fruits et légumes ou d'extraits de plantes médicinales car le radical est stable et ne doit pas être généré comme dans les autres analyses de piégeage et les résultats sont très reproductibles.

Afin d'évaluer le potentiel antioxydant des échantillons par le piégeage des radicaux de DPPH, la variation de la densité optique des radicaux DPPH est surveillée ; le dosage est basé

sur la réduction de DPPH en solution alcoolique en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène en raison de la formation de la non-forme radicale DPPH-H **figure 9**.



Cette transformation entraîne un changement de couleur du violet au jaune. La disparition de la couleur est mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm.



Figure 9 : Réaction antioxydant / radical libre DPPH [Boligon *et al.* 2014].

3.2.4.2. Mode opératoire

La propriété antioxydante des extraits d'*Eryngium campestre* et de *Paronychia capitata* a été mesurée en termes de capacité de piégeage radicalaire, en utilisant le radical stable, DPPH et la quercétine a été utilisée comme antioxydant standard.

L'effet des extraits des deux plantes sur le radical DPPH a été mesuré en utilisant la méthode décrite par **Mansouri *et al.* (2005)** avec quelques modifications. Une quantité de 25 µl de différentes concentrations d'extraits ou de quercétine (0-40 µg/ml) a été ajoutée à 975 µl de DPPH 0,1 mM dans 80% de méthanol. Le mélange a été agité vigoureusement et incubé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance de la solution a été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm avec du méthanol comme blanc. L'expérience a été reproduite dans trois essais indépendants. Le pourcentage d'inhibition a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

A contrôle est l'absorbance du témoin négatif (méthanol) et le A extrait est l'absorbance des échantillons (en présence d'extrait).

En outre, le paramètre concentration d'inhibition (IC50) a été utilisé pour l'interprétation des résultats. Elle est définie comme étant la concentration en substrat entraînant une diminution de 50% de l'absorbance, à cette concentration 50% du DPPH est sous forme réduite.

3.2.5. Test de blanchissement du β -carotène

3.2.5.1.Principe

C'est l'une des méthodes rapides, simples, reproductibles et efficaces dans le temps pour une évaluation rapide des propriétés antioxydantes, qui repose principalement sur le principe que l'acide linoléique, est oxydé par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produite par l'eau oxygénée. Les produits formés initieront l'oxydation du β -carotène, ce qui mènera à la décoloration ; empêché par les antioxydants [Alam *et al.* 2013 ; Singh & Singh, 2008].

Par conséquent, le taux d'inhibition de la décoloration indique l'activité. Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits des deux plantes est déterminée en mesurant l'inhibition de la décomposition oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique spectrophotométriquement à 490 nm ; selon la méthode décrite par [Kartal *et al.* 2007].

3.2.5.2.Mode opératoire

L'émulsion de β -carotène / acide linoléique est préparée par solubilisation de β -carotène 0.5 mg dans 1 ml de chloroforme, 25 μ l de l'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 sont ajoutés, après que le chloroforme s'est complètement évaporé, ensuite 100 ml d'eau distillée saturés d'oxygène sont ajoutés, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement. 350 μ l de solution d'extraits ou d'antioxydants de référence (BHT) solubilisée dans le méthanol (2mg/ml) est ajouté avec 2,5ml de cette l'émulsion.

La cinétique de la décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans laquelle l'échantillon est remplacé par 350 μ l de méthanol ou d'eau distillée) est suivie à 490 nm avec des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures (après : 0,1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 24h, 26h, 28h et 48h) d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité.

L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{AAR} = \text{Abs}_{t=48h} (\text{échantillon}) / \text{Abs}_{t=48h} (\text{BHT})$$

3.3. Le potentiel antimicrobien des plantes

Une variété de méthodes peut être utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* d'un extrait ou d'un composé pur. La méthode de diffusion en milieu solide est une méthode officielle utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie clinique pour les tests de routine de sensibilité aux antimicrobiens, elle présente la méthode la plus connue et la plus basique. Ces résultats également guident les cliniciens dans la sélection appropriée des traitements empiriques initiaux et les antibiotiques utilisés dans des situations particulières [Balouiri *et al.* 2016]. Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, avec la création d'un gradient de concentration. L'effet du produit sur la cible est mesuré par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

3.3.1. Propriétés des Souches utilisées

L'activité antimicrobienne des extraits d'*Eryngium campestre* et *Paronychia capitata* a été évaluée sur huit souches bactériennes, deux levures et six souches fongiques.

Les souches utilisées sont soit des souches de référence American Type Culture Collection (ATCC) ou bien des isolats cliniques isolées à partir de divers prélèvements de patients, obtenus du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire (CHU) de Batna et conservées dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée voir **tableau 3**.

3.3.2. Préparation des milieux de culture

La gélose Mueller-Hinton a été utilisée comme milieu de culture pour les bactéries et les levures tandis que le milieu Sabouraud a été utilisé pour les champignons. 38 gramme de poudre de Mueller-Hinton et 65 g de poudre de Sabouraud furent ajoutées dans 1l d'eau distillée, respectivement. Bouillie avec agitation jusqu'à dissolution complète, autoclave pendant 15 min à 121°C. Ensuite, les milieux ont été laissés refroidir à environ 55°C, puis versés dans des boîtes de Pétri stériles « 12 ml pour chaque boîte » et ont été laissés solidifier pendant une nuit. Les boîtes de Pétri ont été stockées à l'envers dans le réfrigérateur à 4°C.

MATERIELS ET METHODES

Tableau 3: Présentation des souches microbiennes testées [Hart & Shears, 1997; Edward & Sinai, 2004].

| Groupes de germes | Espèces | Références | Infections |
|---------------------------------------|--------------------------------|-----------------|--|
| Bacilles à GRAM négatif | <i>Escherichia coli</i> | ATCC 35218/ CLN | -Infections urinaires et des Plaies, Septicémies, infections gastroentérites, méningite néonatale. |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853/ CLN | - Infections de plaie, infection urinaires, septicémie, pneumopathies. |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | CLN | -Infections urinaires, pneumopathies, septicémies. |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | CLN | - Infections urinaires et de plaie, septicémies. |
| Cocci à GRAM positif | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923/ CLN | - Infections de plaie, septicémies, furoncle, impétigo, ostéomyélite. |
| Levures | <i>Candida albicans</i> | CLN | -Candidoses (cutanées, unguéales, muqueuses anogénitales) |
| | <i>Candida parapsilosis</i> | CLN | |
| Dermatophytes | <i>Trichophytum glabrum</i> | CLN | -Dermatophytose ; les mycoses cutanées des tissus kératinisés (peau, cheveux et ongles). |
| | <i>Trichophyton verrucosum</i> | CLN | |
| | <i>Trichophyton rubrum</i> | CLN | |
| Moisissures | <i>Aspergillus niger</i> | CLN | Aspergillose. |
| | <i>Aspergillus nidulans</i> | CLN | |
| champignon nécrotrophe phytopathogène | <i>Botrytis cinerea</i> | CLN | la pourriture grise touche (la vigne, le tournesol, la tomate, la fraise).* |

ATCC : American Type Culture Collection, CLN : Clinique. * [www.cyclamen.com].

3.3.3. Mise en culture des souches

La suspension bactérienne a été préparée à partir de cultures de 24 h (37°C) pour les souches bactériennes et les levures selon la méthode de la colonie directe. Les colonies ont été prélevées directement de la boîte Pétri et suspendues dans 5 ml de solution saline stérile à 0.9%. La turbidité de suspension initiale a été ajustée par rapport à 0.5 Mc Farland norme.

3.3.4. Préparation des extraits

Pour effectuer le test, les extraits organiques d'*E. Campestre* (*ECRAC*, *ECRBU*, *ECABU*, *ECAAC*) et de *P. capitata* (*PCAC*, *PCBU* et *PCEP*) ont été dissouts dans le méthanol, tandis

que les extraits aqueux des deux plantes (*ECRAQ*, *ECAAQ*, *PCAQ*) ont été dissouts dans l'eau distillée. Trois concentrations ont été testées : 150, 75 et 37.5 mg/ml.

3.3.5. Les témoins

Les contrôles sont réalisés simultanément pour chaque essai. Pour ce faire, on utilise un antibiotiques (gentamycine 30 µg/disque) et un antifongique (Fluconazol 25 µg/disque) comme contrôle positif. Le méthanol et l'eau distillée (20 µl/disque) ont également été testés comme témoin négatif.

3.3.6. L'évaluation de l'activité antimicrobienne (test de sensibilité)

L'activité antibactérienne des extraits organiques et aqueux des deux plantes a été déterminée par la méthode de diffusion du disque en milieu gélosé pour les bactéries et les levures [Essawi & Srour, 2000 ; Koné *et al.* 2004]. Cette méthode est utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

Suivant le protocole décrit par [Celiktas *et al.* 2007 ; Jamaluddin *et al.* 2015] avec quelques modifications.

Une suspension bactérienne a été répartie sur la surface de la gélose MH et laissée reposer pendant plusieurs minutes jusqu'à ce que les inoculations soient totalement absorbées par le milieu avant le dépôt des disques. Les disques en papiers filtre stérile (Whatman) d'un diamètre de 6 mm, sont imbibés de 20 µl de différentes concentration de chaque extrait des deux plantes ont été séchés dans la zone stérile du bec Bunsen pendant 5 min. Ensuite, ils ont été déposés à la surface de la géloseensemencée. Avant l'incubation, toutes les boîtes de Pétri ont été conservées au réfrigérateur (4°C) pendant 1 h [Megdiche Ksouri *et al.* 2011]. Puis ils ont été incubés à 37 °C pendant 24 h [Celiktas *et al.* 2007].

3.3.7. L'évaluation de l'activité antifongique

Pour détecter la présence d'activités antifongiques des échantillons, le test de sensibilité a été effectué en utilisant la méthode de diffusion du puits. Sur le milieu de culture Sabouraud préparé précédemment ; des puits d'environ 6mm de diamètre ont été creusés dans la gélose, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. L'ensemble a été laissé refroidir. A partir d'une culture jeune pendant 48h des spores ont été déposés sur la surface du milieu de culture .Ensuite, les

puits ont été rempli avec 20µl des différentes concentrations des extraits à tester .Après, les boites ont été incubées à température ambiante 25-27 °C pendant respectivement pour 72 h dans le cas des levures et 7 jours pour les filamenteux [Magaldi *et al.* 2004 ; Delahaye, 2009].

3.3.8. Lecture des résultats

L'action des différents extraits se manifeste par la formation d'une zone d'inhibition autour du disque. La lecture des diamètres a été faite à l'aide d'un pied à coulisse électronique pour chaque disque (3 répétitions pour chaque concentration).

4. Evaluation des activités biologiques *in vivo*

4.3. Le test de toxicité orale aiguë

Les expériences toxicologiques chez les animaux sont effectuées afin de déterminer le type d'effet des extraits des plantes sur un système biologique et la gravité de l'effet qu'ils présentent. Les données obtenues dans de tels tests sont ensuite utilisées pour extrapoler les doses et les effets sur les humains [Wallace, 2011 ; Kevin *et al.* 2012].

4.3.1. Les animaux

De jeunes adultes rats Albinos de la souche Wistar (male/femelle) ont été procurés par l'Institut Pasteur (Alger, Algérie). Ils ont été logés dans des cages en plastique à une température de $(25 \pm 2) ^\circ C$ avec un cycle 12h lumière / obscurité respectivement avant et pendant l'expérience et ont eu un accès libre à l'eau et ont été nourris avec un régime alimentaire standard.

4.3.2. Mode opératoire

La toxicité aiguë des extraits butanol d'*Eryngium campestre* L. racines et parties aériennes (*ECRBU*, *ECABU*) a été estimée suivant la méthode d'OCDE (420,425) (OCDE, 2001 ; OCDE 2007).

Après une période d'adaptation, les rats sont pesés, identifiés par une marque sur la queue. L'étude porte sur 15 rats adultes femelles ayant un poids variant entre 150 et 200g, les animaux, sont répartis en 3 groupes (3 lots) dont un témoin. Les rats ont été privés de nourriture mais pas de l'eau pendant la nuit précédant l'essai. Le lot témoin (lot1) a reçu une solution saline normale 0.9 % 10 ml / kg, tandis que les deux lots (2,3) ont reçu 2000 mg/kg d'extrait *ECRBU* ou *ECABU* oralement par gavage à l'aide d'une sonde œsophagienne.

Afin d'évaluer l'effet toxique de l'extrait butanol de *Paronychia capitata* (**PCBU**), 10 rats males sont au préalable mis à jeûne 24 heures avant le traitement. Les animaux ont été repartis en lots de cinq rats chacun et ont été traités comme suit :

- le **lot 01** témoin a reçu de l'eau physiologique (10 ml/kg)
- le **lot 02** a été traité à l'extrait butanol de *Paronychia capitata* de la dose 2000 mg/kg.

4.2.3. Observations

Après traitement, les animaux étaient observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement, avec une attention particulière pendant les quatre premières heures. Ils étaient ensuite observés quotidiennement pendant 14 jours après l'administration des extraits.

Les observations portaient sur des signes toxicologiques ; les modifications de la peau, des poils, de l'activité somato-motrice et du comportement ou bien de mortalité. L'attention se portait en particulier sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsion, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma. Le poids de chaque rat a été enregistré aux jours 0, 7 et 14 au cours de l'étude.

4.2.4. Analyse des urines

À la fin de l'étude, tous les animaux ont été soumis à un jeûne pendant 18 h, Les rats sont pesés puis placés, individuellement dans des cages métaboliques pendant 15 à 30 min avec un accès libre à l'eau seulement. Tout changement de densité, pH, du taux de glucose, de la bilirubine ainsi que la présence du sang, des protéines, des nitrites, des leucocytes et des cétones dans les urines, a été évalué en utilisant des bandelettes URINALYSIS réactives d'analyse urinaire.

4.2.5. Analyses biochimiques et hématologiques

Après que les rats ont été anesthésiés, les prélèvements sanguins sont effectués à l'aide des tubes capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro- orbital par voie ophtalmique. Les échantillons du sang, d'environ 3ml, sont recueillis dans 2 tubes différents ; un tube à EDTA et autre hépariné.

❖ Les paramètres hématologiques

L'examen des paramètres hématologiques : les Globules rouges (GR), les Globules blancs (GB), l'Hémoglobine (HGB) et les Plaquettes (PLT) a été effectué au niveau du laboratoire de la clinique les Cèdres, Batna à l'aide de l'automate d'hématologie type (Daitron Abacus junior)

❖ Les Paramètres biochimiques

Les échantillons de sang pour les analyses biochimiques ont été centrifugés et le plasma a été recueilli pour les différentes analyses. Les paramètres dosés sont Alanine aminotransférase (ALAT), Aspartateaminotransférase (ASAT), créatinine (CRE), urée, cholestérol, triglycérides (TG) et la glycémie en utilisant un automate type (Metrolab 2300).

4.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'*ECRBU*, *ECABU* et *PCBU* a été réalisée en utilisant la méthode décrite par **Anosike et al. (2012)**.

4.3.1. Principe

La recherche d'une action anti-inflammatoire vise à reproduire chez l'animal une inflammation aiguë qui sera traitée par les extraits des plantes étudiées. Le test est basé sur l'injection d'albumine d'œuf frais non dilué sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat provoquant une réaction inflammatoire locale (œdème) en quelques heures, qui peut être réduite par les substances anti-inflammatoires.

4.3.2. Protocole expérimental

Les rats répartis en 8 lots de 5 ont été mis à jeûne pendant 24 heures avant l'expérimentation. On mesure pour chaque rat le volume initial (V_0) de la patte arrière droite. Les rats ont été gavés avec du sérum physiologique (NaCl 0.9 % ; contrôle négatif) 10ml/kg, de l'extrait butanol des racines d'*E. campestre* (*ECRBU* 250 mg/kg ; *ECRBU* 500 mg/kg) ou de l'extrait butanol de la partie aérienne d'*E. campestre* (*ECABU* 250 mg/kg ; *ECABU* 500 mg/kg) ou de l'extrait butanol de *P. capitata* (*PCBU* 250 ; *PCBU* 500 mg/kg). Les rats constituant le groupe de référence (control positif) ont été gavés avec du Diclofenac (**DICLO**) à la dose de 30 mg / kg. Une heure après gavage, l'inflammation a été produite par injection de 0.1 ml d'albumine d'œuf frais non dilué sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite de chaque rat.

L'évolution de l'œdème de la patte a été déterminée après 30, 60, 120, 180, 240 et 300 min en utilisant un pied à coulisse digital. Les pourcentages d'inhibition de l'inflammation sont calculés selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(tC_n - tC_0) - (tT_n - tT_0)] / [(tC_n - tC_0)] * 100$$

tC_n = épaisseur de la patte à un moment particulier du rat lot contrôle, tC_0 = épaisseur de la patte avant induction de l'inflammation du rat lot contrôle, tT_n = épaisseur de la patte à un point de temps particulier rat traité, tT_0 = épaisseur de la patte avant l'induction de l'inflammation rat traité.

4.4. Evaluation de l'activité antipyrétique

4.4.1. Principe

La fièvre est une augmentation de la température corporelle de 1 à 4 °C au-dessus des valeurs normales. Elle reflète une élévation de la température du « thermostat hypothalamique » et constitue une réponse normale et adaptative de l'organisme contre une agression de nature variable, notamment infectieuse. Elle fait partie de mécanismes de défense plus complexes constituant la réaction inflammatoire aiguë (acute phase réponse) [Aronoff & Neilson, 2001 ; Guyton & Hall, 2006]. L'augmentation de la température du thermostat hypothalamique sous l'effet de substances sanguines dites pyrogènes qui se divisent en pyrogènes exogènes et endogènes. Les plantes sont utilisées comme source d'agents antipyrétiques depuis un laps de temps prolongé pour le traitement de la fièvre. Par conséquent, il est nécessaire de rechercher les matériaux à base de plantes qui ont une activité antipyrétique potentielle avec moins de toxicité, sans effets secondaires [Sultana *et al.* 2015].

4.4.2. Mode opératoire

Selon Sawadogo *et al.* (2006), l'injection sous cutané dans la région dorsolatérale d'une suspension aqueuse de levure de bière (20 %) à raison de 10 ml pour 1000 g de poids corporel provoque une hyperthermie. Des rats de poids (208-256 g) sont marqués et répartis dans 4 groupes, chaque groupe comportant 5 rats avec poids homogènes.

Après la prise de température rectale (la température initiale), les rats ont reçu par voie sous-cutanée dans la région dorsolatérale, une suspension aqueuse de levure de bière (20mg/ml). Ensuite les rats ont été mis à jeûne Dix-huit heures. Avant le gavage on mesure la température (supérieur à 0.5 °C).

Les différents groupes ont reçu par voie orale de l'eau saline, l'extrait *PCBU* (250 mg/kg) et (500 mg/kg) et la substance de référence paracétamol (10 mg/ml) respectivement. Après

l'administration des extraits, la prise de température a été faite à l'aide d'un thermomètre après 30min, 1, 2, 3, 4 et 5h de gavage.

5. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'un logiciel Graph Pad Prism 5.1. Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD, les résultats des tests *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm Standard Error of Mean (SEM). La différence entre le contrôle et les différents tests, est déterminée par le test d'ANOVA univariée suivie du test de Dunnett / Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p < 0.05$ sont considérées significatives. Les valeurs de la concentration inhibitrice à 50% (IC50) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration. Les coefficients de corrélation entre les composés phénoliques et les méthodes de l'activité antioxydante ont été démontrés en utilisant Excel (2013).



CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Rendement et aspects des extraits

Selon *Azmir et al. (2013)*, l'efficacité d'extraction de toute méthode conventionnelle dépend principalement du choix des solvants ; la polarité du composé ciblé qui est le facteur le plus important pour le choix du solvant (**tableau 5**) ainsi que l'affinité moléculaire entre le solvant et le soluté. Le transfert de masse et la faisabilité financière devrait également être pris en compte dans la sélection du solvant pour l'extraction des composés bioactifs.

❖ Résultats

Après l'évaporation à sec et la récupération des extraits à savoir les extraits méthanoliques des racines et des parties aériennes d'*E. campestre* et l'extrait éthanolique de *P. capitata*, une étape supplémentaire d'extraction liquide – liquide a été effectuée dans le but de fractionner l'extrait alcoolique de chacune des plantes étudiées.

La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait sont représentés dans le **tableau 4** pour *Eryngium campestre* L. et **tableau 5** pour *Paronychia capitata* L. Le rendement (l'extrait sec ; obtenu après évaporation à sec) a été déterminé par rapport au poids de la poudre végétale. D'après nos résultats, les rendements d'extraction observés dépendent à la fois de la partie de la plante et aussi du solvant d'extraction.

Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait brut, l'extrait butanolique représente le rendement le plus élevé pour les deux plantes **ECRBU** (4.08 %), **ECABU** (3.05 %) et **PCBU** (3 %).

Tableau 4 : Aspects, couleurs et rendements des divers extraits d'*E. campestre* L. en pourcentage par rapport au poids total de la poudre.

| Extraits | Aspect | Couleur | Rendement |
|--------------|--------|--------------|-----------|
| ECRBU | pâteux | Brunâtre | 4.08 % |
| ECABU | pâteux | Marron foncé | 3.05 % |
| ECRAC | pâteux | Brunâtre | 0.82 % |
| ACAAC | pâteux | Marron | 0.71 % |
| ECRAQ | poudre | Brunâtre | 1.68 % |
| ECAAQ | poudre | Verte | 1.55 % |

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 5 : Aspects, couleurs et rendements des divers extraits de *Paronychia capitata* L. en pourcentage par rapport au poids total de la poudre.

| Extraits | Aspect | Couleur | Rendement |
|-------------|---------|----------|-----------|
| <i>PCBU</i> | pâteux | Brunâtre | 3 % |
| <i>PCAC</i> | pâteux | Brunâtre | 0.78% |
| <i>PCEP</i> | huileux | Brunâtre | 0.41 % |
| <i>PCAQ</i> | poudre | Verte | 0.69 % |

❖ Discision

Küveli et al.(2006) ont rapporté le rendement l'extrait éthanolique des différentes parties d'*E. campestre* (w/w, %) : des racines 10.8% et des parties aériennes 5.6% ainsi que le rendement d'extrait aqueux des racines 31.6% et des parties aériennes 12.4% respectivement.

Dans autre étude ; l'extrait méthanolique des différentes parties ariennes de plantes (fleurs et feuilles) .L'extraction au méthanol des fleurs et des feuilles d'*E. campestre* a donné respectivement 5.27% et 6.72% de poids sec [**Güne et al. 2014**].

De plus, **SIFOUANE, (2012)** On a obtenu à la fin de cette procédure : 9g (w/w, 1%) de l'extrait d'acétate d'éthyle qui renferme un grand nombre de composés moyennement polaires et 40 g (w/w, 4.44%) d'extrait butanolique qui regroupe les composés les plus polaires et la majorité des hétérosides. En comparant les résultats de ces études, nos extraits présentent des rendements inferieures quel que soit la partie étudiée ou la polarité du solvant d'extraction.

D'autre part de notre étude l'extraction de *P. capitata* par quatre solvants organiques montre une variation en fonction de la nature du solvant de l'extraction. Ces résultats sont comparables au rendement déterminé par **Elkhair et al. (2010)** pour les extraits de *Paronychia argentea* Lam. (100 g) extraits de chloroforme, d'éthanol, aqueux (2.9g, 2.2g, 6.3g). Le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique de *Paronychia argentea* (partie aérienne) 7.88% [**Zohra & Fawzia, 2014**]. À l'opposé les résultats de la recherche de **Masadeh et al. (2014)** où d'extrait d'éthanol parties aériennes *Paronychia argentea* Lam. 20.8 (g/kg).

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif ; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

D'après **Singh (2008)**, les paramètres de base qui influent sur le rendement d'un extrait sont :

1. la partie de la plante utilisée comme matière première (racines, tiges, feuilles...)
2. la nature et la polarité du solvant utilisé pour l'extraction, le procédé d'extraction (protocole) suivi et le type d'équipement.
3. le ratio poids/volume ; matière végétale/solvant d'extraction

1. Détermination de teneur en composés phénoliques

1.1. Dosage des composés polyphénoliques totaux

Les différents extraits des deux plantes ; *E. campestre* (**ECRBU**, **ECRAC**, **ECRAQ**) extraits des racines, (**ECABU**, **ECAAC**, **ECAQ**) extraits des parties aériennes, de plus, *P. capitata* (**PCBU**, **PCAC**, **PCEP**, **PCAQ**) ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour leur contenu en polyphénols selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont exprimés en terme d'équivalents acide gallique par milligramme d'extrait à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

La méthode est basée sur la réduction chimique du réactif Folin-Ciocalteu ; en milieu basique, le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange phosphotungstate ($\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$)³⁻ et de phosphomolybdate ($\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$)³⁻ initialement jaune, oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'extrait végétal et est réduit en un mélange d'oxydes métalliques bleu . Cette coloration est mesurée par lecture de l'absorbance à 765 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

Une courbe d'étalonnage d'acide gallique (0-200 µg/ml) a été tracée dans l'objectif de la détermination de la teneur totale des polyphénols ; la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations (**figure10**). Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent d'acide gallique (µg EAG/mg d'extrait sec) et déterminé par l'équation de type : $y = 0.0116 x - 0.0056$ sachant que $R^2 = 0.997$

RESULTATS ET DISCUSSION

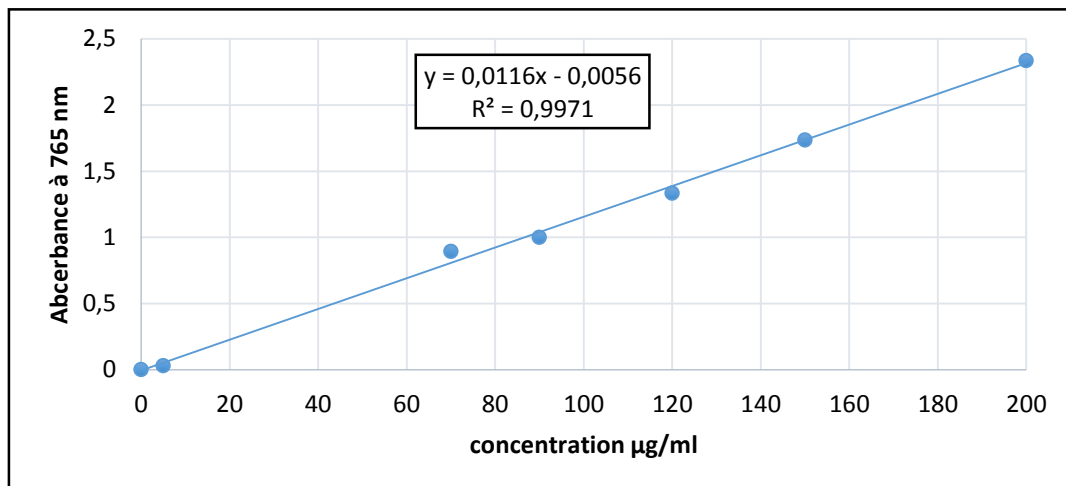


Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits des racines *ECR* et des parties aériennes *ECA* de *E. campestre* étudiées sont représentés ci-dessous (**tableau 6, figure 12**). Après interprétation des résultats, nous constatons que les extraits des parties aériennes *ECA* ; soit organiques (*ECAAC*, *ECABU*) ou aqueux *ECAQ* sont quantitativement plus riches en composés phénoliques totaux que les extraits des racines *ECR* (*ECRBU*, *ECRAC*, *ECRAQ*).

De plus, ces résultats nous indiquent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement en fonction de la nature du solvant d'extraction, où l'acétate d'éther possède les teneurs les plus élevées, avec des valeurs de 27.773 ± 3.063 µg EAG/mg d'extrait (*ECAAC*) et 22.307 ± 1.656 µg EAG/mg extrait (*ECRAC*), la concentration en polyphénols totaux de *ECAAC* n'est pas significativement plus élevée que celui de l'extrait *ECRAC* tandis que l'extrait butanolique des racines *ECRBU* est significativement ($p < 0.05$) pauvre en composés phénoliques avec la teneur la plus faible ; 07.180 ± 0.352 µg EAG/mg d'extrait.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 6 : Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits d'*E. campestris* L.

| Extraits | polyphénols totaux ^A | flavonoïdes totaux ^B |
|--------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>ECRAC</i> | 22.307 ± 1.656 ^a | 3.548 ± 0.822 ^d |
| <i>ECRBU</i> | 07.180 ± 0.352 ^b | 3.218 ± 0.239 ^d |
| <i>ECRAQ</i> | 18.214 ± 6.757 ^a | 9.461 ± 0.130 ^a |
| <i>ECAAC</i> | 27.773 ± 3.063 ^a | 6.463 ± 0.754 ^c |
| <i>ECABU</i> | 21.520 ± 0.720 ^a | 3.263 ± 0.213 ^d |
| <i>ECAAQ</i> | 21.505 ± 1.091 ^a | 7.543 ± 0.395 ^b |

Moyenne ± SD (n = 3). **A** Exprimé sous forme de microgramme d'acide gallique par milligramme d'extrait sec. **B** Exprimé sous forme de microgramme d'extrait sec de quercétine par milligramme. Les moyens dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différents P <0.05.

B. *Paronychia capitata* L.

D'autre part, le **Tableau 7** montre la composition quantitative des composés phénoliques des extraits de *Paronychia capitata* analysés. L'analyse de ces résultats montre que l'extrait butanolique *PCBU* est le plus riche (différence significative ; p < 0.05) en composés phénoliques (32.238±1.404µg EAG/mg d'extrait) suivi par l'extrait d'éther de pétrole *PCEP* (29.062±0.884µg EAG/mg d'extrait), l'extrait aqueux *PCAQ* (10.199 ± 2.241 µg EAG/mg d'extrait) et enfin l'extrait d'acétate d'éthyle *PCAC* avec la teneur la plus faible (05.140 ±0.132 µg EAG/mg d'extrait) ; **figure 13**.

Tableau 7 : Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits de *Paronychia capitata* L.

| Extraits | polyphénols totaux ^A | flavonoïdes totaux ^B |
|-------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>PCBU</i> | 32.238±1.404 ^a | 3.481 ± 0.185 ^b |
| <i>PCAC</i> | 05.140 ± 0.132 ^b | 2.648 ± 0.754 ^b |
| <i>PCEP</i> | 29.062 ± 0.884 ^b | 3.113 ± 0.581 ^b |
| <i>PCAQ</i> | 10.199 ± 2.241 ^c | 6.077 ± 0.443 ^a |

Moyenne ± SD (n = 3). **A** Exprimé sous forme de microgramme d'acide gallique par milligramme d'extrait sec. **B** Exprimé sous forme de microgramme d'extrait sec de quercétine par milligramme. Les moyens dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différents P <0.05.

❖ Discussion

Le contenu phénolique total des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*E. campestris* (Turquie) a été déterminé par **Güneş** et ses collaborateurs en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. La quantité totale de composés phénoliques trouvée dans l'extrait au méthanol des fleurs d' *E. campestris* était de 116.69 mg EAG / l d'extrait végétal et de 109.62 mg EAG / l d'extrait végétal dans l'extrait des feuilles [**Güne et al. 2014**].

RESULTATS ET DISCUSSION

De plus, La composition en polyphénols totaux des extraits de méthanol et de chloroforme des parties aériennes et des racines d'*E. palmatum* a été étudiée. La teneur totale en composés phénoliques dans l'extrait méthanolique des parties aériennes (29.0 mg EAG/g) était plus élevée que dans l'extrait méthanolique des racines (139 mg EAG g⁻¹) [Marčetić *et al.* 2014].

Selon les résultats de Dall'Acqua *et al.* (2008) la teneur totale en composés phénoliques racines de l'extrait méthanolique d'*Eryngium campestre* L. indiquées 0.44 EAG mg/L.

L'accumulation différentielle des phénols totaux dans les racines et les parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. peut être associée aux activités histologiques et physiologiques différentielles au sein des organes, la production de ces composés est un procédé hautement ordonné et régulé par l'expression différentielle des gènes impliqués dans la voie phénylpropanoïde. Également, la teneur en composés phénoliques dans les plantes est variable en fonction de nombreux paramètres : physiologiques, environnementaux et des facteurs génétiques [Khaldi *et al.* 2013].

Merve *et al.* (2014) ont évalué la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes de l'extrait de méthanol obtenue à partir des fleurs et des feuilles d'*E. campestre*. Ils n'ont constaté que l'extrait méthanolique des fleurs d'*E. campestre* ayant un contenu phénolique plus élevé était de 116.69 mg EAG/l d'extrait en comparaison avec la quantité de composés phénoliques totaux des feuilles de 109.62 mg EAG/l d'extrait. Par ailleurs, Ils ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux des extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles d'*E. campestre* était respectivement de 110.58 et 108.37 mg EQ/l d'extrait.

Dans une autre recherche, Kholkhal *et al.* (2012) ont étudié le contenu en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanol, extrait d'acétone et évalué les activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes de l'extrait méthanol, l'extrait acétone, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanol des racines *Eryngium maritimum* algérienne. Ils ont déterminé que la quantité de composés phénoliques totaux était plus élevée dans l'extrait acétone (55.80 ± 2.75 mg EP/g extrait sec) que l'extrait méthanol (46.72 ± 4.69 mg EP/g extrait sec) et que la teneur en flavonoïdes était également plus élevée dans l'extrait acétone (1.505 ± 0.013 mg ER/g extrait sec) que l'extrait méthanol (1.138 ± 0.016 mg ER/g extrait sec).

Pour la deuxième plante *P. capitata* on remarque des concentrations similaires à celui des l'étude portée sur *P. argentea* ; la teneur totale en composés phénoliques a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu et exprimée en équivalent acide gallique (EAG) en

RESULTATS ET DISCUSSION

milligrammes par gramme de matière sèche : l'extrait aqueux 15.9, l'extrait méthanolique 15.5 [Tawaha *et al.* 2007]. Mohammedi, (2013) a montré que les valeurs exprimées en équivalent acide gallique par gramme d'extrait ou fraction (mg EAG/g) (Extrait méthanolique brut, fraction acétate d'éthyle, fraction butanolique, fraction aqueuse) = (597.23, 26.54, 12.34, 1.99)

En fin, La teneur en composés phénoliques totaux de chaque extrait mesurée à l'aide d'une méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu adaptée, d'extrait aqueux 223.88 mole équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec [Gonçalves *et al.* 2013].

Les composés phénoliques sont souvent extraits en quantités plus élevées dans des solvants plus polaires [Iloki-Assanga *et al.* 2015].

1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe stable avec les groupements hydroxydes OH des flavonoïdes. La méthode du chlorure d'aluminium implique la formation de complexes acides stables entre le réactif $AlCl_3$ et le groupe céto C-4 ; ou le groupe hydroxyle C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. En outre, le chlorure d'aluminium forme des complexes acides labiles avec les groupes ortho-hydroxylés dans le cycle A ou B des flavonoïdes [Iloki-Assanga *et al.* 2015]. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm. Le contenu en flavonoïdes a été déterminé en utilisant une courbe standard $DO = f([C])$ réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la quercétine comme contrôle positif. La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage « $y = 0.0398x + 0.0109$; $R^2 = 0.998$ » et exprimée en milligrammes équivalent en quercitine par milligramme d'extrait sec (μg EQ/mg d'extrait).

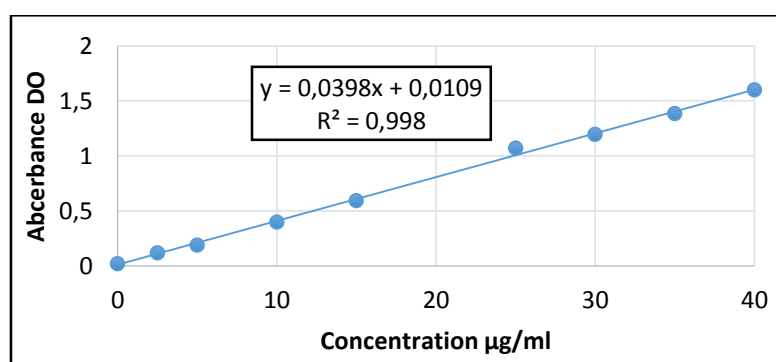


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (0-40 $\mu g/ml$) pour le dosage des flavonoïdes totaux.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Les résultats des extraits d'*E. campestre*, présentés dans le **tableau 6**, montrent une grande variabilité du taux des flavonoïdes non seulement dans les extraits issus d'un même organe, mais aussi des différences significatives par comparaison aux teneurs obtenues dans les parties aériennes *ECA* et les racines *ECR*. On remarque d'après les résultats, que la quantité des flavonoïdes varie entre 3.263 ± 0.213 et 9.461 ± 0.130 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

Le taux de flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans l'extrait aqueux des racines *ECRAQ* 9.461 ± 0.130 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, suivi par *ECAAQ* 7.543 ± 0.395 > *ECAAC* 6.463 ± 0.754 > *ECRAC* 3.548 ± 0.822 > *ECABU* 3.263 ± 0.213 > *ECRBU* 3.218 ± 0.239 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

B. *Paronychia capitata* L.

Le **tableau 7** montre la composition quantitative des flavonoïdes totaux des extraits de *P. capitata* analysés. Les teneurs en flavonoïdes totaux des différentes fractions varient respectivement de 6.077 ± 0.443 à 2.648 ± 0.754 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, l'analyse de ces résultats montre que l'extrait aqueux *PCAQ* est le plus riche en flavonoïdes 6.077 ± 0.443 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait (différence significative ; $p < 0.05$). Cependant, l'extrait acétate d'éthyle *PCAC* affiche un taux relativement pauvre en flavonoïdes 2.648 ± 0.754 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

On constate que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'un solvant à un autre dans l'ordre croissant suivant : *PCAC* 2.648 ± 0.754 < *PCEP* 3.113 ± 0.581 < *PCBU* 3.481 ± 0.185 < *PCAQ* 6.077 ± 0.443 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec.

Dans l'étude réalisée par Güneş et al. (2014), l'extrait de fleur d'*E. campestre* a un contenu phénolique plus élevé de 110.58 mg EQ / l d'extrait de plante lorsque, 108.37 mg EQ / l d'extrait de plante était la quantité totale de flavonoïdes trouvés dans les extraits de méthanol des feuilles [Güne et al. 2014].

❖ Discussion

Dans une étude comparative, la concentration totale de flavonoïdes d'extraits de parties aériennes et racines d'*E. campestre* (Kosovo) a été déterminée en employant la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium. Les résultats de la détermination de la teneur totale en flavonoïdes dans les parties aériennes ont montré un pourcentage de flavonoïdes totaux (0,12 - 0,14%) exprimé en quercétine totale [Nebija et al. 2009].

RESULTATS ET DISCUSSION

L'extrait alcoolique et aqueux de parties aériennes de *P. argentea* ont été évalués pour leur teneur en flavonoïdes totaux. L'extrait éthanolique présentait la plus forte teneur en flavonoïdes, suivi de la décoction et de la perfusion (25.4 mg / g de d'extrait sec, 8.4 mg / g d'extrait sec, 0.2 mg / g de d'extrait sec, respectivement)[Sait et al. 2015].

Le total des flavonoïdes est exprimé en microgramme équivalent rutine par gramme extrait ou fraction ($\mu\text{g ER/g}$) (Extrait méthanolique brut, fraction acétate d'éthyle, fraction butanolique, fraction aqueuse) = (37860.86, 21.90, 35.61, 1.24) [Mohammedi, 2013].

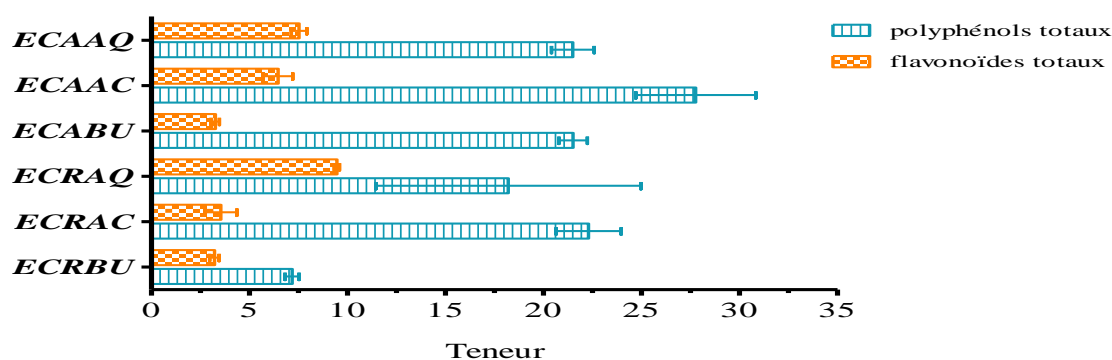


Figure 12 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. (polyphénols totaux en $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec, flavonoïdes totaux $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec ; moyenne \pm SD (n=3)).

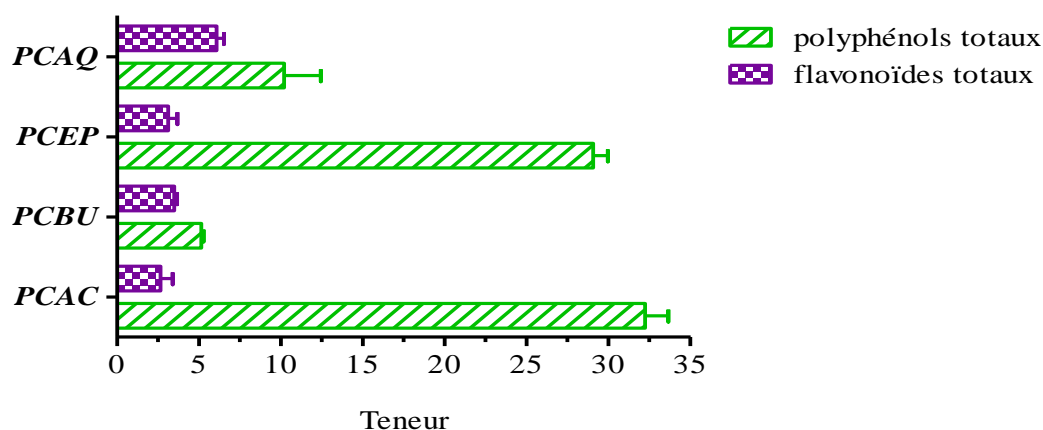


Figure 13 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *Paronychia capitata* L. (polyphénols totaux en $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec, flavonoïdes totaux $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec ; moyenne \pm SD (n=3)).

3. Evaluation des activités biologiques *in vitro*

3.1. L'activité antioxydante et antiradicalaire

Dans ce qui suit, nous présentons les résultats du potentiel antioxydant des extraits des deux plantes sélectionnées pour cette étude.

3.1.1. La capacité antioxydante totale

A la différence des autres tests, la CAT permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tels que les vitamines (C, E, ...) [Prieto et al. 1999].

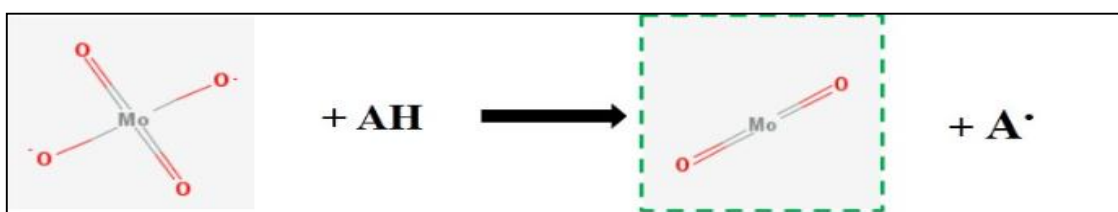


Figure 14 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test CAT entre le complexe molybdène Mo (VI) et un antioxydant (AH).

❖ Résultats

La capacité antioxydante totale des extraits bruts est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique par mg d'extrait à partir d'une courbe d'étalonnage, établie en utilisant l'acide ascorbique (0-1000 µg /ml) comme référence (**Figure 15**). Sachant que :

$$y = 0.0037 x - 0.0072 ; R^2 = 0.9992.$$

A. *Eryngium campestre* L.

L'estimation de la capacité antioxydante totale des extraits d'*Eryngium campestre* L. a montré une importante variabilité en fonction de l'organe étudié et la nature du solvant utilisé pour l'extraction (**Figure 16,17**). En outre, on remarque que dans la concentration de 500µg/ml, les extraits butanoliques que soit des racines ou bien des parties aériennes (**ECRBU**, **ECABU**) présentent une activité antioxydante significativement plus forte en comparaison avec le reste des extraits ($p < 0.05$) avec les teneurs les plus élevées **ECABU** 263.4 ± 0.392 µg AA/mg d'extrait et **ECRBU** 227.5 ± 0.737 µg AA/mg d'extrait. Néanmoins, les extraits aqueux **ECRAQ** et **ECAAQ** montrent une activité plus faible par rapport aux extraits organiques pour les deux parties étudiées, avec les valeurs de 135.5 ± 1.107 µg AA/mg d'extrait et 163.2 ± 2.095 µg AA/mg d'extrait respectivement.

RESULTATS ET DISCUSSION

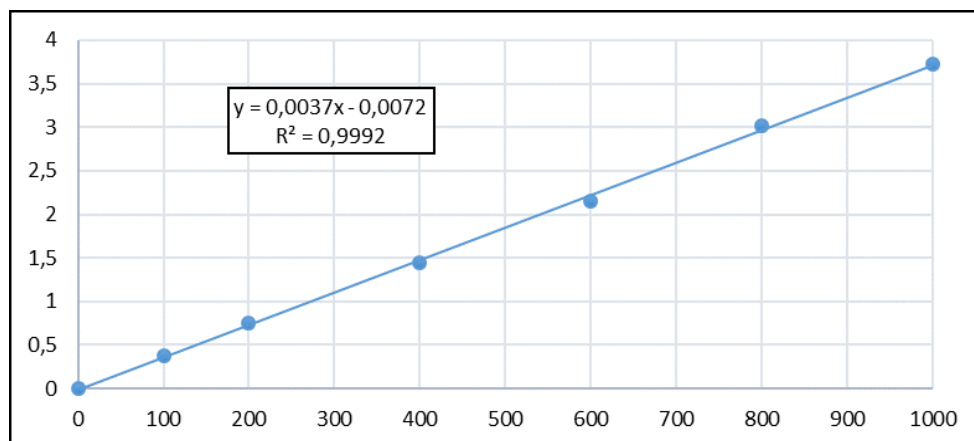


Figure 15 : Courbe d'étalon de l'acide ascorbique pour la mesure de la capacité antioxydante totale.

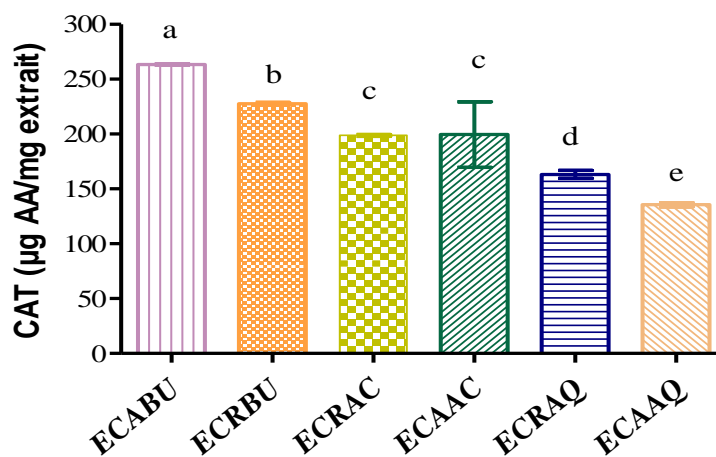
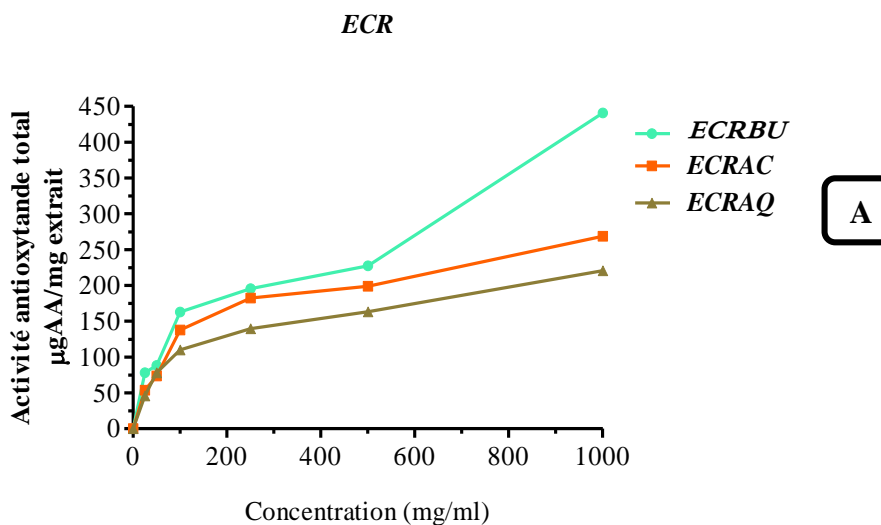
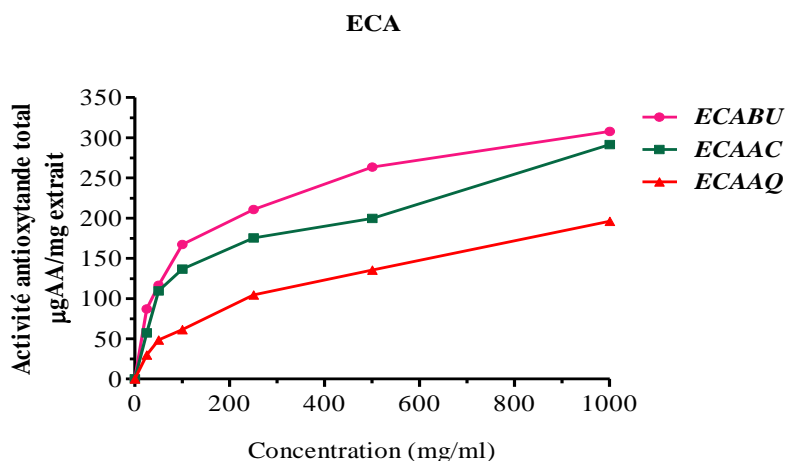


Figure 16 : La capacité antioxydante totale (CAT), exprimée en µg E AA/mg d'extrait des extraits d'*Eryngium campestre* L. à une concentration de 500µg/ml. Les extraits ayant la même lettre ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$) selon le test Newman-Keuls.





B

Figure 17 : Capacité antioxydante totale, exprimée en µg EAA/mg d'extrait d'*Eryngium campestre* L. **A** : Racines, **B** : Parties aériennes.

B. *Paronychia capitata* L.

La capacité antioxydante totale des extraits de *P. capitata* a été déterminée quantitativement par la méthode du phosphomolybdène et les résultats ont été représentés dans les **figures 18** et **19** comme microgramme acide ascorbique équivalents par mg (µg AA / mg d'extrait sec).

On observe que dans la concentration de 500µg/ml, l'extrait butanolique **PCBU** a montré une activité maximale (259.7 ± 2.555 µg AA / mg d'extrait sec) tandis que l'extrait éther de pétrole **PCEP** donne une réponse très faible dans ce dosage (185.4 ± 14.68 µg AA / mg d'extrait sec). Les valeurs de CAT des extraits sont classées en deux classes en fonction de l'analyse spastique (test Newman-Keuls ; $p < 0.05$) : **Classe a** ; **PCBU** et **PCAC** activité antioxydante forte, et **classe b** ; **PCAQ** et **PCEP** avec un CAT plus faible.

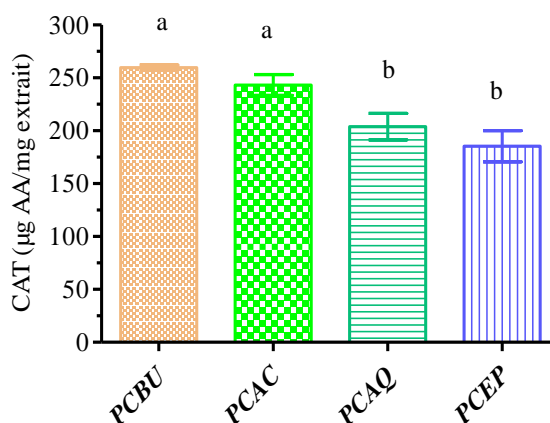


Figure 18 : Capacité antioxydante totale(CAT), exprimée en (µg E AA/mg d'extrait) des extraits de *Paronychia capitata* L. Les extraits ayant la même lettre ne présentent aucune différence significative ($p < 0.05$) selon le test Newman-Keuls.

RESULTATS ET DISCUSSION

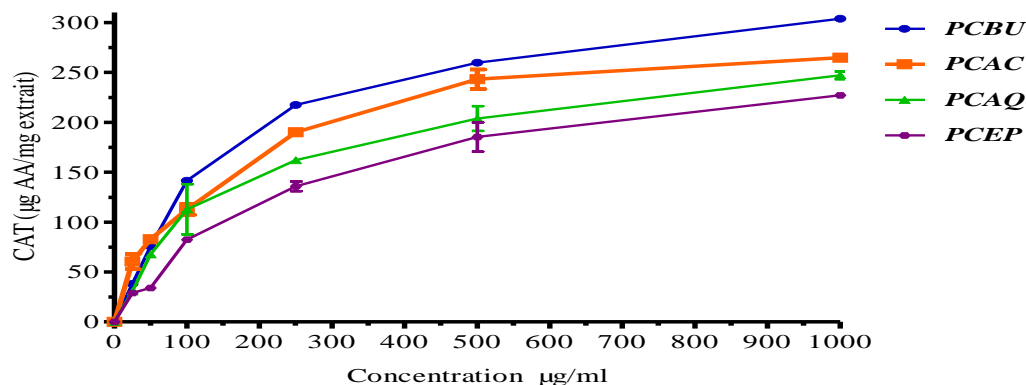


Figure 19 : Capacité antioxydante totale, exprimée en (µg EAA/mg d'extrait) des extraits de *Paronychia capitata* L.

3.1.2. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés ou bien des extraits. La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm [Es-Safi, 2012; Bougandoura & Bendimerad, 2013].

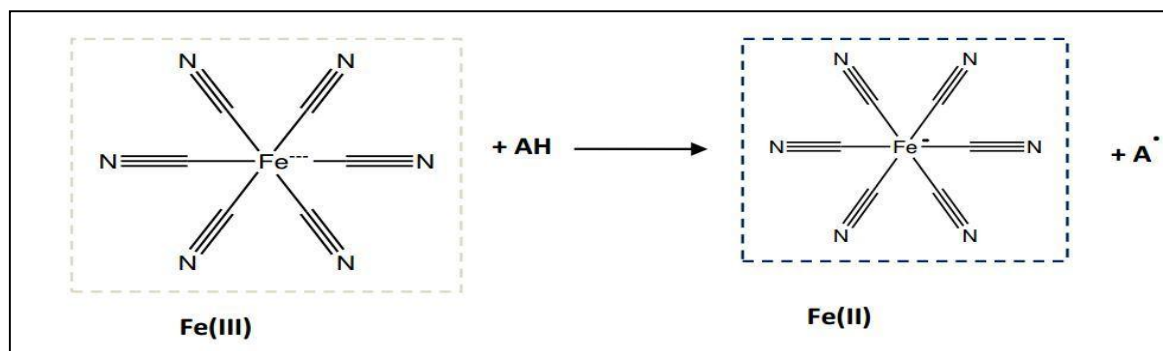


Figure 20 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH).

❖ Résultats

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique et le BHA. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel est proportionnelle à l'augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. La concentration CE50 définit la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% le Fe^{3+} du thiocyanate ferrique et utilisée comme un indice pour comparer et exprimer la capacité réductrice des substances bioactives.

RESULTATS ET DISCUSSION

A. *Eryngium campestre* L.

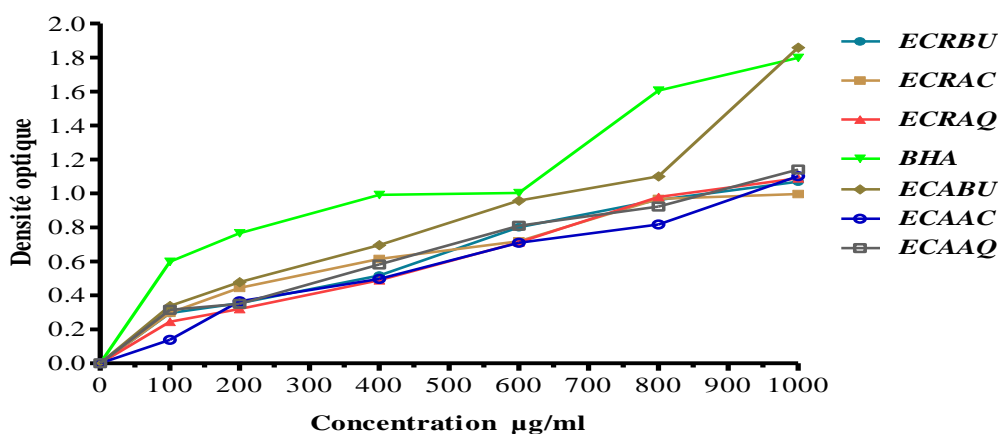
La capacité réductrice des extraits des racines (*ECRBU*, *ECRAC*, *ECRAQ*) et les extraits des parties aériennes (*ECABU*, *ECAAC*, *ECAAQ*) est montrée dans la **figure 21**, les résultats ainsi représentés montrent que la capacité réductrice est proportionnelle à la concentration de nos échantillons. Les concentrations effectrices (CE50) des extraits, rapportés dans le **tableau10** montrent que *ECABU* présente un potentiel réducteur le plus puissant avec des CE50 de $263.375 \pm 7.552 \mu\text{g/ml}$. Ce pouvoir réducteur reste inférieur à celui du BHT ($p < 0.05$) avec un CE50 de $141.540 \pm 5.797 \mu\text{g/ml}$.

Les extraits sont classés suivant les valeurs des CE50 comme suit : *ECABU* ($263.375 \pm 7.552 \mu\text{g/ml}$) < *ECAAQ* ($362.457 \pm 15.347 \mu\text{g/ml}$) < *ECRAC* ($371.222 \pm 13.082 \mu\text{g/ml}$) < *ECRBU* ($381.366 \pm 18.484 \mu\text{g/ml}$) < *ECRAQ* ($382.606 \pm 9.399 \mu\text{g/ml}$) < *ECAAC* ($436.433 \pm 2.396 \mu\text{g/ml}$).

Tableau 8 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et des différents extraits d'*E. campestre* L.

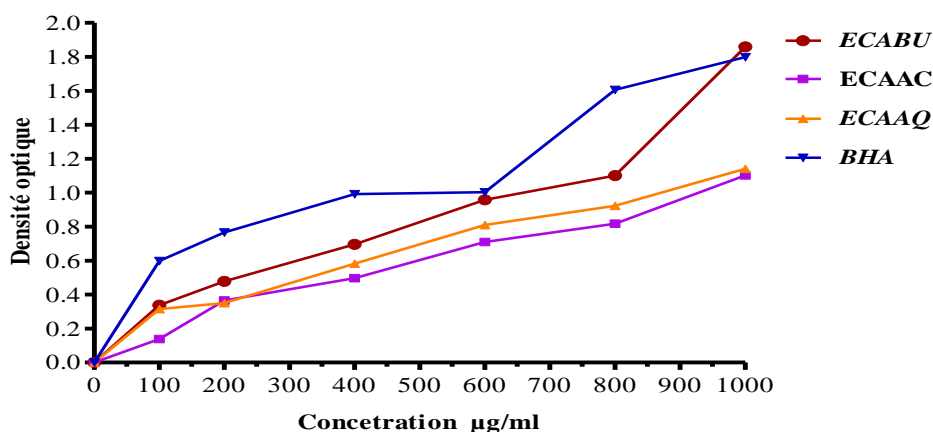
| Extraits | CE50 $\mu\text{g/ml}$ |
|--------------|------------------------|
| <i>BHA</i> | 141.540 ± 5.797^d |
| <i>ECRBU</i> | 381.366 ± 18.484^b |
| <i>ECRAC</i> | 371.222 ± 13.082^b |
| <i>ECRAQ</i> | 382.606 ± 9.399^b |
| <i>ECABU</i> | 263.375 ± 7.552^c |
| <i>ECAAC</i> | 436.433 ± 2.396^a |
| <i>ECAAQ</i> | 362.457 ± 15.347^b |

Moyenne \pm SD (n = 3). Les moyennes dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes $P < 0.05$.



A

RESULTATS ET DISCUSSION



B

Figure 21 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et les différents extraits d'*E. campestre* L. **A** : Racines, **B** : Parties aériennes.

B. *Paronychia capitata* L.

A partir des résultats obtenus **figure 22**, on remarque que le pouvoir réducteur des extraits de *P. capitata* est dose-dépendant (concentration-dépendante) c'est-à-dire que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

Les résultats présentés dans le **tableau 9** montrent que la capacité des extraits de réduire le Fer (CE50) est significativement inférieure à celle de BHA et qu'elle est solvant dépendante, c'est-à-dire que le pouvoir réducteur de l'ion ferrique est proportionnel à la polarité du solvant utilisé. Sachant que l'extrait aqueux **PCAQ** montre une activité significativement supérieure par rapport aux autres extraits ($p < 0.05$) avec une CE50 de $278.937 \pm 24.302 \mu\text{g/ml}$, suivi par l'extrait butanolique **PCBU** ; CE50 égale à $416.360 \pm 3.409 \mu\text{g/ml}$. Cependant l'extrait éther de pétrole **PCEP** présente le pouvoir le plus faible CE50 = $666.059 \pm 40.531 \mu\text{g/ml}$.

Tableau 9: Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique de différent extrait de *P. capitata* L.

| Extraits | CE50 $\mu\text{g/ml}$ |
|-------------|------------------------|
| BHA | 141.540 ± 5.797^e |
| PCBU | 416.360 ± 3.409^c |
| PCAC | 475.175 ± 19.003^b |
| PCEP | 666.059 ± 40.531^a |
| PCAQ | 278.937 ± 24.302^d |

Moyenne \pm SD (n = 3). Les moyennes dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes $P < 0.05$.

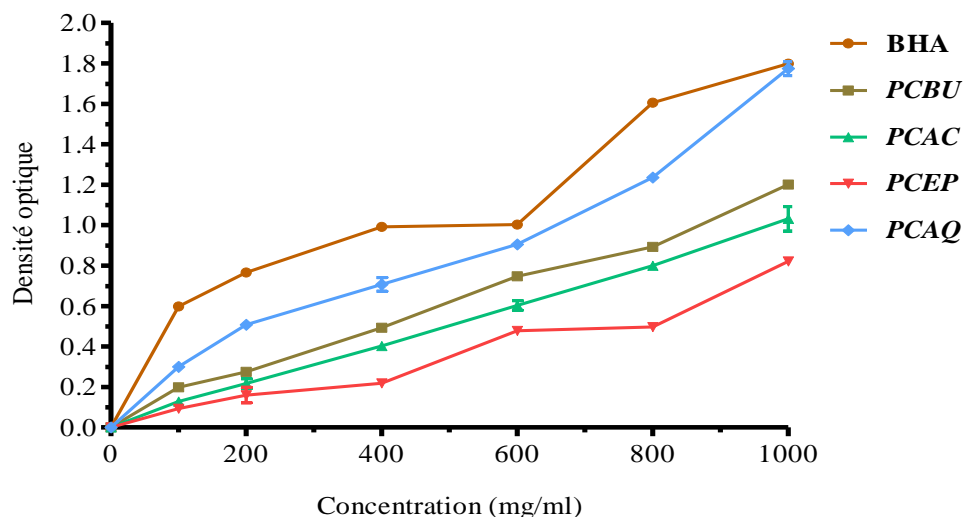


Figure 22 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique du BHA et les différents extraits des extraits de *Paronychia capitata* L.

3.1.3. Test de réduction du radical libre DPPH

Le degré de changement de couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants. Une forte diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité significative de piégeage des radicaux libres du composé testé [Es-Safi, 2012].

❖ Résultats

Les échantillons, le standard et le blanc sont préparés dans des conditions similaires. Après 30 min, la décroissance de l'absorbance est mesurée spectrophotométriquement. En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le % PI correspondant, nous avons établi une régression linéaire entre les différentes concentrations et les % PI. L'activité anti-radicalaire (trois répétitions pour chaque extrait) est exprimée en IC50 ($\mu\text{g/ml}$), la concentration nécessaire pour inhiber 50% du DPPH. Ce paramètre est calculé à partir d'une régression linéaire entre les différentes concentrations et les % PI, notons que le pourcentage d'inhibition (PI%) est inversement proportionnel à IC50.

A. *Eryngium campestre* L.

Le profil d'activité antiradicalaire de chaque extrait et la quercitine testé vis-à-vis du radical DPPH est présenté dans la **figure 23**, les résultats éminents révèlent une très bonne activité et donc tous les extraits et fractions ont la capacité de neutraliser le radical DPPH et d'une manière dose-dépendante. A partir de ces données, la concentration qui a piégé 50% (IC50) du radical

RESULTATS ET DISCUSSION

DPPH de chaque extrait a été déterminée **tableau 10** ; en comparaison avec l'antioxydant standard, les extraits testés s'avèrent moins actifs.

Tableau 10 : Activité antiradicalaire (piégeage de DPPH) des extraits d'*E. campestre* L.

| Extraits | IC50 (µg/ml) |
|-------------------|-----------------------------|
| <i>ECRAC</i> | 16.522 ± 1.211 ^c |
| <i>ECRBU</i> | 19.266 ± 0.251 ^b |
| <i>ECRAQ</i> | 36.116 ± 1.273 ^a |
| <i>ECAAC</i> | 20.052 ± 0.522 ^b |
| <i>ECABU</i> | 16.140 ± 0.256 ^c |
| <i>ECAAQ</i> | 36.717 ± 1.022 ^a |
| <i>Quercétine</i> | 01.149 ± 0.0004 |

Moyenne ± SD (n = 3). Les moyens dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différents P <0.05.

Le **tableau 10** montre nettement que les extraits butanoliques *ECRBU* et *ECABU* possèdent une activité antioxydante significativement plus efficace comparée aux fractions étudiées qui présentent une activité notable. L'ordre d'efficacité des fractions est le suivant :

ECABU IC50=16.140 ± 0.256 µg/ml < *ECRAC* IC50=16.522 ± 1.211 µg/ml < *ECRBU* IC50=19.266 ± 0.251 µg/ml < *ECAAC* IC50=20.052 ± 0.522 µg/ml < *ECRAQ* IC50=36.116 ± 1.273 µg/ml < *ECAAQ* IC50=36.717 ± 1.022 µg/ml. A la lumière des résultats de l'analyse statistique par le test ANOVA one way suivi par le test Newman-Keuls nous pouvons conclure que les extraits d'*E. campestre* (racines et parties aériennes) sont classés en trois groupes significativement différents comme suit :

- **Groupe 1** les extraits avec une activité antiradicalaire puissante *ECRAC*, *ECABU*
- **Groupe 2** les extraits avec une activité antiradicalaire modérée *ECRBU*, *ECAAC*
- **Groupe 3** les extraits avec une activité antiradicalaire faible *ECAAQ*, *ECRAQ*

RESULTATS ET DISCUSSION

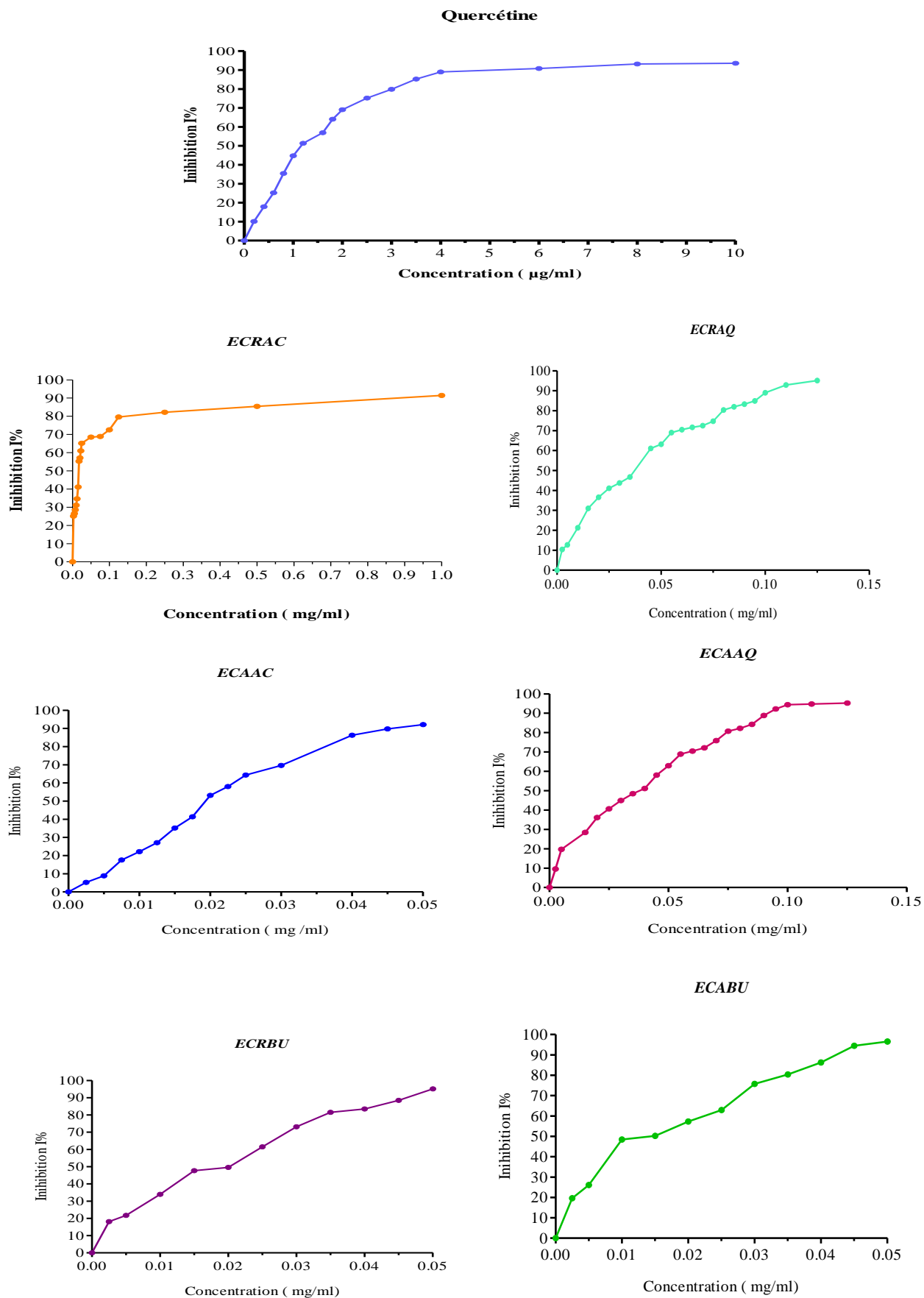


Figure 23 : Profils de l'activité antiradicalaire (test DPPH) des extraits d'*E. campestre* bruts et du standard.

RESULTATS ET DISCUSSION

B. *Paronychia capitata* L.

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 24**. On observe que l'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH par les extraits et fractions est dose -dépendante. Les résultats de cette activité sont exprimés par le paramètre IC50 et figurent dans le **tableau 11**. L'extrait (ou fraction) possédant la valeur IC50 la plus basse, exerce l'activité antiradicalaire la plus puissante. Selon le **tableau 11**, tous les extraits et fractions sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'un extrait à un autre.

La comparaison entre les extraits montre que l'extrait butanolique **PCBU** présente une capacité de piégeage du radical DPPH plus efficace que le reste des extraits IC50 = $08.667 \pm 0.577 \mu\text{g/ml}$, alors que l'activité la plus faible dans l'ensemble est observée dans l'extrait éther de pétrole **PCEP** avec IC50 égale à $24.046 \pm 1.000 \mu\text{g/ml}$.

L'activité antioxydante par la même méthode et dans les mêmes conditions est mesurée pour la quercétine, pris comme antioxydant de référence. Ce dernier montre une activité antiradicalaire très puissante et nettement supérieure aux extraits de *P. Capitata* avec une IC50 de l'ordre de $01.149 \pm 0.0004 \mu\text{g/ml}$.

A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur l'activité antiradicalaire des extraits de *Paronychia capitata* L. Pour cela, il est difficile, voire impossible de comparer nos résultats avec des travaux antérieurs.

Tableau 11 : Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits de *Paronychia capitata* L.

| Extraits | IC50 ($\mu\text{g/ml}$) |
|-------------------|---------------------------|
| PCBU | 08.667 ± 0.577^d |
| PCAC | 11.333 ± 0.577^c |
| PCEP | 24.046 ± 1.000^a |
| PCAQ | 16.000 ± 0.001^b |
| Quercétine | 01.149 ± 0.0004 |

Moyenne \pm SD (n = 3). Les moyennes dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes P < 0.05.

RESULTATS ET DISCUSSION

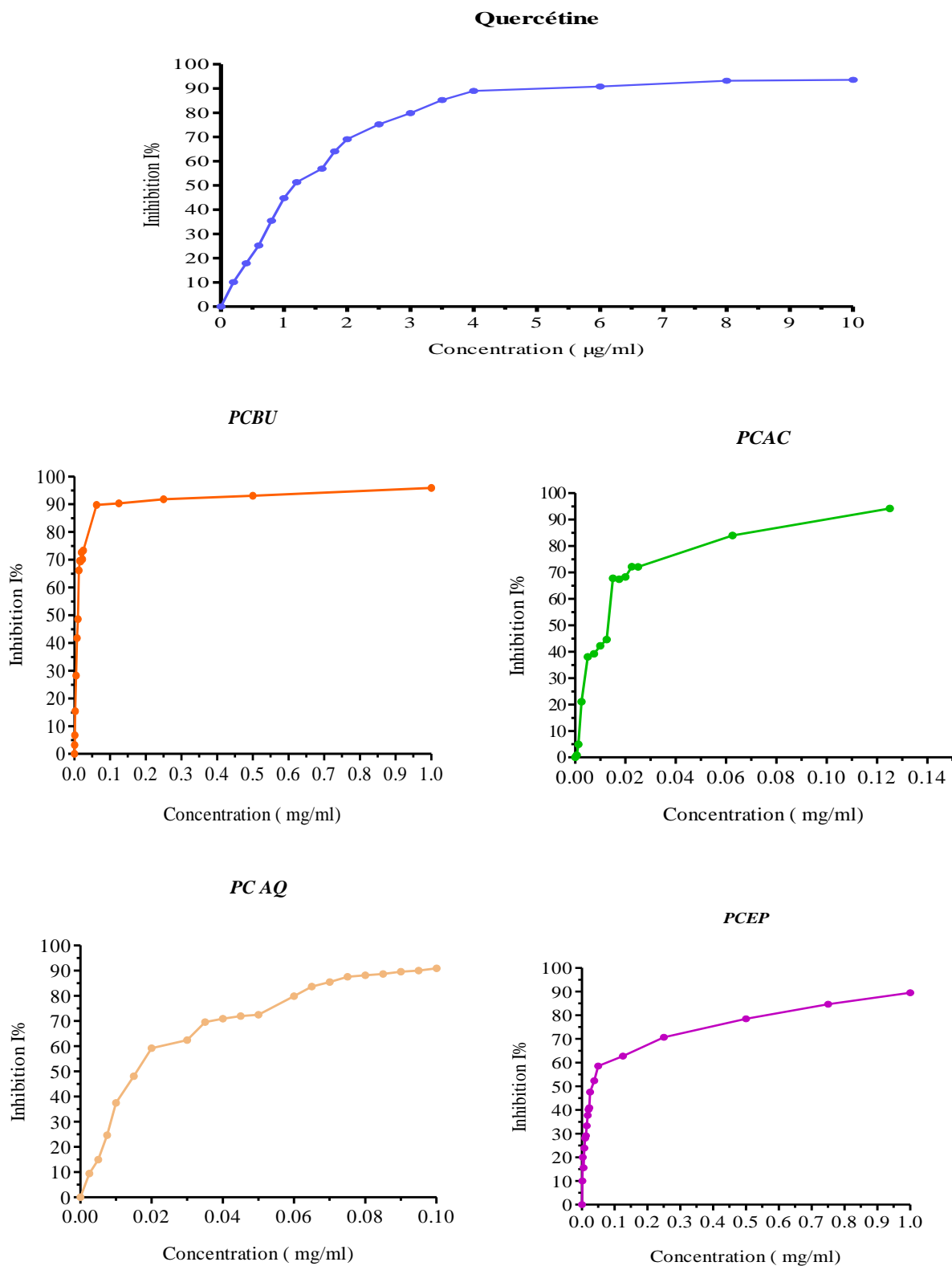


Figure 24 : Profils de l'activité antiradicalaire (test DPPH) des extraits de *P. capitata* et du standard.

3.1.4. Essai de blanchissement de β -carotène

La cinétique du blanchissement ou de décoloration de la β -carotène en présence et en absence des extraits des deux plantes et de BHT (d'antioxydant standard) a été suivie pendant 48 heures. Et les pourcentages d'inhibition de la peroxydation lipidique (I%) sont calculés pour chaque extrait ainsi que pour le BHT après 48h.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Le blanchissement du β -carotène suivi pendant 24 heures, a été ralenti fortement durant toute cette période en présence de tous les extraits des racines et des parties aériennes et particulièrement les deux extraits aqueux *ECRAQ* et *ECRAC* (Figure 25, tableau 12). L'évaluation de l'activité des extraits /fractions est comparée à celle du BHT dont le pourcentage d'inhibition est de 99.167 ± 1.056 % à la même concentration (2mg/ml).

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est celui d'*ECRAQ* (89.784 ± 1.145 %), comparable à celui du BHT et significativement différent par rapport aux autres extraits ($p < 0.05$), suivi de *ECRAC* (77.957 ± 3.501 %) ($p < 0.05$), *ECAAQ* (75.267 ± 2.802 %) ($p < 0.05$). Il n'existe pas de différence significative entre l'activité du reste des extraits *ECAAC* (51.035 ± 1.057 %), *ECABU* (46.190 ± 0.310 %) et *ECRBU* (46.898 ± 3.492 %) ($P > 0.05$) qui présentent une activité antioxydante moyenne.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits d'*Eryngium campestre* L. du Kosovo investiguée par Nebija et son équipe (2009) utilisant le test de blanchissement du bêta-carotène montrent que, l'activité antioxydante des extraits d'*Eryngium campestre* était faible dans le système β -carotène / acide linoléique avec des pourcentage d'inhibition de l'ordre de 36% (partie aérienne) et 39% (racine) après 120 mn d'incubation.

Tableau 12: Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène des extraits d'*E. campestre* L. et du BHT.

| Extraits | Activité antioxydante (Inhibition %) |
|--------------|--------------------------------------|
| <i>ECRAC</i> | 77.957 ± 3.501 ^b |
| <i>ECRBU</i> | 46.898 ± 3.492 ^d |
| <i>ECRAQ</i> | 89.784 ± 1.145 ^a |
| <i>ECAAC</i> | 51.035 ± 1.057 ^d |
| <i>ECABU</i> | 46.190 ± 0.310 ^d |
| <i>ECAAQ</i> | 75.267 ± 2.802 ^c |
| <i>BHT</i> | 99.167 ± 1.056 |

RESULTATS ET DISCUSSION

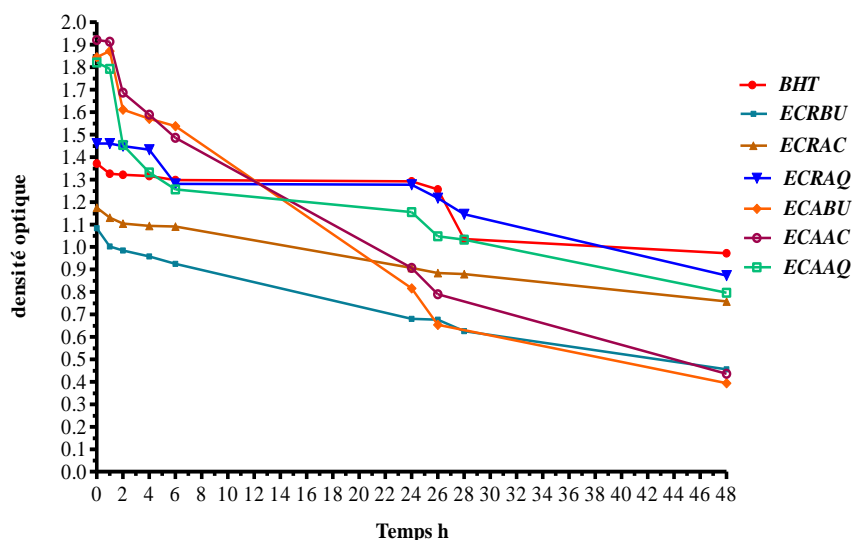
Moyenne \pm SD (n = 3). Les moyennes dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes P < 0.05.

B. *Paronychia capitata* L.

A partir des courbes de cinétique de blanchissement du β -carotène présentées dans la **figure 26** et les pourcentages d'inhibition exercé par les extraits de *P. capitata* et en comparaison avec le contrôle positif (BHT) à la dose test de 2 mg/ml (**tableau 13**) après une durée de 48 h d'incubation. On remarque que, la plupart des échantillons ont démontré une activité modeste par rapport au BHT (99.167 ± 1.056 %). Seul l'extrait **PCBU** exerce un effet préventif significatif (p < 0.05) contre l'oxydation du β -carotène par les radicaux peroxydes (84.916 ± 2.401 %) en comparaison avec les autres extraits durant 48h d'incubation.

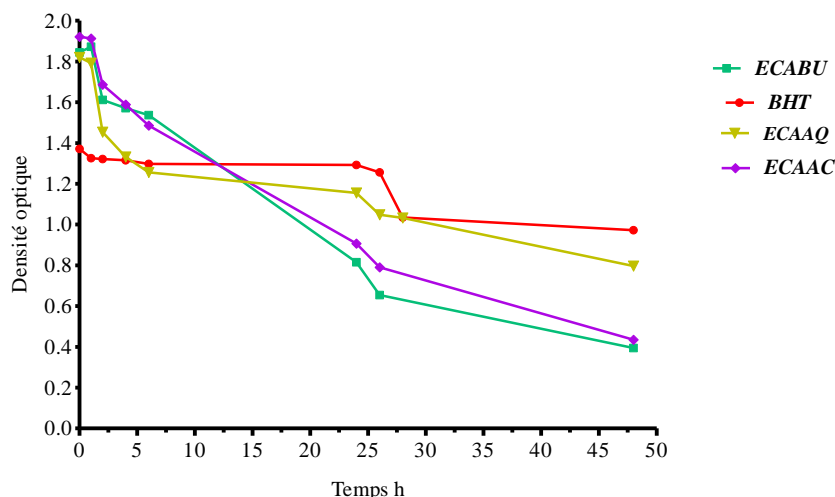
Le reste des extraits sont classés en deux groupes basés sur les résultats de l'analyse statistique (test de Newman-Keuls) :

- Les extraits avec une activité antioxydante modéré ; **PCAC** et **PCEP** pourcentages d'inhibitions égale à (74.082 ± 1.470 %, 66.540 ± 5.182 %) respectivement.
- L'extrait **PCAQ** qui montre l'activité la plus faible (42.852 ± 2.779 %).



A

RESULTATS ET DISCUSSION



B

Figure 25 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence des extraits d'*E. campestre* L. (**A** : Racines, **B** : Parties aériennes) et du BHT.

Tableau 13 : Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène des extraits d'*P. capitata* L. et du BHT.

| Extraits | Activité antioxydante (Inhibition %) |
|-------------|--------------------------------------|
| <i>PCBU</i> | 84.916 ± 2.401^a |
| <i>PCAC</i> | 74.082 ± 1.470^b |
| <i>PCEP</i> | 66.540 ± 5.182^b |
| <i>PCAQ</i> | 42.852 ± 2.779^c |
| <i>BHT</i> | 99.167 ± 1.056 |

Moyenne \pm SD (n = 3). Les moyennes dans la même colonne et ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes $P < 0.05$.

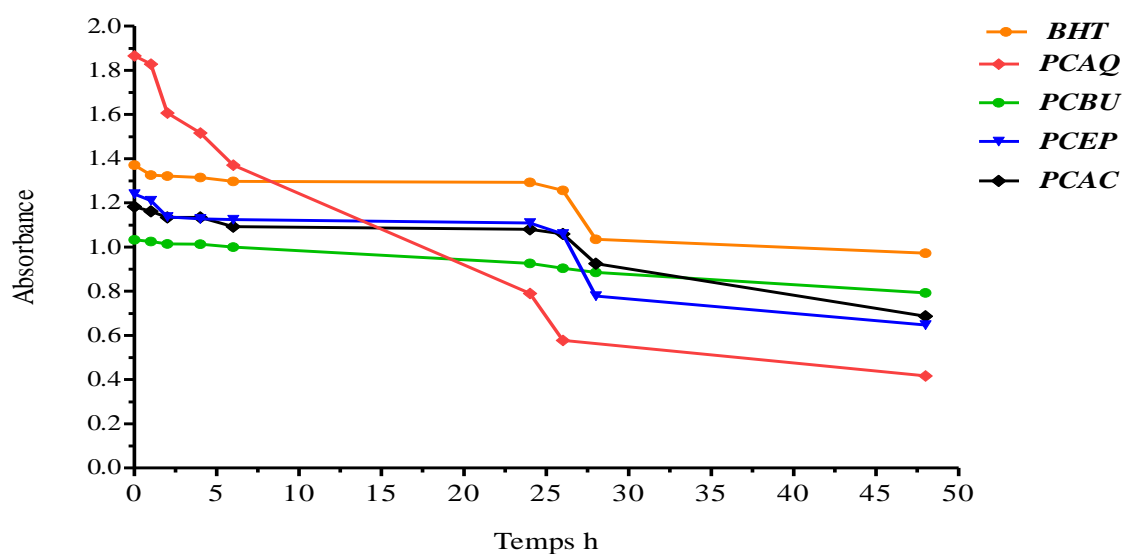


Figure 26 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence des extraits de *P. capitata* L. et du standard BHT.

❖ Discussion

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou l'un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, les carences nutritionnelles (en vitamines et oligo-éléments), la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxication hépatique [Favier, 2003 ; Lerverve, 2009 ; Uttara *et al.* 2009].

L'étude menée par Dall'Acqua et ses collaborateurs (2008) montre que la concentration effectrice de l'extrait méthanolique des racines d'*Eryngium campestre* L. « originaire de Sardaigne » est de l'ordre de $216.0 \pm 4.0 \mu\text{g} / \text{ml}$. D'autre part, l'activité antioxydante in vitro des extraits de la partie aérienne et de la racine d'*Eryngium campestre* L. du Kosovo a été investiguée par Nebija et son équipe (2009). Dans cette étude l'activité antioxydante a été déterminée par quatre systèmes de test différents, dans le test DPPH, l'extrait d'éthanol de la racine d'*E. campestre* a montré une activité de balayage des radicaux plus élevée ($\text{IC}_{50} = 0.72 \text{ mg ml}^{-1}$) par rapport à l'extrait de la partie aérienne ($\text{IC}_{50} = 1.14 \text{ mg ml}^{-1}$). Ces valeurs sont nettement supérieures aux valeurs obtenues avec les différents extraits de notre recherche. D'autre part, l'extrait d'éthanol de partie aérienne a montré une capacité d'inhibition plus forte sur la production de radical hydroxyle dans le système désoxyribose que l'extrait de racine (50% et 45%, respectivement). Cependant, les deux extraits d'éthanol d'*E. Campestre* ont montré une faible activité antioxydante dans le dosage du blanchiment du β -carotène ainsi qu'une faible capacité d'inhibition de la peroxydation spontanée des lipides dans l'homogénat de foie de rat [Nebija *et al.* 2009].

Il semble donc important de tester l'effet thérapeutique des molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse qui peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles [Favier, 2006]

Les antioxydants sont des molécules exogènes ou endogènes qui agissent contre toute forme de stress oxydatif et ses effets néfastes sur le système cellulaire. Ils neutralisent les ROS et d'autres types de radicaux libres produits à la suite du stress oxydatif [Al-Jaber *et al.*

RESULTATS ET DISCUSSION

2011;Uttara *et al.* 2009; Sulaiman, 2013]. Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène [Leverve, 2009; Kishan, 2013].

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés antioxydantes des plantes choisies. D'après nos connaissances et à ce jour-là, il n'y pas un article reportant les activités biologiques de *P. capitata*.

Sait *et al.* (2015) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits : l'extrait éthanolique, décoction et infusion de parties aériennes de *P. argentea* par plusieurs méthodes dont celle de décoloration du β -carotène, FRAP et les essais de piégeage des radicaux libres (DPPH• et NO•). Ils ont trouvé pour le test du FRAP ; l'activité de tous les échantillons dépendait de la dose. La décoction et l'extrait éthanolique présentaient un pouvoir réducteur élevé (CE50 = 178 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 188 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement) et la perfusion (CE50 = 357 $\mu\text{g}/\text{ml}$) celle-ci est relativement plus inférieure à celle trouvée pour l'ensemble de nos extraits de *P. capitata*. Cependant, la décoction et la perfusion montrent une capacité élevée à inhiber la peroxydation lipidique de l'acide linoléique, la décoction présente l'activité la plus élevée (80%) suivie de l'infusion (72.4%) et de l'extrait éthanolique (39.3%), ces résultats sont comparables aux résultats de cette investigation. La capacité de piégeage des radicaux DPPH de la perfusion (IC50 = 144,92 $\mu\text{g}/\text{ml}$), la décoction (IC50 = 27,38 $\mu\text{g}/\text{ml}$), l'extrait éthanolique qui présente l'activité la plus faible avec une valeur (IC50 de 208,33 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est significativement plus faible que celle des extraits de *P. capitata* testés dans notre étude.

Comprendre l'activité des polyphénols comme antioxydants est beaucoup plus complexe car les polyphénols peuvent agir selon divers mécanismes : (1) non seulement ils neutralisent les radicaux libres (piégeage des radicaux libres)[Es-Safi, 2012;Charles, 2013] ; mais aussi (2) en chélatant les ions métalliques [Al-Jaber *et al.* 2011; Hider *et al.* 2001] et enfin (3) l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques qui est un mécanisme important de l'effet antioxydant des polyphénols. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet, par formation de complexe inhibiteur-enzyme [Sulaiman, 2013].

RESULTATS ET DISCUSSION

En général, les activités antioxydantes et biologiques des flavonoïdes dépendent de leur structure chimique. En général, la capacité antioxydante et l'activité antiradicalaire efficaces sont influencées par un certain nombre de facteurs présenté ci-dessus (**figure 29**)[Cook & Samman, 2006; Gülçin, 2012; Shashank &Abhay, 2013; Salem Alrawaiq & Abdullah, 2014].

- 1) La présence d'un groupe hydroxyle en position trois (3-OH) du cycle C. Les aglycones flavonoïdes qui ont un groupe 3-OH comme la quercétine, la catéchine et la morine sont des antioxydants puissants comparés à ceux qui n'ont pas de substitution 3-OH comme la diosmétine, l'apigénine (flavones) et la naringénine (flavanone).
- 2) Une double liaison entre les carbones deux et trois ($C2 = C3$) de cycle C est également d'une grande importance pour la délocalisation d'un électron non apparié. L'hydrogénation de cette liaison diminue les effets antioxydants.
- 3) Le groupe carbonyle ($C = O$) à C4 de cycle C est nécessaire pour l'activité antioxydante dans certaines études. La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe 4-oxo est responsable de la délocalisation des électrons du cycle C, ce qui améliore encore l'activité antiradicalaire.
- 4) Le nombre et l'arrangement spatial des groupes hydroxyles des substituants est peut être un grand déterminant de l'activité antioxydante que le squelette de flavonoïde seul. En accord avec la plupart des antioxydants polyphénoliques, la configuration et le nombre total de groupes hydroxyle influent sensiblement sur plusieurs mécanismes de l'activité antioxydante. La capacité de piégeage des radicaux libres est principalement attribuée aux réactivités élevées des substituants hydroxyles [Heim *et al.* 2002]. L'importance des substituants poly-hydroxylés sur les cycles A et B a été démontrée en comparant la quercétine, la catéchine, la morine avec l'apigénine, l'hespéridine et la 3-hydroxyflavone. Dans le premier groupe, chacun des flavonoïdes a entre quatre et six substitutions hydroxyles tandis que le dernier groupe a entre un et trois groupes hydroxyles. L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles des flavonoïdes augmente avec le nombre de groupes hydroxyles substitués sur le cycle B (l'introduction d'un second groupe hydroxy dans les positions ortho ou para augmente l'activité antioxydante), et diminue rapidement lorsque le nombre de groupes hydroxyles diminue.
- 5) La position, la structure et le nombre total de fragments des glucides dans les flavonoïdes (flavonoïdes glycosides) jouent un rôle important dans l'activité

RESULTATS ET DISCUSSION

antioxydante. Les aglycones sont des antioxydants plus puissants que leurs glycosides correspondants. Il y a des rapports qui suggèrent que les aglycones flavonoïdes tels que la quercétine, l'apigénine, la naringénine, la diosmétine,...etc. sont plus efficaces pour inhiber des radicaux libres que leurs glycosides correspondants. La fraction de sucre réduit l'efficacité antioxydante des groupes hydroxyles adjacents en raison de l'encombrement stérique.

- 6) Le potentiel de chélation des métaux qui dépend fortement de l'arrangement des hydroxyles et du groupe carbonyle autour de la molécule, les sites de liaison proposés pour les métaux à flavonoïdes sont la fraction catéchol dans le noyau B, les groupes 3-hydroxyle (3-OH), la fonction 4-oxo dans le cycle C et 5-hydroxyle (5-OH) cycle A. Les flavonoïdes ayant à la fois un groupe carbonyle en C-4 et un groupe hydroxyle en C-3 ou C-5, tels que la rutine et la quercétine sont de forts chélateurs.
- 7) La configuration de l'hydroxyle du cycle B est le déterminant le plus important du piégeage des ROS et RNS. Les groupes hydroxyles sur l'anneau B donnent de l'hydrogène et un électron aux radicaux hydroxyles, peroxy et peroxy-nitrite, les stabilisants et donnent naissance à un radical flavonoïde relativement stable. Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piègeurs des radicaux libres. A cause la présence de la structure catéchol (3', 4'-dihydroxy) sur le noyau aromatique B ; qui augmente fortement l'activité antioxydante. Cette disposition est une caractéristique saillante des capteurs les plus puissants des radicaux libres. la présence de multiples groupes hydroxyles dans le cycle B, renforcent leur activité antioxydante. Les hydroxyles du cycle B sont les principaux sites actifs dans l'interruption de la chaîne d'oxydation.

Les métaux à effet redox tels que le fer et le cuivre sont nécessaires à la fonction cellulaire normale en raison de leur capacité à participer à des réactions de transfert d'électrons. Le fer, en particulier, participe à plusieurs réactions biochimiques vitales, y compris la synthèse d'ADN, d'ARN et de protéines ; sert de cofacteur pour plusieurs réactions enzymatiques. En même temps, le fer libre est cytotoxique en raison de sa capacité à réagir avec l'oxygène moléculaire habituellement abondant dans les cellules métaboliquement actives pour générer des radicaux hydroxyles et des anions hydroxyles par la réaction de Fenton (**figure 30**)[Uttara *et al.* 2009; Singh *et al.* 2014].

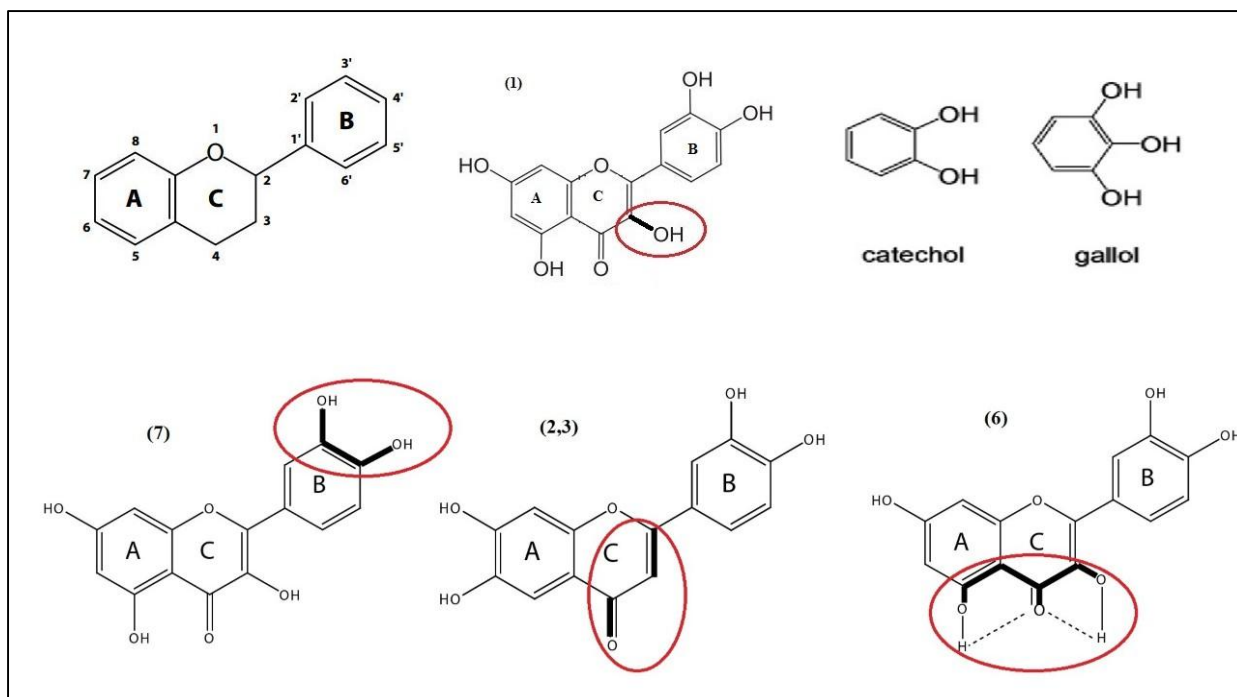


Figure 27 : Les facteurs influencent la capacité antioxydante et l'activité antiradicalaire des flavonoïdes [Horáková, 2011; Perron *et al.* 2011].

3.1.5. Etude des corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes

Dans cette partie de l'étude, on a essayé de mettre en évidence la relation entre les activités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits d'*E. campestre* et *P. capitata* étudiés.

L'étude de cette relation a été réalisée par la mesure du coefficient de corrélation linéaire, dite de Bravais-Pearson (ou de Pearson ; ρ). Ce dernier est utilisé afin de mesurer l'intensité de la liaison entre deux caractères quantitatifs (x, y). Ce coefficient varie entre -1 et +1. Un signe négatif indique que (y) varie en sens inverse de (x), on parle alors de corrélation négative. Si le coefficient est proche de 0, les deux variables sont linéairement indépendantes tandis qu'une liaison linéaire est d'autant plus marquée que le ρ s'approche de 1 ou de -1. En outre, la corrélation d'une variable avec elle-même est égale à 1 [Da Silva *et al.* 2011; Rakotomalala 2015].

1. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes des extraits d'*Eryngium campestre* L.

1.1. Les extraits des racines *ECR*

Dans le cas des extraits des racines d'*E. campestre*, les résultats obtenus mettent en évidence une forte corrélation positive entre le pourcentage d'inhibition test de β -carotène (I% β -carotène) et les teneurs en polyphénols totaux (PPT) et en flavonoïdes totaux (FVT). Les coefficients de corrélation sont de 0.860 et de 0.745 respectivement. Une corrélation inférieure à celle du I% β -carotène et les teneurs en PPT, en FT a été observée entre les IC50 DPPH et la teneur en PPT, ainsi que CE50 FRAP et la teneur en FVT ; cette corrélation est confirmée par des indices de corrélations de 0.129 et de 0.545 respectivement.

En revanche, une corrélation inverse (négative forte) est présente entre CE50 FRAP et la teneur en PPT ($\rho = -0.636$) et entre CAT et les teneurs en PPT, en FT $\rho = -0.660$, $\rho = -0.915$ respectivement. Les résultats sont présentés dans le **tableau 14**.

1.2. Les extraits des parties aériennes *ECA*

Le résultat obtenu nous montre l'existence d'une bonne corrélation linéaire (positive forte) entre CE50 FRAP et les teneurs en PPT, en FT ; les coefficients de corrélation sont de 0.820 et de 0.774 respectivement. Aussi, entre IC50 DPPH, I% β -carotène et la teneur en FVT $\rho = 0.813$, $\rho = 0.799$ respectivement. Par contre, CAT montre une corrélation négative forte avec une teneur en FVT $\rho = -0.961$, aucune corrélation n'est remarquée entre CAT et la teneur en PPT $\rho = 0.003$. Les résultats sont présentés dans le **tableau 15**.

2. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes des extraits de *Paronychia capitata* L.

L'analyse statistique a montré l'existence d'une corrélation linéaire positive faible entre IC50 DPPH, CE50 FRAP, I% β -carotène et la teneur en PPT où les coefficients de corrélation sont de l'ordre de 0.180, 0.443 et 0.481 respectivement. Néanmoins, ces derniers montrent une corrélation négative forte avec la teneur en FVT $\rho = -0.753$, $\rho = -0.834$, $\rho = -0.334$ respectivement. En outre, une corrélation négative est observée entre CAT et les teneurs en PPT, en FT. Les résultats sont présentés dans le **tableau 16**.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 14 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits des racines d'*E. campestre* **ECR**.

| Paramètres | <i>Polyphénols totaux</i> | <i>Flavonoïdes totaux</i> | <i>IC50 DPPH</i> | <i>CE50 FRAP</i> | <i>I% β-carotène</i> | <i>CAT</i> |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------|------------------|---------------------------------------|------------|
| Polyphénols totaux | 1,000 | | | | | |
| Flavonoïdes totaux | 0,301 | 1,000 | | | | |
| IC50 DPPH | 0,129 | 0,984 | 1,000 | | | |
| CE50 FRAP | -0,636 | 0,545 | 0,684 | 1,000 | | |
| I% β -carotène | 0,860 | 0,745 | 0,616 | -0,153 | 1,000 | |
| CAT | -0,660 | -0,915 | -0,830 | -0,161 | -0,951 | 1,000 |

| Valeur de ρ | $\rho \leq -0.153$ | $0.129 \leq \rho \leq 0.545$ | $0.545 < \rho \leq 0.684$ | $\rho > 0.684$ |
|---------------------|--------------------|------------------------------|---------------------------|----------------|
| Type de corrélation | Négative | Positive faible | Positive moyenne | Positive forte |

Tableau 15 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits des parties aériennes d'*E. campestre* **ECA**.

| Paramètres | <i>Polyphénols totaux</i> | <i>Flavonoïdes totaux</i> | <i>IC50 DPPH</i> | <i>CE50 FRAP</i> | <i>I% β-carotène</i> | <i>CAT</i> |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------|------------------|---------------------------------------|------------|
| Polyphénols totaux | 1,000 | | | | | |
| Flavonoïdes totaux | 0,273 | 1,000 | | | | |
| IC50 DPPH | -0,339 | 0,813 | 1,000 | | | |
| CE50 FRAP | 0,820 | 0,774 | 0,260 | 1,000 | | |
| I% β -carotène | -0,361 | 0,799 | 1,000 | 0,237 | 1,000 | |
| CAT | 0,003 | -0,961 | -0,942 | -0,570 | -0,933 | 1,000 |

| Valeur de ρ | $\rho \leq -0.339$ | $P \approx 0$ | $0.237 \leq \rho \leq 0.774$ | $\rho \geq 0.774$ |
|---------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|-------------------|
| Type de corrélation | Négative | Aucune corrélation | Positive faible | Positive forte |

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 16 : Coefficients de corrélation linéaire (ρ) entre les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits de *P. capitata* **PC**

| Paramètres | Polyphénols totaux | Flavonoïdes totaux | IC50 DPPH | CE50 FRAP | I% β -carotène | CAT |
|----------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|----------------------|-------|
| Polyphénols totaux | 1,000 | | | | | |
| Flavonoïdes totaux | -0,245 | 1,000 | | | | |
| IC50 DPPH | 0,180 | 0,074 | 1,000 | | | |
| CE50 FRAP | 0,443 | -0,753 | 0,586 | 1,000 | | |
| I% β -carotène | 0,481 | -0,834 | -0,465 | 0,419 | 1,000 | |
| CAT | -0,003 | -0,334 | -0,959 | -0,336 | 0,697 | 1,000 |

| Valeur de ρ | $\rho \leq -0.246$ | $\rho \approx 0$ | $0.180 \leq \rho < 0.586$ | $0.586 \leq \rho < 0.697$ | $\rho \geq 0.697$ |
|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------|
| Type de corrélation | Négative | Aucune corrélation | Positive faible | Positive moyenne | Positive forte |

3.2. L'activité antibactérienne et antifongique

La présente étude se propose alors comme objectif d'évaluer les activités antimicrobiennes de deux plantes *E. campestre* et *P. capitata* de la flore Algérienne. Les études antimicrobiennes ont été réalisées contre une série de micro-organismes, ce qui nous permet d'envisager de découvrir les extraits à large spectre. La plupart des souches ont été récemment isolées d'infections humaines. De plus, nous avons également inclus certaines souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) à titre de comparaison.

3.2.1. Test de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion en milieu gélosé « méthode des disques » a été utilisée pour évaluer les activités antibactériennes des différents extraits. Des gammes de concentrations des différents extraits des deux plantes ont été effectuées selon une série de dilutions au demi allant de 150 mg/ml à 37.5 mg/ml. Le méthanol et l'eau ont été utilisés comme diluant (contrôle négatif) pour les extraits obtenus avec les solvants organiques (*ECRBU*, *ECRAC*, *ECABU*, *ECAAC*, *PCBU*, *PCAC*, *PCEP*) et les extraits aqueux (*ECRAQ*, *ECAAQ*, *PCAQ*) respectivement. La gentamicine (10µg) est utilisée comme témoin positif.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Ce travail consiste à l'évaluation des activités antibactériennes de six (06) extraits d'*E. campestre* pour vérifier de façon scientifique les vertus prônées par l'utilisation traditionnelle de cette plante ainsi que la comparaison de cette activité entre les extraits des racines *ECR* et les extraits des parties aériennes *ECA*.

Les extraits d'*E. campestre* ont été testés contre huit souches bactériennes ; de références ou bien des souches cliniques. Les résultats présentés dans le **tableau 17** montrent que les extraits ont des activités antimicrobiennes de degrés variables contre les souches des différents microorganismes testés.

En général, les extraits d'*Eryngium campestre* présentent une activité antibactérienne modérée contre les souches bactériennes soit GRAM+ ou GRAM-, cette activité est dose dépendante. Les résultats des diamètres d'inhibition obtenus varient de 6.126 à 17.196 mm pour les extraits de la partie aérienne *ECA* et de 6.140 à 13.477 mm pour les extraits des racines *ECR*, les diamètres générés par les extraits, sont nettement inférieurs à ceux produits par la gentamicine.

Pour l'ensemble des extraits, nous remarquons que l'extrait butanolique des racines *ECRBU* montre une activité plus élevée que le reste des extraits avec un maximum d'activité

RESULTATS ET DISCUSSION

contre *S. aureus* ATCC 25923 avec une zone d'inhibition égale à 13.477 ± 0.733 mm. De plus, les résultats montrent l'absence totale d'inhibition de la croissance bactérienne pour tous les extraits contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*. En outre, les extraits aqueux soit des racines **ECRAQ** ou bien des parties aériennes **ECAAQ** et l'extrait butanolique des parties aériennes **ECABU** sont non actifs contre la plupart des souches bactériennes testées dans notre étude sauf contre *Klebsiella pneumoniae*, ils présentent une activité antibactérienne modeste. Cependant, **ECAAQ** présente une forte activité comparable à celle du contrôle positif contre *E. coli* ATCC35218 avec une zone d'inhibition de l'ordre de 17.196 ± 0.097 mm. D'une manière générale, nos résultats indiquent que les extraits des racines ont une activité antibactérienne plus intéressante que les extraits des parties aériennes.

Les études antérieures des activités antibactériennes d'*Eryngium campestre* L. n'ont été menées que sur les huiles essentielles. Leur activité inhibitrice de neuf souches différentes de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) a été testée par Çelik *et al.* (2011) par la méthode de diffusion sur disque agar. La plante a démontré une activité inhibitrice modeste avec des diamètres variés de 5 à 10 mm.

B. *Paronychia capitata* L.

Les résultats présentés dans le **tableau 18** indiquent l'absence d'activité antimicrobienne de notre plante *P. capitata* contre les 4 souches suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et clinique, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*. Néanmoins, l'extrait acétate d'Ethel **PCAC** manifeste une bonne activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, cette activité est dose dépendante ou les zones d'inhibition varient de 7.797 à 12.943 mm. De plus, **PCAC** démontre une activité modeste contre les souches : *Escherichia coli* ATCC 35218 et *Klebsiella pneumoniae* avec un maximum d'activité à la concentration de 150 mg/ml indiquée par une zone d'inhibition égale à 9.320 mm. En revanche, aucune publication sur *Paronychia capitata* L., n'a été constatée. Nos résultats obtenus, constituent donc une première au niveau de l'activité antibactérienne modérée de cette espèce. A l'exception d'utilisation traditionnelle aucune autre information chimique ou biologique de cette espèce n'est disponible dans la littérature.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes extraite d'*E. campestre* relatives aux différentes souches bactériennes selon la méthode de diffusion des disques. **A** : parties aériennes, **B** : racines.

A

| Souche/extrait | Gentamicine | ECABU | | | ECAAC | | | ECAAQ | | |
|--|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Concentration (mg/ml) | 10µg/disque | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 | 21.3±0.212 | / | / | / | 8.113±0.190 | 7.280±0.325 | 6.640±0.121 | 7.180±0.190 | 6.980±0.377 | 17.196±0.097 |
| <i>Escherichia coli</i> Clinique | 12.925±1.166 | / | / | / | 9.580±0.504 | 8.010±0.225 | 6.736±0.105 | / | / | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 22.05±0.070 | / | / | / | 8.003±1.758 | 7.253±0.702 | 6.720±0.851 | / | / | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Clinique | 26.275±0.459 | / | / | / | 7.490±0.266 | 6.386±0.025 | 6.223±0.135 | / | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 11.35±0.353 | / | / | / | 8.336±1.487 | 7.253±0.702 | 6.810±0.754 | / | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Clinique | 16.325±0.035 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Proteus mirabilis</i> Clinique | 26.625±0.883 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> Clinique | 15 ± 0.02 | 6.783±0.015 | 6.146±0.087 | 6.486±0.051 | 7.010±0.036 | 6.363±0.083 | 6.126±0.110 | 6.840±0.340 | 6.627±0.094 | 6.800±0.065 |

B

| Souche/extrait | Gentamicine | ECRBU | | | ECRAC | | | ECRAQ | | |
|--|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Concentration (mg/ml) | 10µg/disque | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 | 21.3±0.212 | 12.216±1.923 | 7.863±1.558 | 8.526±1.256 | 8.203±0.308 | 7.703±0.203 | 6.950±0.117 | / | / | / |
| <i>Escherichia coli</i> Clinique | 12.925±1.166 | 10.453±0.999 | 10.366±0.993 | 7.013±0.047 | 8.220±0.043 | 7.010±0.282 | 6.656±0.032 | / | / | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 22.05±0.070 | 13.477±0.733 | 10.670±1.093 | 8.352±0.579 | 8.803±0.653 | 7.120±0.812 | / | / | / | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Clinique | 26.275±0.459 | / | / | / | 8.296±0.334 | 7.470±0.098 | 6.353±0.130 | / | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 11.35±0.353 | 11.647±2.243 | 10.333±1.585 | 8.190±1.016 | 8.803±0.653 | 7.120±0.812 | / | / | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Clinique | 16.325±0.035 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Proteus mirabilis</i> Clinique | 26.625±0.883 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> Clinique | 15 ± 0.02 | 6.523±0.076 | 6.543±0.546 | 6.140±0.121 | 6.953±0.282 | 6.983±0.005 | 6.520±0.286 | 6.726±0.115 | 6.597±0.064 | 6.640±0.272 |

Moyenne ± SD (n = 3). ATCC : American Type Culture Collection, / Absence d'activité

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 18 :Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de *P. capitata* relatives aux différentes souches bactériennes selon la méthode de diffusion des disques.

| Souche/extrait | Gentamicine | PCBU | | | PCAC | | | PCAQ | | | PCEP | | |
|---|---------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 10µg/disque | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 | 21.3 ± 0.212 | / | / | / | 9.320±1.894 | 7.883±1.412 | 7.333±0.733 | 6.890±0.490 | 6.336±0.407 | / | / | / | / |
| <i>Escherichia coli</i> Clinique | 12.925 ±1.166 | 6.153±0.265 | 6.063±0.109 | / | 6.173±0.300 | / | / | / | / | / | 7.610±0.578 | 6.900±0.625 | 6.043±0.075 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 | 22.05± 0.070 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Clinique | 26.275 ±0.459 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 11.350±0.353 | / | 7.203±1.247 | / | 12.943±0.725 | 10.553±0.790 | 7.797±1.270 | / | / | / | 6.806±0.333 | / | / |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Clinique | 16.325±0.035 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Proteus mirabilis</i> Clinique | 26.625±0.883 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> Clinique | 15.00±0.02 | 7.056±0.440 | 6.380±0.045 | 6.253±0.035 | 6.746±0.424 | 6.780±0.272 | 6.133±0.117 | 6.753±0.106 | 6.366±0.080 | 6.206±0.023 | / | / | / |

Moyenne ± SD (n = 3). ATCC : American Type Culture Collection, / Absence d'activité.

❖ Discussion

La résistance aux antimicrobiens est actuellement l'une des principales menaces pour l'humanité. L'émergence et la propagation rapide d'organismes multirésistants, qui a commencé très tôt après l'introduction des antibiotiques mais s'est accélérée de façon marquée au cours de la dernière décennie, (tels que les organismes résistants à la vancomycine, à la méthicilline, à spectre étendu des β -lactamines) ont attiré l'attention sur la durabilité de la pratique médicale moderne dans le monde [Moloney, 2016; Anyanwu & Okoye, 2017].

A cet égard, les essais de criblage du pouvoir antimicrobien ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu gélosé. C'est un test préliminaire et qualitatif recommandé, afin d'avoir une idée sur le potentiel inhibiteur des extraits de *Paronychia capitata* L. et *Eryngium campestre* L.

D'après les résultats trouvés, il apparaît qu'au moins un des produits issus par l'extraction a manifesté une activité. Ces résultats ont confirmé l'existence de composés antimicrobiens dans la majorité des extraits d'*E. campestre* testés et ont validé l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle contre les maladies infectieuses. Pour l'ensemble des extraits, nous remarquons que les extraits des racines d'*E. campestre* montrent une activité plus élevée que les extraits des parties aériennes de cette plante. On trouve toujours pour chaque essai que le diamètre d'inhibition est proportionnel à la concentration de l'extrait.

Les extraits d'*Eryngium campestre* ont présenté une activité antibactérienne modérée contre les souches bactériennes testées (les souches GRAM positives et les souches GRAM négatives). On remarque que l'extrait butanolique des racines **ECRBU** a présenté des zones d'inhibition considérables contre la plupart des souches testées. Par contre, on a observé que les souches bactériennes testées ont enregistré une grande résistance contre les extraits aqueux **ECRAQ** et **ECAAQ** des racines et des parties aériennes respectivement, on n'a eu l'inhibition de deux souches parmi les huit testées.

La variation de l'effet entre les extraits d'*E. campestre* est peut être due à plusieurs facteurs ;

Premièrement, la variation de la composition chimique explique les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante. La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (feuilles, fleurs, rameaux, fruits...) utilisé, ainsi que le procédé employé pour réaliser l'extraction (nature du solvant utilisé pour l'extraction).

RESULTATS ET DISCUSSION

La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité observées entre les extraits d'*E. campestre*. en plus de la nature des métabolites secondaires, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes entre les extraits testés peut être une explication probable de cette différence[Paiva *et al.* 2010]. Il est à noter aussi que l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée « synergie » de différents composés à l'origine de cet extrait[Silva & Fernandes Júnior, 2010].

Selon les chiffres mentionnés dans le tableau des résultats, on constate une absence d'activité antimicrobienne concernant *P. capitata*. En effet, les souches bactériennes testées ont été résistantes vis-à-vis de tous les extraits de cette plante.

Comme rapporté dans la littérature, les antibiotiques d'origine végétale ont un potentiel thérapeutique énorme. Ils sont efficaces dans le traitement des maladies infectieuses tout en atténuant simultanément de nombreux effets secondaires qui sont souvent associés aux antimicrobiens synthétiques. Les effets médicinaux bénéfiques des matières végétales résultent typiquement des combinaisons de produits secondaires présents dans la plante. Un mécanisme de résistance aux maladies chez les plantes est leur capacité à accumuler ces substances antimicrobiennes à la suite d'une infection, ces composés sont principalement des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les saponines, les huiles essentielles, les composés phénoliques, les flavonoïdes,...etc. [Rahmatullah *et al.* 2012; Wink, 2010; Kapoor *et al.* 2015; Dhiman *et al.* 2016].

Les mécanismes de l'action antimicrobienne des métabolites secondaires des plantes sont sans doute très complexes et ils ne sont pas entièrement compris, mais plusieurs études ont été menées dans ce sens. Ces métabolites pourraient agir suivants plusieurs mécanismes et avoir plusieurs cibles cellulaires, plutôt qu'un seul site d'action spécifique.

Dixièmement, la sensibilité d'un microorganisme aux extraits des plantes dépend aussi des propriétés du microorganisme lui-même. Il est communément admis que les bactéries GRAM+ sont plus sensibles aux extraits et que les bactéries GRAM- le sont moins. [Kalemba *et al.* 2003]. Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de bactéries et est principalement lié à la structure de leur paroi cellulaire et à l'arrangement de la membrane externe [Kalemba *et al.* 2003]. La sensibilité différentielle des bactéries GRAM+ et GRAM- aux extraits de plantes peut s'expliquer par les différences morphologiques entre ces microorganismes. Chez les bactéries à GRAM-, le peptidoglycane est très fin et associé à une

enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). Cependant, chez les bactéries à GRAM+, devraient être plus sensibles car elles n'ont qu'une couche extérieure de peptidoglycane qui n'est pas une barrière de perméabilité efficace [Kalemba *et al.* 2003; Lewis & Ausubel, 2006; Paiva *et al.* 2010].

3.2.2. Test de l'activité antifongique

Nous avons choisi de mener notre recherche sur des champignons qui causent un sérieux problème de santé primaire dans notre pays, l'Algérie. Par ailleurs, ce sont des souches sensibles aux antifongiques actuels et qui permettent donc de juger l'efficacité de nos extraits. Les tests sont réalisés sur huit souches fongiques. De plus, les extraits de nos deux plantes ont été testés contre *Botrytis cinerea* qui est un champignon phytopathogène responsable de la pourriture grise des végétaux, une maladie cryptogamique qui attaque le raisin (d'autres fruits, les fleurs et les légumes peuvent aussi être atteints) et produit chaque année des dégâts importants.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Dans leur aspect global, les résultats présentés dans les **tableaux 19 et 20** ont révélé une activité antifongique faible des différents extraits d'*E. campestre* sur tous les champignons testés. De plus, deux souches fongiques (*Trichophyton glabrum*, *Candida albicans*) montrent une résistance totale contre tous les extraits des racines d'*E. campestre* et cinq souches fongiques (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton glabrum*, *Candida albicans* et *Aspergillus nidulans*) montrent une résistance totale contre tous les extraits des parties aériennes d'*E. campestre*.

Nous avons observé que les extraits aqueux des racines et des parties aériennes ne manifestent aucune activité antifongiques contre toutes les souches testées dans cette expérience sauf contre les deux champignons : *Trichophytum verrucosum* et *Aspergillus nidulans*, l'extrait aqueux des racines **ECRAQ** démontre une bonne capacité d'inhibition avec un diamètre d'inhibition égal à 10.900 ± 0.191 et 18.073 ± 0.220 mm respectivement à une concentration de 150 mg/ml.

Cependant, les résultats montrent également que l'extrait acétate d'éthel des racines **ECRAC** est particulièrement actif sur la croissance des six souches fongiques, on trouve

RESULTATS ET DISCUSSION

toujours pour chaque souche testée que le diamètre d'inhibition est proportionnel à la concentration en extrait. L'activité antifongique d'**ECRAC** était supérieure à celle d'antifongique classique testé (Fluconazol) contre deux souches à savoir *Trichophyton verrucosum* et *Aspergillus nidulans* à la dose de 150 mg/ml ; 15.646 ± 0.122 mm et 12.627 ± 0.721 mm respectivement. Contre le reste des champignons (*Trichophyton verrucosum*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*), **ECRAC** montre une efficacité inhibitrice avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 15 mm.

Les résultats du test montrent que les extraits d'acétate d'éthel des racines et des parties aériennes **ECRAC** et **ECAAC** manifestent une activité antifongique efficace contre le champignon phytopathogène : *Botrytis cinerea* avec des diamètres de zones d'inhibition de 8.480 à 15.333 mm d'une façon dose dépendante.

B. *Paronychia capitata* L.

Les diamètres d'inhibitions obtenus lors du criblage de l'activité antifongique des différents extraits de *Paronychia capitata* sont mentionnés dans les **tableaux 21** et **22**. Selon les chiffres mentionnés dans les tableaux des résultats, on constate que les extraits de *P. capitata* sont inefficaces contre cinq champignons sur les huit testées (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton glabrum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Candida albicans*), à l'exception de l'extrait aqueux **PCAQ** qui démontre une zone d'inhibition égale à 12.736 mm vis-à-vis *Aspergillus nidulans* à la concentration de 150 mg/ml.

Trichophyton verrucosum est la souche la plus sensible, tous les extraits présentent une activité antifongique remarquable ou l'extrait butanolique **PCBU** est le plus actif avec un maximum d'inhibition de l'ordre de (19.850 mm ; 150mg/ml), suivi par l'extrait aqueux **PCAQ** avec un diamètre égal à (15.323 mm ; 75mg/ml), suivi par l'extrait acétate d'éther **PCAC** (11.416 mm ; 150mg/ml) et enfin, l'extrait éther de pétrole **PCEP** (9.360 mm ; 150 mg/ml). D'autre part, **PCAC** présente des diamètres d'inhibition considérables, pour le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, diamètre de zone d'inhibition de 8.446 à 12.546mm.

❖ Discussion

Les extraits d'*E. campestre* présentent des taux d'inhibition variables sur les huit souches soumises à l'expérimentation : l'extrait aqueux des parties aériennes **ECAAQ** n'ont eu aucun effet sur les huit champignons testés. *Trichophyton glabrum*, *Candida albicans* et *Aspergillus nidulans* ont été moins sensibles à la plupart des extraits testés. Les activités remarquables ont été enregistrées avec l'extrait acétate d'éthel des racines **ECRAC** contre presque toutes les

RESULTATS ET DISCUSSION

souches testées. De façon générale, les extraits des racines ont montré une activité plus intéressante que les extraits des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. Par ailleurs, d'après les résultats obtenus, une faible activité a été observée contre les levures et aucune activité contre les moisissures testées, sauf contre *Trichophyton verrucosum*, *Botrytis cinerea*. L'extrait aqueux n'a pas été actif comme on l'observe.

Par ailleurs, de nombreux facteurs peuvent influencer les résultats des tests de sensibilité telle que la méthode de test, la partie choisie pour le test et la nature du solvant d'extraction. Il est parfois difficile de comparer les résultats obtenus avec les extraits de plantes aux résultats publiés dans la littérature car plusieurs variables influencent les résultats, tels que les conditions environnementales et climatiques dans lesquelles la plante a grandi, le choix des extraits végétaux, le choix de la méthode d'extraction, méthode d'essai antimicrobienne et microorganismes d'essai [Ncube *et al.* 2008].

Plusieurs chercheurs ont rapporté l'activité antibactérienne des fractions d'extraits de différentes parties d'*Eryngium campestre* L. a été évaluée en utilisant diverses méthodes *in vitro* contre un large spectre de souches bactériennes (Gram positif, Gram négatif). **Le tableau 23** récapitule les résultats de ces études.

Tableau 23 : Activités anti-bactériennes et anti-fongiques d'*Eryngium campestre* L.

| Parties | Type d'extrait | méthode de test | Résultats | Reference |
|-------------------|-------------------------------|---|---|---------------------------|
| Parties aériennes | Aqueux Ethanol Méthanol | Bactéries Gram+ : <i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228). Gram- : <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883) | Les extraits éthanolique ou méthanolique d' <i>E. Campestre</i> ont montré une forte activité antibactérienne contre au moins une des bactéries Gram testées ; <i>P. aeruginosa</i> était le plus sensible à l'extrait éthanolique de <i>E. campestre</i> . <i>E. coli</i> a montré la meilleure sensibilité à l'extrait éthanolique d' <i>E. campestre</i> . Des extraits testés d' <i>E. campestre</i> ont montré une activité antibactérienne contre <i>S. epidermidis</i> , <i>S.</i> | (Usta <i>et al.</i> 2014) |

RESULTATS ET DISCUSSION

| | | | |
|--|--|---|---|
| <p>Feuilles racines</p> | <p>Ethanol</p> | <p>Testé par la méthode des dilutions en série contre : Bactéries Gram+; <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 Levure ;<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>Candida glabrata</i> souche clinique <i>Cryptococcus neoformans</i> souche clinique;</p> | <p><i>pyogenes</i>, <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i> dans cette étude.</p> <p>(Thiem <i>et al.</i> 2010)</p> <p>Les extraits éthanoliques bruts des feuilles et des racines des espèces d'<i>Eryngium</i> étudiées ont montré une activité antifongique significative et une activité antibactérienne modérée uniquement contre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> |
| <p>Parties aériennes</p> | <p>Ethanol</p> | <p><i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404 Dermatophyte; <i>Trichophyton mentagrophytes</i> souche clinique Bactéries Gram-positive et Gram-: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Salmonella enteritidis</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 <i>Staphylococcus epidermidis</i></p> | <p>(CONEA <i>et al.</i> 2016)</p> <p>Le criblage de l'activité antimicrobienne a confirmé un effet modéré sur <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i>, ainsi qu'un effet bactériostatique élevé sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. L'effet de la teinture <i>E. campestre</i> était le plus prononcé (zone d'inhibition : 25 mm).</p> |
| <p>Les feuilles et les racines</p> | <p>extrait méthanol et fractions</p> | <p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 4163, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 6749, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration bactéricide / fongicide Minimale (MBC / MFC) ont été déterminées d'extraits sélectionnés.</p> | <p>(Kikowska <i>et al.</i> 2016)</p> <p>Les deux extraits de méthanol provenant des racines et des feuilles d'<i>E. campestre</i> ont montré une bonne activité antimicrobienne. L'activité antibactérienne la plus forte a été démontrée par la fraction de 80% des racines.</p> |
| <p>La plante entière</p> | <p>Extraits aqueux et organiques</p> | <p>ont été déterminées d'extraits sélectionnés.</p> | <p>(Jaradat <i>et al.</i> 2015)</p> <p><i>E. campestre</i> a montré à l'étranger l'activité du spectre contre les microorganismes Gram</p> |

RESULTATS ET DISCUSSION

| | | | |
|----------------------|----------------------|---|--|
| Parties aériennes | Huile essentielle | <p>Gram-positif : <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538P, <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633. Gram-négative : <i>Escherichia coli</i> ATCC8739 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 levures : <i>Candida albicans</i></p> <p>Isolats cliniques à Gram positif de résistants à la méthicilline <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), MRSA 1, MRSA 2, MRSA 3, MRSA 4, MRSA 5, MRSA 6, MRSA 7, MRSA 8 et MRSA 9.</p> | <p>positif et Gram négatif, mais plus d'activité contre les bactéries Gram positif principalement <i>Bacillus subtilis</i>, qui avait la plus grande zone d'inhibition de diamètre dans le premier et le second extraits de (18 mm). <i>Eryngium campestre</i> a montré une activité antibactérienne d'une semaine contre les souches de <i>Staphylococcus aureus résistantes</i> à la méthicilline. (Çelik et al. 2011)</p> |
|----------------------|----------------------|---|--|

Les plantes sont une source importante de nouvelles molécules bioactives avec des potentiels thérapeutiques. L'importance du règne végétal comme source de nouvelles substances antifongiques est illustrée par diverses revues qui ont montrés que les extraits des plantes ainsi que les huiles essentielles et d'autres composés présentent un intérêt considérable en raison de leur activité antifongique. Au cours des deux dernières décennies, des centaines de nouveaux familles de molécules actives ayant une activité antimicrobienne ont été isolés, par ex. alcaloïdes, coumarines, flavonoïdes, lignanes, quinones, composés phénoliques divers, terpènes et tanins divers [Kosalec et al. 2005 ;Wink, 2010; Murtaza et al. 2015].

Chazot (2013), a étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *P. argentea*. Ils ont utilisé plusieurs souches, il s'agissait de deux souches Gram positives (*Staphylococcus aureus*, ATCC 25923 et *Bacillus subtilis*, ATCC 441) et d'une Gram négative (*Escherichia coli*, ATCC 8739). Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait ne possède qu'un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées

Il existe de nombreux agents antifongiques utilisés cliniquement pour traiter les infections fongiques. L'utilisation intensive de ces molécules a malheureusement conduit à une augmentation de l'incidence des résistances aux antifongiques. La résistance émergente des

RESULTATS ET DISCUSSION

champignons aux agents antifongiques a des implications sérieuses dans la gestion des infections. Ces composés antifongiques agissent également sur les cibles trouvées dans les cellules de mammifères qui peuvent entraîner une toxicité ou des interactions médicamenteuses indésirables [Ahmad *et al.* 2010; Iranshahi *et al.* 2015; Murtaza *et al.* 2015]. En outre, la faible efficacité, les effets secondaires incluent des nausées, douleurs abdominales, prurit, une réponse thérapeutique lente, inefficacité chez les patients immunodéprimés et les résistances associées aux médicaments justifient la nécessité de la recherche des médicaments antifongiques sûrs, nouveaux et efficaces [Byarugaba, 2009; Ahmad *et al.* 2010].

Elkhair *et al.* (2010) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de *Paronychia argentea*. Les parties aériennes séchées de la plante ont été successivement extraites avec du chloroforme, de l'éthanol et des solvants aqueux en utilisant une extraction macroscopique complète à froid en série. Tous les extraits ont été criblés pour leur activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion de puits d'agar et la technique de microdilution. Les micro-organismes utilisés pour l'activité antibactérienne étaient *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

Dans cette étude, il a été observé que des extraits de *Paronychia argentea* produisent une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives qui ont été testées. Les résultats présentés de cette étude indiquent que l'activité antibactérienne a été démontrée par l'extrait éthanolique de *Paronychia argentea* contre *Klebsiella pneumoniae*, alors qu'elle n'a montré aucune activité contre *Morganella morganii* et *E. coli* parmi les bactéries Gram-négatives, l'extrait a montré une activité antibactérienne maximale contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, suivie de *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline. L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux brut de *Paronychia argentea* a montré que l'extrait de plante présentait un effet antibactérien contre certaines bactéries testées. Les résultats ont montré que l'extrait possédait une activité antibactérienne maximale contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline suivie de *Klebsiella pneumoniae* [Elkhair *et al.* 2010].

Par ailleurs, de nombreux facteurs peuvent influencer les résultats des tests de sensibilité telle que la méthode de test, la partie croisée pour le test et la nature du solvant d'extraction. Il est parfois difficile de comparer les résultats obtenus avec les extraits de plantes aux résultats publiés dans la littérature car plusieurs variables influencent les résultats, tels que les conditions

RESULTATS ET DISCUSSION

environnementales et climatiques dans lesquelles la plante a grandi, le choix des extraits végétaux, le choix de la méthode d'extraction, méthode d'essai antimicrobienne et microorganismes d'essai [Ncube *et al.* 2008].

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions d'*E. campestre* relatives aux différentes souches fongiques selon la méthode diffusion en puits ; **A** : racine, **B** : partie aérienne.

A

| extraits | Fluconazol | ECR | | | | | | | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------------|--------------|----------------|----------------|----------------|-------|----|--------------|
| | | ECRBU | | | ECRAC | | | ECRAQ | | |
| souches / concentrations mg/ml | 25 µg/disque | 37.5 | 75 | 150 | 37.5 | 75 | 150 | 37.5 | 75 | 150 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | 10.625±0.176 | / | / | 12.040±0.193 | / | / | / | / | / | / |
| <i>Trichophyton verrucosum</i> | 10.825±0.954 | / | / | / | 8.600 ± 1.395 | 9.713 ± 0.277 | 12.627±0.721 | / | / | 10.900±0.191 |
| <i>Trichophyton glabrum</i> | 11.675±0.459 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Aspergillus niger</i> | 16.425±1.025 | / | 9.883±0.325 | 10.947±3.115 | 11.850 ± 0.065 | 13.233 ± 0.123 | 13.846 ± 0.265 | / | / | / |
| <i>Aspergillus nidulans</i> | 11.725±1.025 | / | / | / | / | / | 15.646 ± 0.122 | / | / | 18.073±0.220 |
| <i>Botrytis cinerea</i> | nt | / | / | / | / | 12.303 ± 0.040 | 15.133 ± 0.117 | / | / | / |

B

| extraits | Fluconazol | ECA | | | | | | | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------|----|-----|
| | | ECABU | | | ECAAC | | | ECAAQ | | |
| souches / concentrations | 25µg/disque | 37.5 | 75 | 150 | 37.5 | 75 | 150 | 37.5 | 75 | 150 |
| <i>Trichophytum rubrum</i> | 10.625±0.176 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Trichophytum verrucosum</i> | 10.825±0.954 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Trichophytum glabrum</i> | 11.675±0.459 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Aspergillus niger</i> | 16.425±1.025 | / | 7.980±0.144 | 10.190±0.052 | / | / | / | / | / | / |
| <i>Aspergillus nidulans</i> | 11.725±1.025 | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Botrytis cinerea</i> | nt | / | / | 9.283±0.032 | 8.480±0.115 | 9.363±0.145 | 13.173±0.060 | / | / | / |

Moyenne ± SD (n = 3). / Absence d'activité. nt : non testé.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 20 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions relatives aux deux levures selon la méthode de diffusion des disques.

| | | concentration mg/ml | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> |
|------------|--------------|---------------------|-------------------------|-----------------------------|
| ECR | ECRBU | 37.5 | / | 10.703±0.887 |
| | | 75 | / | 12.106±0.855 |
| | | 150 | / | 15.943±0.223 |
| | ECRAC | 37.5 | / | 19.933±0.901 |
| | | 75 | / | 12.930±0.134 |
| | | 150 | / | 19.426±0.888 |
| | ECRAQ | 37.5 | / | / |
| | | 75 | / | / |
| | | 150 | / | / |
| ECA | ECABU | 37.5 | / | / |
| | | 75 | / | 6.286±0.496 |
| | | 150 | / | 8.240±0.664 |
| | ECAAC | 37.5 | / | 11.423±1.441 |
| | | 75 | / | 14.083±1.761 |
| | | 150 | / | 17.196±1.207 |
| | ECAAQ | 37.5 | / | / |
| | | 75 | / | / |
| | | 150 | / | / |

Moyenne ± SD (n = 3). / Absence d'activité.

Tableau 21 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de *P. capitata* relatives aux deux levures selon la méthode de diffusion des disques

| Extraits | Concentration mg/ml | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> |
|-------------|---------------------|-------------------------|-----------------------------|
| PCBU | 150 | / | 8.73 ± 0.395 |
| | 75 | / | 6.323 ± 0.325 |
| | 37.5 | / | / |
| PCAC | 150 | / | 10.283 ± 0.691 |
| | 75 | / | 6.64 ± 0.631 |
| | 37.5 | / | / |
| PCAQ | 150 | / | / |
| | 75 | / | / |
| | 37.5 | / | / |
| PCEP | 150 | / | 7.286 ± 0.300 |
| | 75 | / | 6.616 ± 0.341 |
| | 37.5 | / | / |

Moyenne ± SD (n = 3). / Absence d'activité.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 22 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions de *P. capitata* relatives aux différentes souches fongiques selon la méthode diffusion en puits.

| extraits | Fluc | PCBU | | | PCAC | | | PCAQ | | | PCEP | | |
|--------------------------------|--------------|-------------|--------------|------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|------|------------|------------|------------|
| souches / concentrations mg/ml | 25 µg/disque | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 | 150 | 75 | 37.5 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | 10.625±0.176 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Trichophyton verrucosum</i> | 10.825±0.954 | 19.85±1.025 | 10.093±0.155 | 8.97±1.244 | 11.416±2.084 | 8.526±0.200 | / | / | 15.323±2.577 | / | 9.36±0.838 | 8.91±0.387 | 8.72±0.719 |
| <i>Trichophyton glabrum</i> | 11.675±0.459 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Aspergillus niger</i> | 16.425±1.025 | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / | / |
| <i>Aspergillus nidulans</i> | 11.725±1.025 | / | / | / | / | / | / | 12.736±0.263 | / | / | / | / | / |
| <i>Botrytis cinerea</i> | nt | / | / | / | 12.546±0.104 | 10.65±0.426 | 8.446±0.092 | / | / | / | 9.74±0.334 | / | / |

Moyenne ± SD (n = 3). / Absence d'activité. **Fluc** : Fluconazol. nt : non testé.

4. Evaluation des activités biologiques *in vivo*

4.1. Test de la toxicité orale aiguë

En Afrique, les plantes médicinales représentent pratiquement le seul arsenal thérapeutique à la disposition des tradithérapeutes. Malheureusement, dans les pays en développement, le pouvoir des plantes est toujours apprécié de façon empirique, c'est-à-dire sans la moindre preuve scientifique. De plus, l'art médical traditionnel, malgré ses atouts, doit faire face à des obstacles, comme celui des doses employées dans la préparation et l'administration des médicaments. Traditionnellement, les doses à administrer sont exprimées de différentes façons : quelques gouttes du produit sous forme d'instillations auriculaires, buccales, nasales, oculaires, une calebasse, une cuillère à café, une cuillère à soupe... Les doses employées restent toujours imprécises. Cette imprécision constitue le véritable problème de la médecine traditionnelle. La prospection des extraits administrés de façon empirique nécessite donc une surveillance de posologie, afin d'éviter les risques réels d'accidents thérapeutiques qui peuvent parfois s'avérer tragiques [Hobou *et al.* 2011].

L'évaluation de l'action toxique des extraits végétaux doit donc veiller à l'innocuité des plantes médicinales mais sa position ne doit pas être seulement négative et réglementaire, bien au contraire, elle doit aider aussi à l'innovation, au choix des plantes médicinales à des doses bénéfiques. En définitive, elle doit apporter à la phytothérapie et à la consommation des plantes une certaine garantie et une certaine caution. L'évaluation de la sécurité d'une substance peut être appréciée soit par l'étude de sa toxicité aiguë après administration d'une dose unique ou bien par l'étude de sa toxicité chronique après administration répétée de la substance. Cependant, l'étude de la toxicité aiguë reste le jalon indispensable dans toute étude toxicologique [Lalitha *et al.* 2012; Nguta *et al.* 2012]. Vu que, à chaque fois que nous administrons une substance chimique à un système biologique, différents types d'interactions peuvent se produire et une série de réponses liées à la dose en résultent. Dans la plupart des cas, ces réponses sont souhaitables et utiles, mais il existe un certain nombre d'autres effets qui ne sont pas avantageux [Sathya *et al.* 2012].

Notre étude s'inscrit dans un programme d'amélioration et de valorisation de la médecine traditionnelle algérienne ; dans la présente étude, nous rapportons la toxicité aiguë des extraits butanoliques d'*Eryngium campestre* (racines *ECRBU*, parties aériennes *ECABU*) ainsi que l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* *PCBU*, cette étude présente la première enquête pour établir la sécurité de ces deux plantes chez les rats.

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

Considérant à la fois les applications ethnobotaniques et pharmacologiques d'*E. Campestre*, le but de ce test était d'étudier les effets toxiques possibles des parties aériennes et des racines de la plante chez le rat en utilisant des examens biochimiques et hématologiques ainsi que des analyses des urines. Sur la base des résultats de la présente étude, on peut conclure que les extraits butanoliques d'*E. campestre* **ECRBU** et **ECABU** étaient pratiquement non toxiques chez le rat après administration orale. Aucun comportement anormal ni décès n'a été constaté chez les animaux traités, ils n'ont produit aucun symptôme de toxicité comportementale, hématologique, biochimique ou histopathologique au cours de la période d'étude (14 jours).

Il n'y a eu aucun changement au niveau de la nature des selles, des urines, ni encore moins, des modifications de l'aspect général des rats (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche). Les animaux n'ont pas fait de diarrhée, ni d'hématurie, ni de mouvements non coordonnés, ni de détresses respiratoires durant la période d'étude. Tous les animaux soumis à l'expérience ont eu un gain de poids **tableau 24**, pendant toute la durée de l'étude. Cependant, ce gain n'a pas été statistiquement différent ($p > 0.05$), aussi bien pour les animaux du lot témoin que ceux des lots traités. Une absence de glucose, de corps cétoniques et de cellules sanguines a été relevée dans les urines de tous les animaux et le pH urinaire était compris entre 6 et 7.3 ce qui est normal, **tableau 26**.

Les résultats présentés dans le **tableau 25**, ont montré au niveau de l'hémogramme que l'extrait butanolique soit des racines **ECRBU** ou bien des parties aériennes **ECABU** ont été sans effet significatif sur les éléments figurés du sang dans leur majorité. L'évolution de quelques paramètres biochimiques sériques (ALAT, ASAT, urée, créatinine, cholestérol, triglycérides et glucose) a été étudiée chez les rats Wistar après administration orale des extraits butanoliques. Absence de tout changement significatif ($p > 0.05$) **tableau 24**.

Donc, tous les animaux ont survécu à l'issue des 14 jours d'observation avec l'absence d'une différence significative en comparaison des différents paramètres biochimiques, hématologiques, poids corporel et chimie des urines avec le groupe témoin, ce qui implique que la DL50 des extraits **ECRBU** et **ECABU** est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel. Cela favorise l'utilisation des racines et de la partie aérienne d'*Eryngium campestre* dans les systèmes de médecine traditionnelle. Cependant, d'autres études doivent être effectuées afin d'évaluer les toxicités à long terme.

B. Paronychia capitata L.

Malgré l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle, aucune étude sur ses effets toxiques n'a été rapportée. La présente étude a été réalisée pour déterminer la toxicité biochimique, hématologique et histopathologique d'un extrait butanolique de *Paronychia capitata* après en administration orale chez le rat, dans le but d'obtenir des informations sur l'innocuité de *P. capitata* et fournir des conseils pour la sélection d'une dose sûre de cette plante dans son utilisation en médecine traditionnelle.

Les observations de mortalité et les signes toxicologiques ont été faites quotidiennement pendant 14 jours après l'administration orale de l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU** à 2000 mg/kg de poids corporel. Le moment de l'apparition, l'intensité et la durée de ces symptômes, le cas échéant, a été enregistrée. Le poids de chaque rat a été enregistré au jour zéro, septième et quinzième jours. Il n'y avait pas de différence significative dans les poids corporels entre les groupes témoins et les groupes traités (il n'y avait pas de différence significative entre la consommation d'aliments et d'eau chez les animaux traités au **PCBU** comparé au groupe témoin).

Les résultats des études hématologiques sont présentés dans le **tableau 29**. Les données montrent que les taux enregistrés pour les rats témoins ne sont pas significativement différents de ceux du groupe traité. Cependant, une légère différence du nombre de globules blancs, de la numération plaquettaire et de l'hémoglobine a été observée dans le groupe traité par extrait comparativement au groupe témoin, mais encore une fois, ceux-ci étaient non significatifs.

C'est clair que, le foie et les reins jouent un rôle clé dans les processus métaboliques. Pendant que le foie désintoxique les substances nocives pour le corps, le rein aide au maintien de l'homéostasie en réabsorbant les substances vitales et l'excrétion des déchets. L'analyse biochimique (**tableau 28**) a montré qu'aucun des paramètres biochimiques dans le groupe traité par l'extrait n'a montré de changements significatifs par rapport au groupe témoin. La différence non significative dans la teneur en ALAT et en ASAT du groupe traité avec des extraits, indique l'absence d'effets nocifs sur le foie. Le taux de cholestérol et des triglycérides plasmatiques chez les rats traités par extrait est resté inchangé, ce qui indique indirectement un fonctionnement hépatique normal. De même, une différence non significative dans d'autres paramètres biochimiques comme la créatinine ainsi que l'urée indique qu'il n'y a pas d'effets indésirables sur les fonctions rénales après l'administration orale d'extrait **PCBU** à une dose de 2000 mg/kg

RESULTATS ET DISCUSSION

de poids corporel. De plus, il n'y avait pas de changement significatif dans le taux du glucose chez les rats du groupe traités.

Les résultats obtenus après l'analyse urinaire (**tableau 27**) ont montré l'absence de différences entre le lot témoin et le lot traité par l'extrait, tous les paramètres testés sont dans les normes, et aucune perturbation n'a été signalée à ce niveau.

Il y a un manque de rapports expérimentaux sur la toxicité des extraits de *Paronychia capitata*. Cependant, *P. capitata* présente des similitudes dans l'utilisation traditionnelle avec d'autres espèces du genre *Paronychia* spécialement *P. argentea* dont la toxicité orale de la partie aérienne a été testée et rapportée par **Bouanani et al. (2010)**. Les résultats montrent qu'aucun symptôme toxique ou de décès n'a été observé chez les animaux pendant les 14 jours consécutifs de traitement. Par conséquent, la dose minimale létale aiguë (DL50) des extraits aqueux et butanoliques de la partie aérienne pour les rats Wistar est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel et 40 mg / kg de poids corporel respectivement.

La nature non toxique de l'extrait butanolique des racines d'*E. campestre* **ECRBU** et des parties aériennes **ECABU** et de l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU** est évidente par l'absence de mortalité des rats testés lors d'un traitement oral de 2000 mg/kg de poids corporel. Selon le système de classification globalement harmonisé de l'OCDE, nos extraits peuvent être classés dans la catégorie 5 ; définie par $2000 \text{ mg/kg} < \text{DL50} < 5000 \text{ mg/kg}$ de poids corporel et chaque extrait peut être considéré comme une substance non toxique par voie orale. Nous soulignons que, la toxicité des plantes est en relation avec de nombreuses conditions, telles que la répartition géographique et la saison de récolte qui influencent considérablement sur la composition de la plante, puis sa toxicité et son activité pharmacologique. En outre, il est connu que le métabolisme et les activités pharmacologiques sont très différentes selon les modèles d'animaux utilisés.

La présente enquête fournit des informations précieuses sur les profils de toxicité aiguë de l'utilisation orale de l'extrait butanolique des racines d'*E. campestre* **ECRBU** et des parties aériennes **ECABU** et de l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU**. L'information aidera pour de futures études cliniques de la sécurité médicamenteuse et des études expérimentales *in vivo* des potentialités pharmacologiques de ce mode d'administration de la médecine des deux plantes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 24 : l'effet d'*ECRBU* et *ECABU* sur les paramètres biochimiques relatifs au test de la toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | | Traitements | | |
|-------------------------|-----------------------|-------------|--------------|--------------|
| | | Témoin | <i>ECRBU</i> | <i>ECABU</i> |
| Poids (g) | Jour 0 | 169.0±3.937 | 170.2±8.680 | 165.8±3.527 |
| | 7Jours | 170.0±4.062 | 189.6±7.118 | 190.4±3.803 |
| | 15 Jours | 177.8±5.398 | 176.0±9.413 | 171.6±7.501 |
| Paramètres Biochimiques | Urée (g / l) | 0.256±0.025 | 0.314±0.030 | 0.336±0.028 |
| | Créatinine (mg / l) | 5.700±0.234 | 6.400±0.548 | 5.84±0.186 |
| | ASAT (UI / l) | 12.14±0.619 | 12.60±0.339 | 13.4±0.606 |
| | ALAT (UI / l) | 15.78±0.955 | 14.42±0.963 | 14.60±0.487 |
| | Cholestérol (g / l) | 0.466±0.026 | 0.440±0.046 | 0.514±0.043 |
| | Triglycérides (g / l) | 0.426±0.055 | 0.406±0.054 | 0.378±0.022 |
| | Glucose (g / l) | 0.914±0.057 | 0.612±0.145 | 0.814±0.034 |

Moyenne ± SEM (n = 5).Aucune différence significative.

Tableau 25 : L'effet d'*ECRBU* et *ECABU* sur les paramètres hématologiques ; test de toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | | Traitements | | |
|---------------------------|--|-------------|--------------|--------------|
| | | Témoin | <i>ECRBU</i> | <i>ECABU</i> |
| Paramètres hématologiques | globules blancs ($\times 10^9/l$) | 8.660±0.348 | 10.94±0.691 | 10.20±0.639 |
| | globules rouges ($\times 10^{12}/l$) | 5.066±0.196 | 3.990±0.100 | 04.71±0.279 |
| | hémoglobine (g/dl) | 15.46±0.686 | 12.64±0.409 | 13.70±0.367 |
| | Plaquettes ($\times 10^9/l$) | 769.6±65.76 | 917.8±30.73 | 676.0±78.90 |

Moyenne ± SEM (n = 5).Aucune différence significative.

Tableau 26: L'effet d'*ECRBU* et *ECABU* sur les paramètres chimiques des urines ; test de toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | Traitements | | |
|---------------------------|-------------|--------------|--------------|
| | Témoin | <i>ECRBU</i> | <i>ECABU</i> |
| PH | 7 | 6 | 7.3 |
| Glucose | négatif | négatif | négatif |
| Gravité spécifique | 1.006 | 1.009 | 1.010 |
| La cétone | négatif | négatif | négatif |
| Bilirubine | négatif | négatif | négatif |
| Leucocytes | négatif | négatif | négatif |
| Protéines | négatif | négatif | traces |
| Nitrite | négatif | négatif | négatif |
| Urobilinogène | négatif | négatif | négatif |
| Le sang | négatif | négatif | négatif |

Moyenne ± SEM (n = 5).Aucune différence significative.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 27 : L'effet *PCBU* sur les paramètres chimiques des urines ; test de toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | Traitements | |
|---------------------------|-------------|-------------|
| | Témoin | <i>PCBU</i> |
| PH | 7 | 7 |
| Glucose | négatif | négatif |
| Gravité spécifique | 1.007 | 1.008 |
| La cétone | négatif | négatif |
| Bilirubine | négatif | négatif |
| Leucocytes | négatif | négatif |
| Protéines | négatif | négatif |
| Nitrite | négatif | négatif |
| Urobilinogène | négatif | négatif |
| Le sang | négatif | négatif |

Moyenne \pm SEM (n = 5).Aucune différence significative.

Tableau 28 : l'effet de *PCBU* sur les paramètres biochimiques relatifs au test de la toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | | Traitements | |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|
| | | Témoin | <i>PCBU</i> |
| Poids (g) | Jour 0 | 169.0 \pm 3.937 | 169.6 \pm 6.705 |
| | 7 Jours | 170.0 \pm 4.062 | 175.2 \pm 6.953 |
| | 15 Jours | 177.8 \pm 5.398 | 183.4 \pm 5.972 |
| Paramètres Biochimiques | Urée (g / l) | 0.256 \pm 0.025 | 0.3650 \pm 0.042 |
| | Créatinine (mg / l) | 5.700 \pm 0.234 | 5.950 \pm 0.275 |
| | ASAT (UI / l) | 12.14 \pm 0.619 | 13.400 \pm 0.782 |
| | ALAT (UI / l) | 15.78 \pm 0.955 | 14.700 \pm 1.784 |
| | Cholestérol (g / l) | 0.466 \pm 0.026 | 0.410 \pm 0.012 |
| | Triglycérides (g / l) | 0.426 \pm 0.055 | 0.310 \pm 0.012 |
| | Glucose (g / l) | 0.914 \pm 0.057 | 0.918 \pm 0.048 |

Moyenne \pm SEM (n = 5).Aucune différence significative.

Tableau 29 : L'effet de *PCBU* sur les paramètres hématologiques ; test de toxicité aigüe chez les rats.

| Paramètres | | Traitements | |
|----------------------------------|--|----------------------|----------------------|
| | | Témoin | <i>PCBU</i> |
| Paramètres hématologiques | globules blancs ($\times 10^9/l$) | 8.660 \pm 0.348 | 8.950 \pm 0.440 |
| | globules rouges ($\times 10^{12}/l$) | 5.066 \pm 0.196 | 4.790 \pm 0.449 |
| | hémoglobine (g/dl) | 15.46 \pm 0.686 | 14.400 \pm 0.616 |
| | Plaquettes ($\times 10^9/l$) | 769.600 \pm 65.760 | 744.500 \pm 91.200 |

Moyenne \pm SEM (n = 5).Aucune différence significative.

❖ Discussion

Avant de passer à l'évaluation des activités pharmacologiques des extraits des plantes étudiées, nous avons d'abord déterminé la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait butanolique des racines d'*E. campestre* L. **ECRBU**, l'extrait butanolique des parties aériennes d'*E. campestre* L. **ECABU** et de l'extrait butanolique de *P. capitata* L. **PCBU**. Nous avons choisi la voie orale car c'est la voie usuelle utilisée dans les conditions normales pour l'homme. Les résultats obtenus n'ont révélé aucun signe particulier de toxicité chez les rats pendant 14 jours. L'administration orale de tous les extraits à une dose de 2000mg/kg du poids de l'animal n'a provoqué aucun cas de mortalité.

Les animaux de tous les lots traités par les trois extraits ne subissent aucun changement dans l'évolution normale du poids corporel. D'après **El Hilaly et al.(2004)**, le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques. La suivie de la variation de la masse corporelle des animaux au cours de l'expérience de la toxicité aiguë par les extraits **ECRBU**, **ECABU** et **PCBU** a démontré l'absence des différences significatives du poids tout au long des deux semaines pour les groupes traités par rapport au groupe témoin. Alors, les présents résultats suggèrent que, à une dose administrée par voie orale, les extraits **ECRBU**, **ECABU** et **PCBU** sont non toxiques chez le rat.

Afin de déterminer la DL50, les toxicités aiguës par voie orale des extraits d'eau et de méthanol des parties aériennes d'*E. thorifolium* ont été évaluées conformément à la ligne directrice de l'**OCDE 423** chez la souris. Les résultats de la toxicité aiguë pour les extraits indiquent qu'aucun des extraits n'a causé de mortalité jusqu'à 5000 mg / kg. Les résultats appuient l'utilisation sécuritaire d'*Eryngium thorifolium* en médecine traditionnelle [**Ural et al. 2014**]. Ces résultats sont similaires aux nos résultats et confirment la sécurité des extraits éthanoliques des racines et des parties aériennes d'*E. campestre*.

Le foie et les reins jouent un rôle clé dans les processus métaboliques. Pendant que le foie désintoxique les substances nocives pour le corps, le rein aide au maintien de l'homéostasie en réabsorbant les substances vitales et en éliminant des déchets. Les deux organes travaillent en association pour supprimer tous les substances toxiques du corps [**Tulsawani, 2010**]. Une étude de la fonction rénale et hépatique peut donc s'avérer utile pour évaluer les effets toxiques des plantes médicinales. Les résultats de l'évolution des concentrations sériques de quelques paramètres biochimiques (ALAT, ASAT, urée, créatinine, cholestérol, triglycérides et glucose) chez les rats Wistar après administration orale des extraits, montre l'absence de tout

RESULTATS ET DISCUSSION

changement important des niveaux de ces paramètres ce qui indique que la dose administrée des extraits (2000 mg/kg) n'a pas causé de dommages au foie ou aux reins chez les rats des lots gavés par les extraits.

Le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles aux composés toxiques et un indice important de l'état physiologique et pathologique de l'homme et l'animal [Mukinda & Syce, 2007]. Les changements dans le système hématopoïétique ont une plus grande valeur prédictive pour la toxicité humaine, lorsque les données sont déduites des études réalisées sur des animaux [Olson *et al.* 2000]. L'analyse statique des résultats a indiqué l'absence de changements significatifs des GB, GR, HGB et PLT en comparaison avec les rats du lot témoin, ce qui confirme la nature non toxique des extraits *ECRBU*, *ECABU* et *PCBU* à une dose de 2g/kg.

Dans ce test, les rats femelles et mâles Wistar ont été divisés en neuf groupes de 10 rats pesant 120-180 g. Les tests toxicologiques ont été évalués par la préparation de différentes concentrations des deux extraits (extrait aqueux, extrait butanolique) administrés par voie orale (250 500, 1000, 1500, 2000 mg / kg et 5, 10, 20, 40 mg / kg dissous dans l'eau). Aucun symptôme toxique ou de mort n'a été observé chez les animaux pendant les 14 jours consécutifs du traitement. Par conséquent, la dose létale minimale aiguë (DL50) des extraits aqueux et butanoliques de la partie aérienne pour les rats Wistar est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel et 40 mg / kg de poids corporel respectivement qui confirme nos résultats .

Les deux principales fonctions des reins sont : la filtration du sang et l'élimination des déchets par l'urine. L'analyse de l'urine par bandelettes est une des analyses les plus fréquentes. Elle permet de mettre en évidence les infections urogénitales, mais aussi divers troubles métaboliques, hépatiques et rénaux. Lors de ce test différents paramètres physico-chimiques sont évalués tels que : l'acidité PH, la densité, la présence de protéines, bilirubine, corps cétoniques, sang et leucocytes. Au 14^{ème} jour, l'urine de chaque rat des lots traités ainsi que le lot témoin a été collectée en utilisant des cages métaboliques, les différents paramètres physico-chimiques ont été déterminés. Les résultats montrent l'absence de différence significative dans tous les paramètres testés entre les groupes traités et le groupe témoin.

Nous concluons que la DL50 est supérieure à 2000 mg/kg pour les trois extraits butanoliques des deux plantes. Les DL50 sont des valeurs relativement élevées témoignant une toxicité très faible, ce qui présage une sécurité d'emploi de ces extraits.

4.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

❖ Résultats

A. *Eryngium campestre* L.

La **figure 28** et le **tableau 30** représentent l'effet des extraits butanoliques des racines *ECRBU* et des parties aériennes *ECABU* sur l'œdème inflammatoire de la patte gauche d'un rat induit par l'albumine. L'injection sous-plantaire de l'albumine au lot témoin entraîne une augmentation significative de l'épaisseur de la patte gauche de 9.34, 6.53 et 4.07 mm respectivement à 30 min, 2 h, 5 h.

L'administration orale du diclofénac à la dose de 30 mg/kg prévient de façon significative ($p < 0.001$) l'augmentation de l'épaisseur de la patte gauche avec un pourcentage de 37.44, 49.80 et 70.04 % à 30 min, 2 h, 5 h après l'injection de l'albumine. Les extraits *ECRBU* et *ECABU* administrés par voie orale (v.o.), aux doses 250 et 500 mg/kg respectivement, réduisent de façon appréciable l'œdème par rapport au témoin de 30 min à 5h après l'induction de l'œdème. L'inhibition de l'œdème des deux extraits à la dose de 500 mg/kg est comparable, à celle de diclofenac, confirmant que les extraits butanoliques d'*E. campestre* racines et parties aériennes ont une action anti-inflammatoire.

L'extrait butanolique des racines *ECRBU* semble présenter un effet antiinflammatoire supérieur à celui de l'extrait butanolique des parties aériennes *ECABU* aux deux doses de 250 et 500 mg/kg. A 4 h, le traitement des rats par *ECRBU* (500 mg/kg) ou par l'extrait *ECABU* (500 mg/kg) induit une diminution très significative ($p < 0.001$) de l'inflammation par rapport aux rats du lot témoin. L'épaisseur de l'œdème est de 3.17 et 3.03 ml respectivement, ce qui signifie une inhibition de 64.08% et 58.78 % ; cette inhibition est supérieure à celle du diclofenac 57.32%.

L'analyse des résultats montre l'existence d'un effet anti-inflammatoire pour tous les extraits réalisés mais à des degrés divers, cette activité est dose dépendante. On peut classer les extraits dans un ordre croissant de l'effet anti-inflammatoire comme suit :

ECABU 250 mg/kg < *ECRBU* 250 mg/kg < *ECABU* 500 mg/kg < *ECRBU* 500 mg/kg.

Plusieurs études confirment nos résultats, les travaux de **Küpeli et al. (2006)**, montrent que l'extrait éthanolique des racines d'*E. campestre* a un effet antiinflammatoire plus intéressant contre l'œdème de la patte gauche des souris induite par l'injection de carragénine comparativement à cela du même extrait des parties aériennes avec un maximum d'inhibition de 38.9% après 6 h à la dose de 200 mg/kg ($p < 0.01$). Cette activité des extraits reste cependant

RESULTATS ET DISCUSSION

inférieure à celle du contrôle positif indométacine (10mg/kg). Cependant, les extraits aqueux des racines et des parties aériennes ne sont pas actifs à la concentration de 200 mg/kg car n'ayant présenté aucun effet anti-inflammatoire significatif.

D'autre part, les études de recherche de **Conea *et al.* (2015)** indiquent que l'extrait éthanolique des parties aériennes d'*E. campestre* a baissé significativement le nombre total de leucocytes ($p < 0.01$) en raison de la réduction du nombre des neutrophiles et des monocytes et que *E. campestre* avait un meilleur effet inhibiteur ($p < 0.01$) que *E. planum*. De plus, la synthèse de NO a également été diminuée par l'extrait d'*E. campestre* ($p < 0.05$). Le niveau de NO a été réduit de 20% par l'extrait d'*E. campestre* lorsqu'on le compare au groupe témoin de la parodontite.

Ces premiers résultats et ceux d'autres études antérieures confirment la validité de l'indication traditionnelle de cette plante dans la perspective de la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré pour la prise en charge des maladies inflammatoires.

B. Paronychia capitata L.

Les résultats obtenus à l'issu des tests anti-inflammatoires **tableau 31, figure 29** montrent que l'extrait butanolique de *P. capitata* aux doses 250 et 500 mg/kg possède également une activité anti-inflammatoire significative à ($p < 0.01$; $p < 0.001$) versus le groupe contrôle, l'extrait réduit de façon perceptible l'œdème induit par l'albumine. Pour le groupe standard, les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire du diclofénac à (50 mg/kg) provoque une diminution d'épaisseur de la patte des rats pendant les cinq heures de l'expérimentation. En effet, cette réduction hautement significative ($p < 0.001$) est observée à partir de 30 minutes et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation. A la fin de l'expérimentation (5h), cette activité est évaluée à 70.04 % d'inhibition de l'œdème inflammatoire.

L'administration orale de l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU** aux doses 250 et 500 mg/kg aux rats provoque une diminution très significative de la première demi-heure jusqu' à la cinquième heure de l'expérimentation ($p < 0.01$). De plus, cette baisse est plus importante et supérieure à 4h et 5h comparée à celle de standard à la même heure de l'expérimentation, avec un pourcentage d'inhibition égale à 93.34%, 96.63 % respectivement.

Notre étude de l'activité anti-inflammatoire d'extrait butanolique de *Paronychia capitata*, nous a permis de confirmer son action sur la phase aiguë de l'inflammation induite *in vivo* chez les rats.

RESULTATS ET DISCUSSION

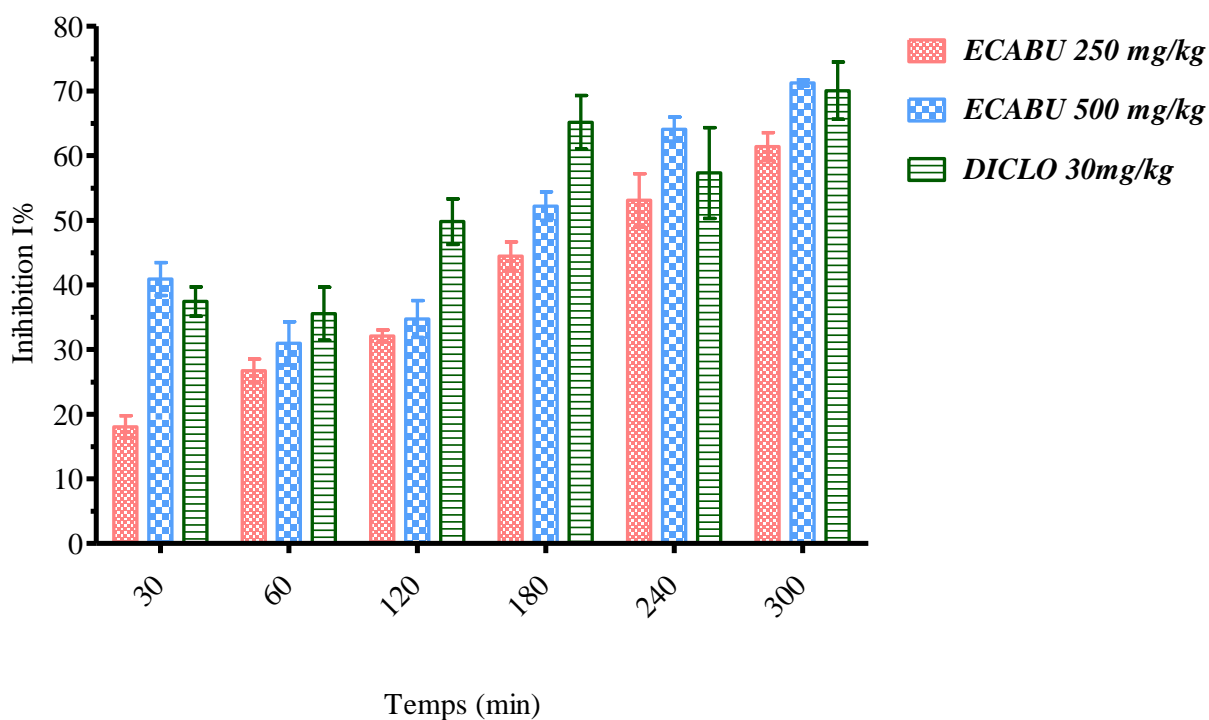
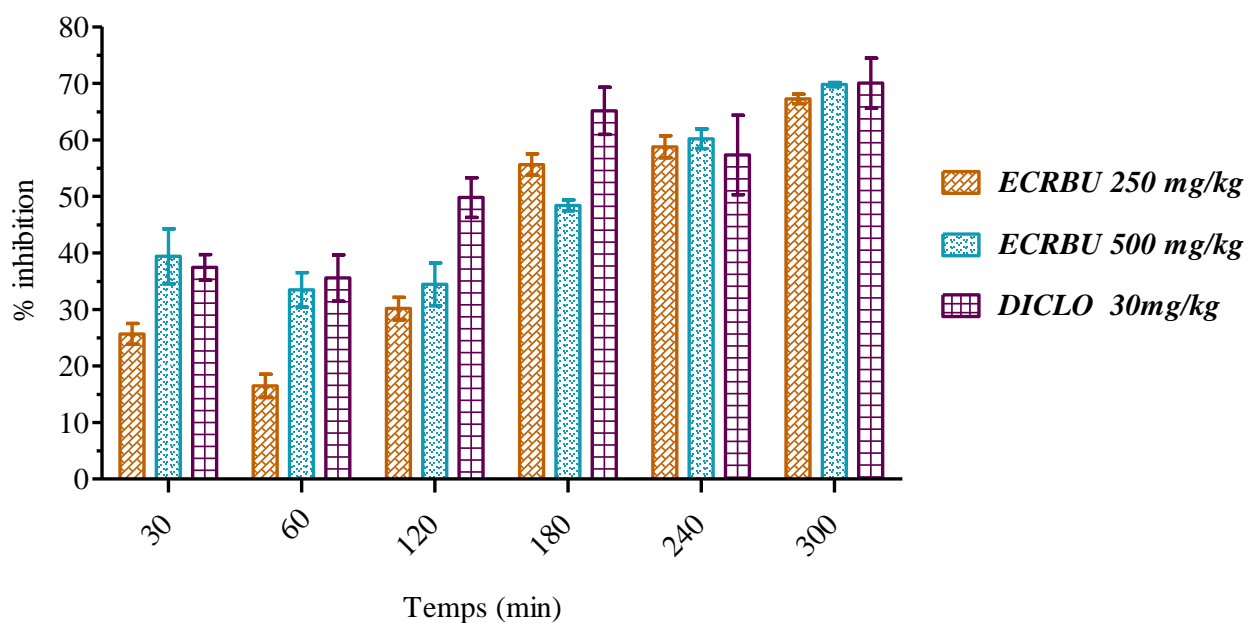


Figure 28 : Activité anti-inflammatoire des extraits butanoliques des racines (*ECRBU*) et les parties ariennes (*ECABU*) d'*Eryngium campestre* L. sur l'œdème induit chez les rats par l'injection de la de l'albumine d'œuf.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 30 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties ariennes d'*Eryngium campestre* L. sur l'œdème induit par l'injection de l'albumine d'œuf chez les rats.

| Traitements | Dose | Epaisseur de la patte (mm) | | | | | | |
|------------------------|-----------|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | Avant | 30 min | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h |
| Control négatif | 10 ml/kg | 2.053±0.414 | 9.340 ± 0.145 | 7.678 ± 0.134 | 6.534 ± 0.151 | 6.196 ± 0.109 | 4.936 ± 0.158 | 4.070 ± 0.077 |
| ECRBU | 250 mg/kg | 1.795±0.359 | 7.252 ±0.023*** | 6.500 ±0.039*** | 4.988±0.073*** | 4.212 ±0.250*** | 3.238 ±0.019*** | 2.800 ±0.165*** |
| | 500 mg/kg | 1.790±0.358 | 6.294 ±0.286*** | 5.746 ±0.187*** | 4.800 ±0.113*** | 3.902 ±0.106*** | 3.170 ±0.015*** | 2.722 ±0.081*** |
| ECABU | 250 mg/kg | 2.154±0.005 | 7.680 ±0.134*** | 6.420 ±0.034*** | 4.910 ±0.080*** | 3.890 ±0.122*** | 3.100 ±0.071*** | 3.040 ±0.007*** |
| | 500 mg/kg | 2.148±0.009 | 6.190 ±0.085*** | 5.740 ±0.159*** | 4.790 ±0.099*** | 3.920 ±0.077*** | 3.030 ±0.072*** | 2.610 ±0.021*** |
| DICLO | 30 mg/kg | 1.760±0.393 | 6.418 ±0.157*** | 5.340 ±0.121*** | 4.492 ±0.193*** | 3.402 ±0.097*** | 3.120 ±0.139*** | 2.710 ±0.187*** |

Moyenne ± SEM (n = 5). Significativement différent du contrôle : ** p < 0.01 ; *** p < 0.001. **DICLO** : diclofénac de sodium.

Tableau 31 : Effet de l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. sur l'œdème induit par l'injection de la de l'albumine d'œuf chez les rats.

| Traitements | DOSE | Epaisseur de la patte (mm) | | | | | | |
|-------------------------|-----------|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | Avant | 30 min | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h |
| Contrôle négatif | 10 ml/kg | 2.053±0.414 | 9.340 ± 0.145 | 7.678 ± 0.134 | 6.534 ± 0.151 | 6.196 ± 0.109 | 4.936 ± 0.158 | 4.070 ± 0.077 |
| DICLO | 30 mg/kg | 2.334±0.153 | 6.418±0.157*** | 5.340±0.121*** | 4.492±0.193*** | 3.402±0.097*** | 3.120±0.138*** | 2.710±0.187*** |
| PCBU | 500 mg/kg | 2.378±0.178 | 7.314±0.185*** | 6.074±0.106*** | 4.714±0.237*** | 3.958±0.181*** | 2.996±0.214*** | 3.358±0.197** |
| PCBU | 250 mg/kg | 1.760±0.393 | 7.604±0.036*** | 6.198±0.066*** | 4.712±0.210*** | 3.904±0.095*** | 3.352±0.182*** | 3.366 ±0.228* |

Moyenne ± SEM (n = 5). Significativement différent du contrôle : * p < 0.5 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001. **DICLO** : diclofénac de sodium.

RESULTATS ET DISCUSSION

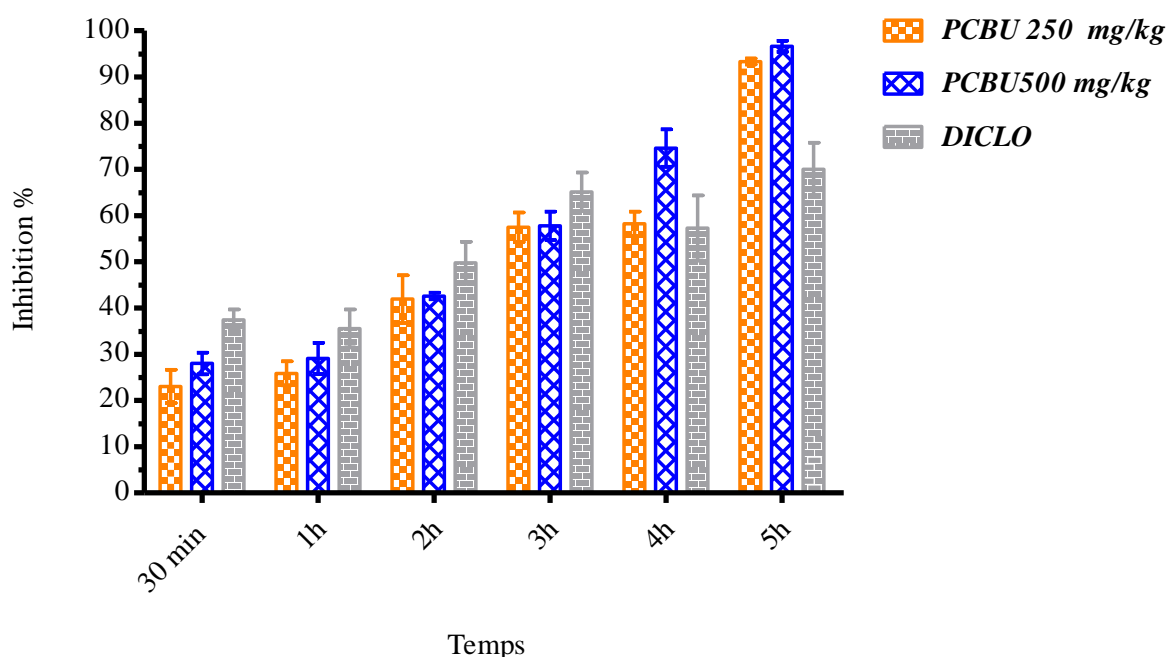


Figure 29 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique de *P. capitata* L. (PCBU) sur l'œdème induit chez les rats par l'injection de la de l'albumine d'œuf.

❖ Discussion

Les médicaments à base de plantes utilisés dans la pratique du traitement traditionnel des maladies, y compris l'inflammation, sont devenus l'objet de la recherche actuelle parce qu'ils sont bon marché et ont un grand potentiel thérapeutique sans les effets secondaires associés aux médicaments synthétiques [Beukelman *et al.* 2007; Anosike *et al.* 2012].

Pour cette raison, nous avons voulu déterminer l'activité anti-inflammatoire de trois extraits de nos plantes, à savoir: l'extrait butanolique des racines d'*Eryngium campestre* L., l'extrait butanolique des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. aux doses différentes (250 et 500 mg/kg) sur l'œdème inflammatoire aigue de la patte droite postérieure des rats.

Le dépistage anti-inflammatoire des extraits (*ECRBU*, *ECABU*, *PCBU*) a été réalisé en utilisant le test de l'œdème induit par l'albumine de l'œuf, qui est un modèle *in vivo* d'inflammation largement utilisé pour dépister les agents anti-inflammatoires [Engelhardt *et al.* 1995; Muko & Ohiri, 2000; Akindele & Adeyemi, 2007; Okoli *et al.* 2007; Li *et al.* 2008; Al-Shawi *et al.*, 2012]. L'albumine d'œuf est un agent phlogistique peu coûteux [Ojewole, 2005] qui est utilisé pour cribler l'agent avec l'effet anti-inflammatoire, particulièrement si l'inflammation n'était pas destinée pour être soutenue pendant longtemps. L'inflammation est

RESULTATS ET DISCUSSION

induite par la synthèse de prostaglandines, le mécanisme d'action le plus fréquemment rencontré parmi les médicaments anti-inflammatoires [Galam *et al.* 2013].

Plusieurs chercheurs autour du monde ont évalués l'effet antiinflammatoire d'*Eryngium campestre* différant extraits et parties. L'ensemble de ces résultats met en évidence l'activité antiinflammatoire de cette plantes et conforment nos résultats.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique d'*E. campestre* a été réalisée dans le test biologique en utilisant des cellules endothéliales du cerveau murin (inhibition de la synthèse de l'oxyde nitrique dans des cellules endothéliales murines activées par des cytokines) ; l'extrait éthanolique d'*E. campestre* (100 mg / ml) a montré la capacité d'inhiber presque complètement l'accumulation de nitrite dans le milieu.

En outre, l'effet anti-inflammatoire de la plante a été examiné sur la lignée cellulaire murine monocyte / macrophage P388D1, l'extrait d'*E. campestre* inhibait significativement l'accumulation de nitrite dans les cellules P388D1 stimulées par le LPS. De plus, l'extrait d'éthanol végétal a montré une très forte inhibition de la synthèse du TNF α . *Eryngium campestre* (extrait et fractions) inhibe l'expression de VCAM1 stimulée par le TNF α sur la surface des cellules MBE-SV [Strzelecka *et al.* 2005].

L'activité anti-inflammatoire des parties aériennes d'*Eryngium campestre* extraites dans l'éthanol a été rapportée chez le rat, l'inflammation aiguë étant induite par l'huile de térébenthine. Les effets ont été évalués en mesurant : nitrites et nitrates sériques, statut oxydatif total, activité antioxydante totale, indice d'état oxydatif, nombre total de leucocytes et nombre de leucocytes différentiel. *E. campestre* extrait a montré une action anti-inflammatoire significative sur la réponse de la phase aiguë de la moelle osseuse en abaissant le nombre total de leucocytes en diminuant les neutrophiles%, lymphocytes et monocytes, la synthèse de NO a été diminuée par un effet similaire au diclofénac. En outre, l'extrait d'éthanol a diminué significativement le stress oxydatif en augmentant le statut antioxydant total [Suciu & Pârvu 2012].

Küpeli *et al.* (2006), ont étudié les potentiels anti-inflammatoires de deux extraits différents obtenus à partir de parties aériennes ou de racines d'*Eryngium campestre* L. contre l'œdème de la patte postérieure induite par la carragénine et l'œdème de l'oreille induit par le TPA chez la souris. Dans les deux essais, les extraits d'*E. campestre* ont montré une activité anti-

RESULTATS ET DISCUSSION

inflammatoire modeste; l'extrait éthanolique de racines a montré un effet anti-inflammatoire de pâte [Küpeli *et al.* 2006].

La teinture éthanolique des parties aériennes a fait l'objet de l'étude évaluée par Conea et son collaborateur ; les effets anti-inflammatoires *in vivo* ont été évalués sur une parodontite induite par ligature de rat chez des rats Wistar mâles par l'examen histopathologique de la biopsie parodontale et des nitrites et nitrates totaux sériques, l'état oxydatif total, la réponse antioxydante totale et l'indice de stress oxydatif. Les résultats fournissent la preuve que l'extrait d'*Eryngium campestre* a exercé une activité anti-inflammatoire dans la parodontite expérimentale du rat en réduisant l'infiltration des leucocytes et le stress nitro-oxydatif. *E. campestre* abaissé significativement le nombre total de leucocytes ($p < 0,01$) en raison de la réduction des neutrophiles et des monocytes. La synthèse de NO a également été diminuée ($p < 0,05$) par la teinture de *E. campestre* [Conea *et al.* 2015].

Les anti-inflammatoires sont des médicaments utilisés pour réduire l'inflammation, ils sont généralement classés en deux catégories : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS). Les anti-inflammatoires stéroïdiens agissent sur les cellules inflammatoires et les médiateurs inflammatoires. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent en inhibant les cyclo-oxygénases 1 et 2 (COX-1 et COX-2) [Mohammed *et al.* 2014]. Les AINS sont parmi les médicaments les plus couramment utilisés dans le monde. Ils sont prescrits pour la prise en charge de la douleur, de la fièvre, de l'inflammation et des troubles rhumatismaux, etc. [Vikrant & Arya, 2011]. En conséquence, les utilisations à long terme de ces médicaments provoquent des effets secondaires. En conséquence, les utilisations à long terme de ces médicaments provoquent des effets secondaires néfastes et endommagent le système biologique humain comme le foie, le tractus gastro-intestinal, etc. [Murugesan & Deviponnuswamy, 2014].

Selon, Mag *et al.* (2006) et Vikrant & Arya (2011), les médicaments actuellement disponibles ne procurent qu'un soulagement symptomatique et ne sont pas exempts d'effets secondaires. Le plus grand inconvénient des puissants anti-inflammatoires synthétiques actuellement disponibles réside dans leur toxicité et la réapparition des symptômes après l'arrêt du traitement.

En raison des effets secondaires indésirables, comme les lésions gastriques, cardiovasculaires, l'insuffisance rénale et les dommages gastro-intestinaux causés par les AINS, Il existe maintenant un besoin pour de nouveaux médicaments anti-inflammatoires plus sûr,

RESULTATS ET DISCUSSION

puissant, et non toxiques ou moins toxiques [Okoli *et al.* 2003; Murugesan & Deviponnuswamy, 2014].

L'injection de l'albumine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. Cette réponse inflammatoire est biphasique dont la phase initiale qui dure environ une heure (30 min à 1h) est due à la libération de l'histamine et de la sérotonine (5-hydroxytryptamine), la bradykinine est libérée au cours de la seconde phase (1-3 h) et la biosynthèse des prostaglandines par la cyclooxygénase (COX) intervient au-delà de la troisième heure [Holsapple *et al.* 1980; Al-Shawi *et al.*, 2012; Vinay *et al.* 2014].

En effet, les résultats obtenus à l'issu des tests anti-inflammatoires ont montré que les extraits butanoliques d'*E. campestre* **ECABU**, **ECRBU** ainsi que l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU** inhibent de manière hautement significative ($p < 0.001$) le développement de l'œdème de la patte du rat à différentes doses des extraits butanoliques des racines et des parties aériennes. L'effet inhibiteur des deux extraits était dose-dépendant à toutes les heures de mesures de l'œdème. Par ailleurs, l'administration du diclofénac à la dose de 30 mg/kg par voie orale prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des rats. Avec un pourcentage d'inhibition de 70.0 % à la 5^{ème} h après l'administration de l'albumine. Ces résultats sont significativement différents de ceux du contrôle.

Ceci indique que les extraits présentent leur action anti-inflammatoire en inhibant la synthèse, la libération ou l'action de médiateurs inflammatoires, y compris l'histamine, la sérotonine, la bradykinine et les prostaglandines libérées au cours des différentes phases de l'inflammation aiguë induite par l'albumine. La forte inhibition de l'œdème a été observée à la cinquième heure pour les trois extraits. Cela suggère que l'action inhibitrice de : **ECABU**, **ECRBU** et **PCBU** s'exercerait davantage sur les cyclo-oxygénases qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Paronychia argentea* (dosage de la colite induite par l'acide acétique) testée chez des souris albinos suisses mâles ; quatre groupes ont été traités avec l'extrait méthanolique de *P. argentea* (50, 100, 200 et 500 mg / kg) pendant 5 jours consécutifs. Les résultats suggèrent que les extraits de *P. argentea* exercent des effets protecteurs marqués dans la colite expérimentale aiguë en régulant les marqueurs inflammatoires et les paramètres antioxydants. Les extraits de *P. argentea*

RESULTATS ET DISCUSSION

peuvent servir d'excellents agents anti-inflammatoires [Adjadj *et al.* 2015]. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus dans notre étude.

De nombreuses études phytochimiques ont démontré la richesse des différents organes d'*Eryngium campestre* L. en métabolites secondaires de différentes classes, à savoir ; sept saponosides triterpéniques identifiés et isolés des racines, les composés phénoliques principalement des flavonoïdes ; 24 composés identifiés et isolés des parties aériennes comme la rétinine et la quercitine et le kaempféol en plus des coumarines , des phénols et des huiles essentielles (voir partie 1). D'autre part, les résultats des analyses quantitatives de la teneur des extraits butanoliques en polyphénols et en flavonoïdes totaux la présence de quantités importantes des composés phénoliques les extraits testés. D'autre part, un grand nombre des études scientifiques ont indiqués que :

Les flavonoïdes présentent un large éventail d'effets sur les systèmes biologiques, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Ils ont montré qu'ils exerçaient des activités antimicrobiennes, antivirales, anti-ulcérogènes, cytotoxiques, antinéoplasiques, antimutagènes, anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-hépatotoxiques, hypolipidémiants et anti-agrégants plaquettaire [Rotelli *et al.* 2003; Mohammed *et al.* 2014]. Les flavonoïdes ont été étudiés dans des modèles d'inflammation chez le rat et se sont révélés ayant une activité significative dans les phases d'inflammation proliférative et exsudative [Guardia *et al.* 2001]. Des études biochimiques des mécanismes d'action des flavonoïdes ont montré que ces composés ont été capables d'inhiber une grande variété de systèmes enzymatiques. La capacité de certains flavonoïdes à inhiber à la fois les voies cyclo-oxygénase et 5-lipooxygénase du métabolisme de L'acide arachidonique peut contribuer aux propriétés anti-inflammatoires. D'autre part, les flavonoïdes sont connus pour présenter de nombreuses propriétés antioxydantes, notamment l'élimination des radicaux libres et la prévention de la peroxydation lipidique [Guardia *et al.* 2001; Rotelli *et al.* 2003 ; Mohammed *et al.* 2014].

En outre, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique des racines d'*E. campestre* peut être justifiée par sa richesse en saponines. Car, les saponines provenant de diverses sources végétales présentent diverses activités biologiques et pharmacologiques. On peut citer entre autres des activités antifongiques, antibactériennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses, etc. [Sener & Bingol, 1988; Kang *et al.* 2005; Bhujade *et al.* 2009 ; Podolak *et al.* 2010]. De plus, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des saponines réalisée en utilisant plusieurs modèles expérimentaux d'inflammation chez la souris et le rat montrent que les deux classes des saponines (stéroïdiennes et triterpénoïdes) ont montré une activité anti-inflammatoire contre les différents types d'inflammation expérimentales utilisés pour tester les saponines isolées d'environ 50 plantes [Lacaille-Dubois & Wanger, 1996; Sparg *et al.* 2004; Mohammed *et al.* 2014].

Cependant, nous devons mentionner que cette activité ne peut pas être expliquée par la seule présence d'un type spécifique de métabolites secondaires et qu'il peut être extrait, mais plutôt par l'effet synergique de ces différentes classes de métabolites présentes dans chaque extrait. Enfin, les extraits d'*E. campestre* L. peuvent être utiles pour développer des agents préventifs contre les maladies inflammatoires.

En outre, les résultats obtenus à l'issue des tests anti inflammatoires montrent que l'extrait butanolique de *P. capitata*, réduit de façon significative l'œdème inflammatoire ($p < 0.001$). L'inhibition de l'œdème par l'extrait **PCBU** de la plante était comparable à celle du diclofénac au cours de la deuxième phase de l'inflammation aigue induite par l'albumine. L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait **PCBU** administré par voie orale à la dose de 250 et 500 mg/kg possède une activité anti-inflammatoire supérieure à celle du diclofénac après 4 et 5 heures du traitement. La richesse de l'extrait butanolique de *P. capitata* L. en différents constituants chimiques tel que les polyphénols ; les flavonoïdes, saponines, etc. peut justifier cette activité. Les résultats de dosage des polyphénols ont montré que le **PCBU** est l'extrait le plus riche en polyphénols (32.23 μg EAG/mg d'extrait sec). Les effets de *Paronychia capitata* L. sur l'œdème s'expliqueraient par l'inhibition de la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires principalement l'histamine, la sérotonine, la bradykinine et la prostaglandine.

4.3. Evaluation de l'activité antipyrétique

La fièvre ,ou pyrexie, est une réponse physiologique complexe, elle est définie comme un symptôme naturel de défense de l'hôte face à un certain nombre de maladies [Steiner *et al.*

2006; Akram *et al.* 2014]. Les caractéristiques cliniques de la pyrexie sont : élévation de la température corporelle, mal de tête, perte de concentration, nausée, anorexie, perte de poids, faiblesse, fatigue, dépression, léthargie, déshydratation [Ifesinachi, 2013; Akram *et al.* 2014]. La fièvre est habituellement exprimée comme un impact secondaire de l'infection (causée par les parasites, les virus et les bactéries...), des lésions tissulaires, de l'inflammation, du rejet de greffe et de la présence de tumeurs ou d'autres états pathologiques. Le corps, par son mécanisme de défense naturel, crée un environnement où l'agent infectieux ou le tissu endommagé ne peut pas survivre [Rajasekaran *et al.* 2010; Ifesinachi, 2013; Bhowmick *et al.* 2014].

❖ Résultats

L'injection sous-cutanée de levure de bière chez les rats induit une pyrexie (appelée fièvre pathogène) ; elle est considérée comme un test utile pour le criblage des effets antipyrétiques des plantes.

A. *Eryngium campestre* L.

L'effet des extraits butanoliques d'*E. campestre* (*ECRBU*, *ECABU*) sur la température rectale chez les rats est présenté dans le **tableau 32, figure 30**. L'injection sous-cutanée de la suspension de levure a nettement augmenté la température rectale après 18 h d'administration. Le traitement avec les extraits à 250 mg/kg et 500 mg/kg de poids corporel et le paracétamol à 150 mg/kg ont montré une activité significative ($p < 0.05$) contre la pyrexie induite chez les animaux par rapport au traitement témoin et une diminution de la température rectale a été observée. Nos résultats expérimentaux ont montré que le traitement avec *ECRBU* et *ECABU* à la dose de 250, 500 mg/kg a diminué la température rectale des rats en fonction de la dose. On a trouvé que les deux extraits à une dose de 500 mg/kg et l'extrait *ECRBU* à la dose de 250 mg/kg provoquaient une baisse significative ($p < 0.001$) de la température rectale 5 heures après son administration.

Les extraits ; *ECRBU* (500 mg/kg), *ECABU* (500mg/kg) et *ECRBU* (250 mg/kg) après 5 heures, les mesures de la température rectale ont montré une réduction hautement significative de 86.27%, 83.01% et 74.17 % respectivement, ainsi que le médicament de référence le paracétamol à 100 mg/kg a montré 95.52% (**figure 30**).Cependant, *ECABU*(250 mg/kg) a montré une activité antipyrétique modérée par rapport aux autres extraits avec un pourcentage d'inhibition de 51.93% après 5h de traitement.

L'extrait butanolique des racines *ECRBU* à la dose de 500 mg/kg de poids corporel a démontré l'activité antipyrétique la plus élevée comparée aux doses plus faibles de 250 mg/kg

RESULTATS ET DISCUSSION

du même extrait aussi de l'extrait butanolique des parties ariennes *ECABU* dans les cinq heures suivant l'administration orale des traitements, mais cette activité reste inférieure à celle du médicament standard paracetamol au cours de la période de l'expérience. L'*ECABU* à une dose de 250 mg/kg n'a pas produit aucune réduction significative de la température rectale chez les rats de 30 min à 3 h ($p > 0.05$).

B. *Paronychia capitata* L.

L'extrait butanolique de *P. capitata* *PCBU* a démontré une activité antipyrétique sur la pyrexie induite par la levure de bière chez les rats et ceci a été indiqué par une réduction des températures rectales après l'administration orale de l'extrait. Les résultats indiquent que l'extrait *PCBU* (250 et 500 mg/kg) et le paracétamol (150 mg/kg), molécule antipyrétique de référence, entraînent une diminution significative de la température rectale des rats traités, comme présenté dans la **figure 31** et le **tableau 33**. Après l'injection de levure de bière au rat pendant 18 h, la température rectale a été augmentée d'une façon remarquable. Le paracétamol à la dose de 150 mg/kg a significativement diminué la température rectale ($p < 0.001$) de 1^{ère} à 5^{ème} heure d'administration orale du traitement.

L'extrait a montré une réponse dose-dépendante. *PCBU* à la dose de 500 mg /kg a produit des effets antipyrétiques puissants de 81.55 % et 93.77 %, après 4h et 5h de traitement respectivement. L'extrait butanolique de *P. capitata* à la dose de 500 mg /kg n'est efficace qu'après deux heures avec un maximum de pourcentage d'inhibition 73.68 % à la 5^{ème} heures de l'expérience. L'activité antipyrétique de l'extrait à la dose de 500 mg/kg était comparable à celle du médicament de référence la 5^{ème} heures de traitement.

RESULTATS ET DISCUSSION

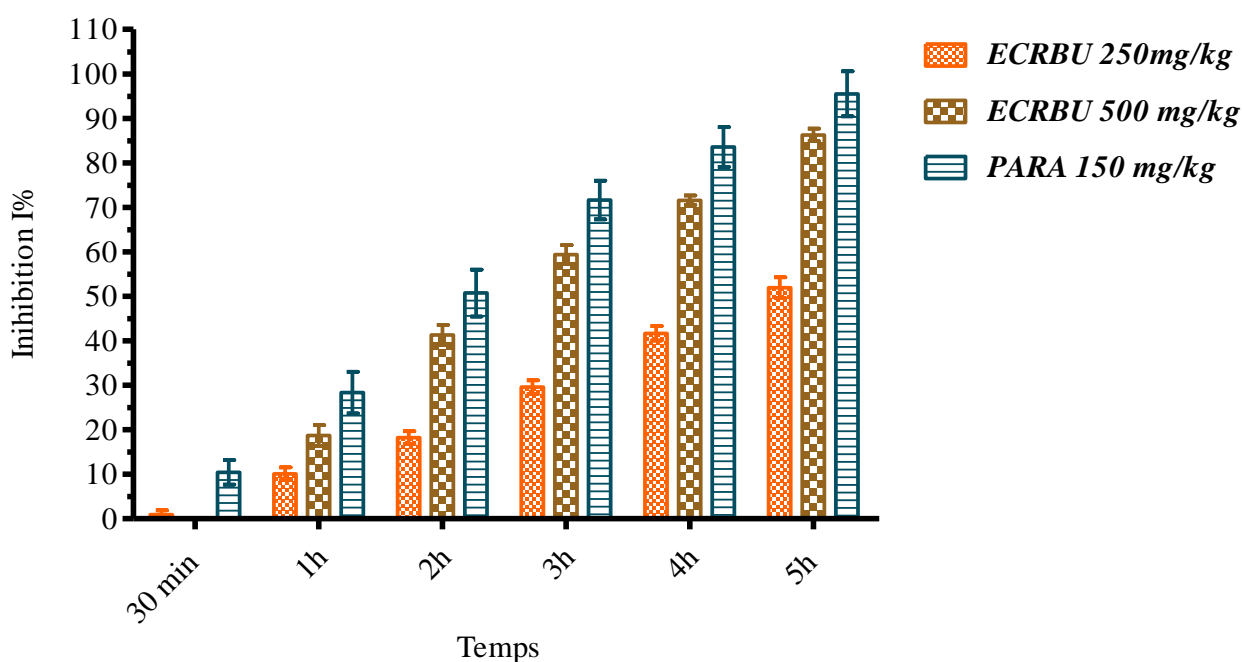
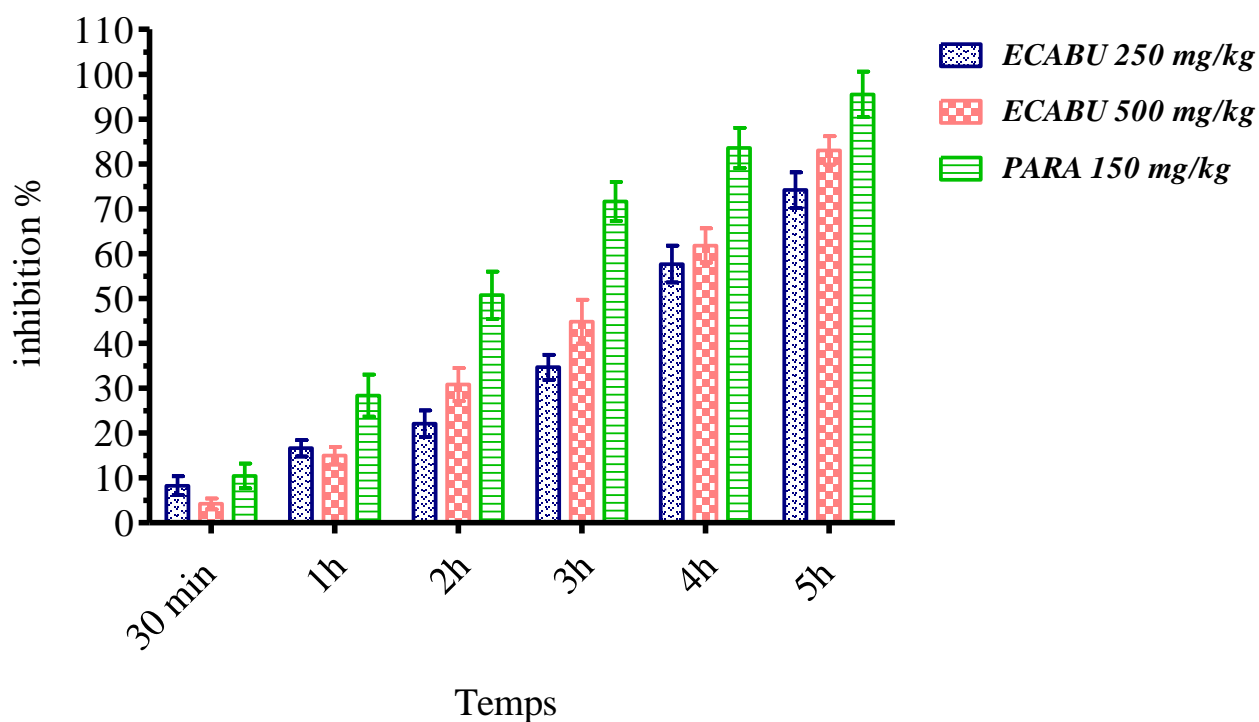


Figure 30 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties ariennes *d'Eryngium campestre* L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats.

RESULTATS ET DISCUSSION

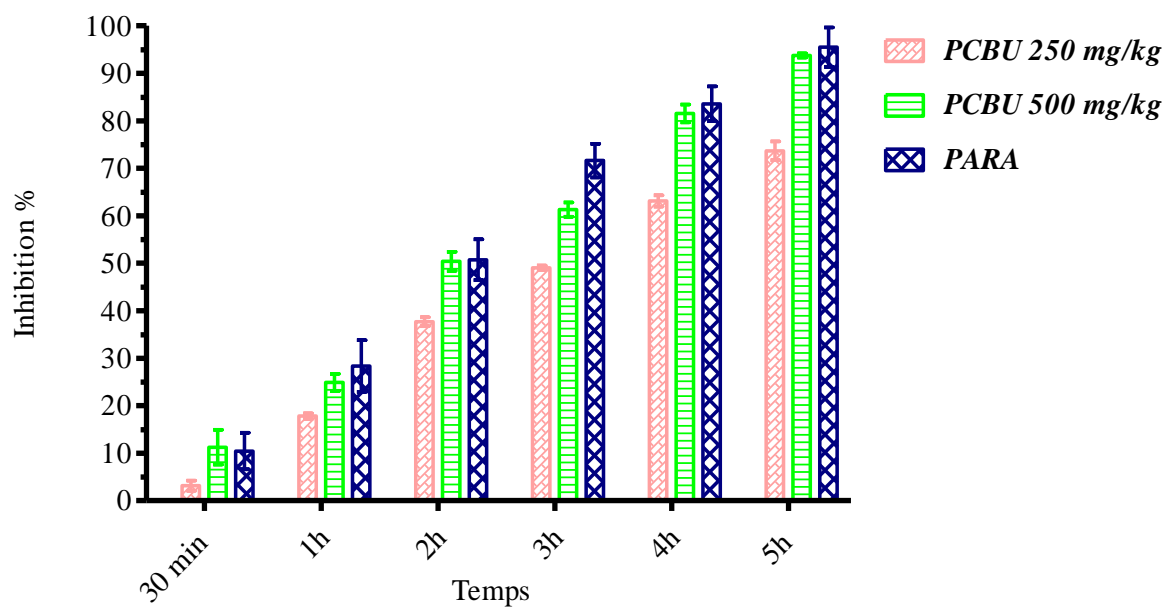


Figure 31 : Effet de l'extrait butanolique de *P. capitata* L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 32 : Effet des extraits butanoliques des racines et les parties ariennes d'*Eryngium campestre* L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats.

| Traitements | Température rectale (° C) avant et après le traitement | | | | | | | |
|-------------------------|--|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | 0h | 18 h | 18 h 30 min | 19 h | 20h | 21h | 22h | 23h |
| Contrôle négatif | 36.70±0.341 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.00±0.162 | 38.00±0.171 | 38.00±0.171 | 37.90±0.172 |
| ECRBU 250 mg/kg | 36.94±0.191 | 38.10±0.122 | 37.98±0.073 ns | 37.74±0.074* | 37.58±0.058* | 37.34±0.067** | 37.18±0.102** | 37.00±0.144** |
| ECRBU 500 mg/kg | 36.26±0.305 | 37.46±0.386 | 37.32±0.398 ns | 36.94±0.199* | 36.84±0.273*** | 36.54±0.261*** | 36.38±0.269*** | 36.32±0.293** |
| ECABU 250 mg/kg | 36.80±0.436 | 37.90±0.170 | 37.80±0.194 ns | 37.70±0.198 ns | 37.70±0.218 ns | 37.50±0.242 ns | 37.30±0.292 * | 37.10±0.367 * |
| ECABU 500 mg/kg | 36.40±0.258 | 37.90±0.222 | 37.80±0.225 ns | 37.70±0.164 * | 37.50±0.176 ** | 37.30±0.196 ** | 37.00±0.206 *** | 36.70±0.230 *** |
| PARA 150 mg/kg | 36.54±0.258 | 37.88±0.222 | 37.74±0.224 ns | 37.50±0.164*** | 37.20±0.176*** | 36.92±0.196*** | 36.76±0.206*** | 36.60±0.230*** |

Moyenne ± SEM (n = 5).ns : non significatif .Significativement différent du contrôle : * p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001. **PARA** : Paracétamol.

Tableau 33 : Effet de l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats.

| TREATMET | Température rectale (° C) avant et après le traitement | | | | | | | |
|-------------------------|--|-------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 0 h | 18 h | 18h 30 min | 19 h | 20 h | 21 h | 22 h | 23 h |
| Contrôle négatif | 36.70±0.341 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.00±0.162 | 38.00±0.171 | 38.00±0.171 | 37.90±0.172 |
| Paracétamol | 36.54±0.258 | 37.88±0.222 | 37.74±0.224 ns | 37.50±0.164 *** | 37.20±0.176*** | 36.92±0.196*** | 36.76±0.206*** | 36.60±0.230*** |
| PCBU 500 mg/kg | 36.26±0.304 | 37.95±0.189 | 37.84±0.112 ns | 37.60±0.148** | 37.20±0.189*** | 37.00±0.216*** | 36.68±0.228*** | 36.44±0.290*** |
| PCBU 250 mg/kg | 36.24±0.299 | 37.60±0.158 | 37.64±0.156 ns | 37.44±0.160 ns | 37.18±0.168* | 37.02±0.180** | 36.82±0.228** | 36.70±0.225** |

Moyenne ± SEM (n = 5).ns : non significatif .Significativement différent du contrôle : ns : non significatif ; * p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001

❖ Discussion

Cette partie de l'étude a été conçue pour évaluer les propriétés antipyrétiques de *ECRBU* l'extrait butanolique des racines d'*Eryngium campestre* L., *ECABU* l'extrait butanolique des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et *PCBU* l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. L'évaluation des propriétés antipyrétiques des extraits a été effectuée en utilisant des tests de fièvre induite par la levure induite par l'injection sous cutanée de la levure de bière chez les rats. La levure de bière est un pyrogène qui est largement utilisé dans les études expérimentales de la fièvre puisque le mécanisme de la fièvre induite par ce dernier est bien compris. L'injection sous-cutanée de levure de bière provoque une inflammation locale avec une fièvre aiguë puissante, lorsqu'il est administré à des animaux de laboratoire [Roth *et al.* 2009; Vasundra Devi & Divya Priya, 2013].

Les pyrogènes exogènes comme les lipopolysaccharides (LPS), *saccharomyces cerevisiae*, etc. induisent la fièvre par leur capacité à agir sur les macrophages, les monocytes et autres cellules immunitaires pour libérer des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), qui agissent comme des pyrogènes endogènes. Ces cytokines parviennent via la circulation sanguine au niveau d'hypothalamus pour déclencher l'augmentation de la valeur de référence des centres thermorégulateurs par l'intermédiaire de la prostaglandine E2 (PGE₂), un métabolite de l'acide arachidonique par la voie de cyclo-oxygénase (COX). La PGE₂ est considérée comme un médiateur pyrogène majeur de la fièvre [Ifesinachi, 2013; Bhowmick *et al.* 2014; Suneel Kumar *et al.* 2015].

L'utilisation thérapeutique à longue durée est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale. Ces effets indésirables sont généralement liés à l'inhibition des isoenzymes cyclo-oxygénases (COX 1 et COX 2) par les AINS classiques. La COX 1 est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus, tandis que la COX 2 est inductible, produit les prostaglandines responsables de la fièvre [Aronoff & Neilson, 2001].

Par conséquent, le développement de nouveaux composés ayant des activités antipyrétiques et anti-inflammatoires avec des profils de sécurité améliorés reste un défi sans fin [Suneel Kumar *et al.* 2015]. Dans ce contexte, le recours aux ressources naturelles et plus particulièrement aux plantes médicinales devient une importante voie alternative pour découvrir des médicaments efficaces avec moins d'effets secondaires [Rajasekaran *et al.* 2010;

RESULTATS ET DISCUSSION

Vasundra Devi & Divya Priya, 2013]. De ce fait, les extraits butanoliques des racines d'*Eryngium campestre* L. **ECRBU**, l'extrait butanolique des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. **ECABU** et l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. **PCBU** ont été examinés comme étant des agents antipyrétiques contre la fièvre induite chez les rats par la levure de bière, à deux doses 250 et 500mg/kg.

Nos résultats expérimentaux ont montré que les fractions butanoliques des racines **ECRBU** et des parties aériennes **ECABU** d'*E. campestre* L. à la dose de 500 mg /kg poids corporel ainsi que le médicament antipyrétique paracétamol possèdent un effet antipyrétique significatif dans le maintien de la température corporelle normale et réduisent la température rectale élevée induite par l'injection sous-cutanée de la suspension de la levure de bière chez les rats de la première heure jusqu'à la fin de l'expérience (5^{ème} h). La dose de 250 mg / kg d'**ECRBU** était un bon agent antipyrétique car elle était capable de diminuer la température corporelle chez les rats. D'autre part, à la dose de 250 mg / kg, **ECABU** a montré une faible activité antipyrétique à la 4^{ème} heure d'administration. La présente étude indique que l'extrait butanolique des racines d'*E. campestre* L. a montré un effet plus prononcé en abaissant l'hyperthermie que l'extrait butanolique des parties aériennes d'*E. campestre* L.

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines PGE₂ pourrait être le mécanisme possible de l'action antipyrétique des extraits butanoliques d'*E. campestre* L. comme celle du paracétamol et l'inhibition de la prostaglandine peut être obtenue en bloquant l'activité de l'enzyme cyclo-oxygénase.

En outre, il existe plusieurs médiateurs intervenant dans la pathogenèse de la fièvre. L'inhibition de l'un de ces médiateurs peut provoquer l'effet antipyrèse des extraits. Cette activité peut être attribuée à la présence d'un ou plusieurs groupes de métabolites secondaires dans les extraits d'*Eryngium campestre* L. Les études menées par **Wang et al. (2012)** et **Erdem et al. (2015)** ont confirmé que des métabolites secondaires tels que flavonoïdes, saponines, monoterpènes, coumarines et composés phénoliques sont présents dans la plante *Eryngium campestre* L.

L'extrait méthanolique de racines de *Peucedanum ostruthium* L. a été examiné pour un effet antipyrétique chez des rats présentant une hyperthermie comparable après injection de levure de bière (60, 300 et 600 mg / kg), les résultats ont montrées que toutes les doses d'extrait ont réduit la hyperthermie [**Hiermann & Schanti 1998**] l'ensemble résultats confirmé nos résultats.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans de nombreuses études antérieures, les flavonoïdes ont montré un effet antipyrétique. Il a été démontré que les flavonoïdes inhibaient les voies de la cyclo-oxygénase et de la lipo-oxygénase. Cette inhibition réduit la libération de la PGE₂. Le mécanisme exact par lequel les flavonoïdes inhibent ces enzymes n'est pas clair. La quercétine, en particulier, inhibe à la fois les activités de la cyclo-oxygénase et de la lipo-oxygénase [Nijveldt *et al.* 2001; Jayaprakasha *et al.* 2005; Agrawal, 2011; Vasundra Devi & Divya Priya, 2013].

La présente étude a révélé que l'extrait butanolique de *P. capitata* L. provoque un effet antipyrétique significatif vis-à-vis de la fièvre provoquée par la levure. Ici, l'extrait butanolique *PCBU* a provoqué des résultats presque similaires en abaissant la température du corps, en comparaison avec celui du médicament standard le paracétamol. On peut prédire que l'exploitation de leur action antipyrétique par inhibition de la synthèse de la prostaglandine dans l'hypothalamus est similaire à celle des AINS. Bien qu'il n'y ait aucune preuve directe que *P. capitata* L. interfère avec la synthèse des prostaglandines dans l'hypothalamus, ceci peut être attribué à la présence de flavonoïdes dans les extraits qui peuvent être impliqués dans l'inhibition de la synthèse des prostaglandines.

A notre connaissance, c'est la première fois que les effets anti-inflammatoires et antipyrétiques d'extrait de *Paronychia capitata* L. sont signalés. Cependant, il y a aussi des rapports que les feuilles provenant d'une espèce étroitement apparentée *Paronychia argentea* Lamk., ont des effets antipyrétiques, antiinflammatoires contre l'inflammation aseptique des voies urinaires [Laid *et al.* 2014], analgésiques [Bouanani *et al.* 2010].

CONCLUSION GENERALE

A blue arrow pointing to the right, containing the text 'CONCLUSION GENERALE'.

IV. Conclusion générale

Notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de molécules actives avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui méritent d'être exploitées (par les recherches). Dans cette optique, notre présent travail a été mené sur deux plantes utilisées en pharmacopée traditionnelle dans la région d'est de l'Algérie : *Eryngium campestre* L. et *Paronychia capitata* L. L'étude bibliographique réalisée sur les deux plantes a montré que l'on ne disposait que de peu d'informations sur ces espèces concernant leur composition chimique et/ou activités biologiques. Pour cette raison, nous avons évalué l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne, la toxicité aiguë, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antipyrétique des différents extraits des deux plantes étudiées.

L'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu ont révélé la présence de quantités importantes de polyphénols. De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$. Considérant les organes, les extraits des parties aériennes d'*E. campestre* L. ont montré les teneurs les plus élevées en ces composés. Par ailleurs, nous avons démontré que l'extrait butanolique de *P. capitata* L. est l'extrait le plus riche en polyphénols ($32.238 \pm 1.404 \mu g$ EAG/mg d'extrait sec). Nos résultats montrent que les deux plantes sont riches en substances phénoliques potentiellement intéressantes pour leurs propriétés biologiques.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits a été réalisée par différentes méthodes, à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, la capacité antioxydante totale CAT, le pouvoir réducteur des ions ferriques FRAP et l'inhibition du blanchiment du β -carotène. Nous avons constaté que, globalement, les différents extraits testés ont présenté des activités antiradicalaires et antioxydantes intéressantes, dépendantes du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes et une corrélation positive forte a été établie.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien vis-à-vis quelques germes pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits d'*E. campestre* L. et de *P. capitata* L. agissent différemment sur les espèces microbiennes testées. D'autre part, la toxicité aiguë par voie orale des extraits butanoliques d'*Eryngium campestre* (racines, parties aériennes) et de *Paronychia capitata* évaluée sur les rats a montré que ces extraits n'induisent aucun effet toxique à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel.

CONCLUSION GENERALE

Du point de vue pharmacologique, l'activité anti-inflammatoire de ces extraits a été évaluée chez le rat. L'œdème a été évalué par la mesure de l'épaisseur (mm) de la patte avant et à des intervalles d'une heure, pendant 5 heures après l'injection d'albumine. Nos résultats montrent que l'injection d'albumine entraîne une augmentation significative du volume de la patte des rats de tous les lots. L'ensemble des résultats montre que l'extrait butanolique des racines et des parties aériennes d'*E. campestre* L. exercent un effet anti-inflammatoire et par ce fait ils pourraient être utilisés comme traitements alternatifs dans la prévention contre l'inflammation. De plus, l'administration orale du diclofénac réduit de façon significative l'œdème de la patte des rats.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique de *Paronychia capitata* L. à la dose de 250 et 500 mg/kg réalisée chez les rats, a montré que les deux doses présentent une forte activité anti-inflammatoire. L'investigation sur l'activité antipyrétique chez les rats des extraits butanoliques des deux plantes montre un effet antipyrétique net à la dose de 500 mg/kg pour les deux plantes comparable à celle du paracétamol (150 mg/kg) après 5 heures de traitement.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Toutefois, nos résultats ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de la recherche.

❖ Perspectives

Le présent travail nous a permis de contribuer à la valorisation d'*Eryngium campestre* L. et *Paronychia capitata* L. Cette étude nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux. Il serait intéressant de :

- Entreprendre une étude phytochimique et continuer la recherche sur les deux espèces étudiées afin d'isoler, purifier et identifier les métabolites secondaires contenues dans ces deux plantes.
- Elargir l'étude du spectre des activités biologiques testées des deux plantes.



Références

➤ Références

1. Abdelguerfi, A., 2003. Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à l'évaluation et la réduction des risques menaçant les éléments de la diversité biologique en Algérie, Bilans des Expertises sur « Les Risques Menaçant la Biodiversité en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31. Algeria.P.13.
2. Abdulmanea, K., Prokudina, E.A., Lanková, P., Vaničková, L., Koblůvská, R., Zelený, V., Lapčík, O., 2012. Immunochemical and HPLC identification of isoflavonoids in the Apiaceae family. *Biochem. Syst. Ecol.* 45, 237–243.
3. Aburjai, T., Hudaib, M., Tayyem, R., 2007. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Ajloun Heights region. *J. Ethnopharmacol.* 110, 294–304.
4. Adzu, B., Amos, S., Kapu, S.D., Gamaniel, K.S., 2003. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Sphaeranthus senegalensis*. *Biological Research For Nursing* 84, 169–173.
5. Afifi, F.U., Al-Khalidi, B., Khalil, E., 2005. Studies on the in vivo hypoglycemic activities of two medicinal plants used in the treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine following intranasal administration. *J. Ethnopharmacol.* 100, 314–318.
6. Agrawal, A.D., 2011. Pharmacological activities of flavonoids: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.* 4, 1394–1398.
7. Akindele, A.J., Adeyemi, O.O., 2007. Antiinflammatory activity of the aqueous leaf extract of *Byrsocarpus coccineus*. *Fitoterapia* 78, 25–28.
8. Akram, M., Usmanghani, K., Hamid, A., Ayaz, S., Asif, H.M., Mohiuddin, E., 2014. Mini Review on Antipyretic activities of Medicinal Plants. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2, 50–53.
9. Alam, M.N., Bristi, N.J., Rafiquzzaman, M., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm. J.* 21, 143–152.
10. Alberto, J., Pérez, M., 2013. Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico, in: Morales-González, J.A. (Ed.), *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*. InTech, pp. 59–85.
11. Alcazar, M.D., Garcia, C., Rivera, D., Obon, C., Murcia, D., Biologia, D., Biologia, D., 1990. Short communication Herbal Remedies As Sold At Murcia And Cartagena (Spain) In The Market Introduction. *J. Ethnopharmacol.* 28, 243–247.
12. Al-Jaber, N.A., Awaad, A.S., Moses, J.E., 2011. Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *J. Saudi Chem. Soc.* 15, 293–307.
13. Allaoua, Z., 2017. Etude phytochimique des espèces: *Pteranthus dichotomus* et *Paronychia capitata*. UNIVERSITE DE BATNA I.
14. Al-Shawi, N.N., et al, 2012. Possible Anti-Inflammatory Effect Of Aqueous Green Tea Extract Against An Acute Inflammation Induced By Egg White In Rats. *Exp.* 2, 102–108.
15. Amabile-Cuevas, C.F., 2009. Global Perspectives of Antibiotic Resistance, in: Sosa, A. de J., Byarugaba, D.K., Bile-Cuevas, C.F.A., L, P.R.H., Kariuki, S., Okeke, I.N. (Eds.), *Antimicrobial Resistance in Developing Countries*. Springer, New York, pp. 3-14.
16. Anosike, C.A., Obidoa, O., Ezeanyika, L.U.S., 2012. The anti-inflammatory activity of garden egg (*Solanum aethiopicum*) on egg albumin-induced oedema and granuloma tissue formation in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 5, 62–66.
17. Anyanwu, M., Okoye, R., 2017. Antimicrobial activity of Nigerian medicinal plants. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 6(2), 240–259.
18. Aqil, F., Zahin, M., Ahmad, I., Owais, M., Sajjad, M., Khan, A., Bansal, S.S., Farooq, S., 2010. Combating fungal infections: Problems and remedy, in: Ahmad, I., Owais, M., Shahid, M., Aqil, F. (Eds.), *Combating Fungal Infections*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 449–484.
19. Aronoff, D.M., Neilson, E.G., 2001. Antipyretics: Mechanisms of action and clinical use in fever suppression. *Am. J. Med.* 111, 304–315.
20. Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J. Food Eng.* 117, 426–436.
21. Baba Alssa, F., 1990. Les plantes médicinales en Algérie.
22. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel Forschung*. 46, 1086–1089.
23. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J. Pharm. Anal.* 6, 71–79.
24. Balunas, M.J., Kinghorn, A.D., 2005. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* 78, 431–441.

25. Banerjee, S., Rajamani, P., 2013. Cellular, Molecular, and Biological Perspective of Polyphenols in Chemoprevention and Therapeutic Adjunct in Cancer, in: Kishan, G.R., Jean-Michel, M. (Eds.), Natural Products Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Springer, New York, pp. 2175–2181.
26. Bannwarth, B., 2007. Mécanismes Physiopathologiques Des Douleurs Inflammatoires Aiguës Et Chroniques, In: Calvino, B., Trèves, R. (Eds.), Douleur, Inflammation Et Interactions Système Nerveux/ Système Immunitaire. Institut UPSA de la douleur, Paris- France, pp. 31–32.
27. Barakat, A.E., Afifi, U.F., 2003. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *J. Ethnopharmacol.* 89, 193–197.
28. Batteux, F., Chéreau, C., Weill, B., 2003. Réaction inflammatoire, in: Weill, B., Batteux, F. (Eds.), Immunopathologie et Réactions Inflammatoires. De Boeck, pp. 13–19.
29. Bbosa, G.S., Mwebaza, N., Odda, J., Kyegombe, D.B., Ntale, M., 2014. Antibiotics / antibacterial drug use , their marketing and promotion during the post-antibiotic golden age and their role in emergence of bacterial resistance. *Health (Irvine. Calif.)* 6, 410–425.
30. Belda, A., Zaragoza, B., Belda, I., Martinez, J., Seva, E., 2013. Traditional knowledge of medicinal plants in the Serra de Mariola Natural Park, South-Eastern Spain. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 10, 299–309.
31. Benítez, G., González-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *J. Ethnopharmacol.* 129, 87–105.
32. Bennett, B.C., 2012. Twenty-five economically important plant families, in: *Economic Botany*. P. 9.
33. Beukelman, C., Henriette, C., van Ufford, Q., Kroes, B., van den Berg, A., van den Worm, E., 2007. Discovery of new anti-inflammatory drugs from plant origin. *Ann. Gastroenterol.* 15, 320–323.
34. Bhowmick, R., Sarwar, M.S., Dewan, S.M.R., Das, A., Das, B., Uddin, M.M.N., Islam, M.S., Islam, M.S., 2014. In vivo analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory potential in Swiss albino mice and in vitro thrombolytic activity of hydroalcoholic extract from *Litsea glutinosa* leaves. *Biol. Res.* 47, 1–8.
35. Bhujade, P.G., Wane, T.P., Nagpurkar, Y.R., Chanekar, P.D., Jain, R.G., Naka, K., 2009. Newsletter Deore et al . *Pharmacology* 2, 61–84.
36. Bidak, L.M., Kamal, S.A., Halmy, M.W.A., Heneidy, S.Z., 2015. Goods and services provided by native plants in desert ecosystems: Examples from the northwestern coastal desert of Egypt. *Glob. Ecol. Conserv.* 3, 433–447.
37. Bittrich, V., 1993. Caryophyllaceae, in: Kubitzki, K., Rohwer, G., Bittrich, V. (Eds.), THE FAMILIES AND GENERA OF VASCULAR PLANTS. Flowering Plants. Dicotyledons Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, German, pp. 206–236.
38. Blainiski, A., Lopes, G.C., De Mello, J.C.P., 2013. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules* 18, 6852–6865.
39. Boligon, A.A., Machado, M.M., Margareth, L.A., 2014. Medicinal chemistry Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med. Chem.* 4, 517–522.
40. Borkotoky, R., Kalita, M.P., Barooah, M., Bora, S.S., Goswami, C., 2013. Evaluation and Screening of Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plants of Assam. *Int. J. Adv. Res. Technol.* 2, 132–139.
41. Bottger, S., Melzig, M.F., 2011. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. *Phytochem. Lett.* 4, 59–68.
42. Bouanani, S., Henchiri, C., Migianu-griffoni, E., Aouf, N., Lecouvey, M., 2010. Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 129, 38–45.
43. Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *J. Ethnopharmacol.* 1–8.
44. Bougandoura, N., Bendimerad, N., 2013. Evaluation de l' activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp . *Nepeta* (L .) Briq . *Nat. Technol. B- Sci. Agron. Biol.* 9, 14–19.
45. Bouzergoune, F., Ciavatta, M.L., Bitam, F., Carbone, M., Aberkane, M.C., Gavagnin, M., 2016. Phytochemical Study of *Eryngium triquetrum*: Isolation of Polyacetylenes and Lignans. *Planta Med.* 82, 1438–1445.

46. Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253.
47. Bylebyl, K., Poschlod, P., Reisch, C., 2008. Genetic variation of *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) in Central Europe. *Mol. Ecol.* 17, 3379–3388.
48. Cádiz-Gurrea, M.d.I.L., Fernández-Arroyo, S., Joven, J., Segura-Carretero, A., 2013. Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Res. Int.* 50, 197–204.
49. Calixto, J.B., Campos, M.M., Santos, A.R.S., 2011. Botanical Analgesic and Anti-Inflammatory Drugs. *Ethnopharmacology II*, 1–8.
50. Calviño, C.I., Martínez, S.G., Downie, S.R., 2008. The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): Rapid radiations, long distance dispersals, and hybridizations. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46, 1129–1150.
51. Campos, R.E., 2010. *Eryngium* (Apiaceae) phytotelmata and their macro-invertebrate communities, including a review and bibliography. *Hydrobiologia* 652, 311–328.
52. Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Rodríguez, R., Aguilar, C.N., 2012. Antifungal Properties of Bioactive Compounds from Plants. *Fungic. Plant Anim. Dis.* 81–106.
53. Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., Serra, D., Santoro, G., Tomi, F., Bighelli, A., Salgueiro, L., Casanova, J., 2011. Composition of a volatile extract of *Eryngium duriaei* subsp. *juriesanum* (M. Laínz) M. Laínz, signalised by the antifungal activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 54, 619–622.
54. Çelik, A., Aydinlik, N., Arslan, I., 2011. Phytochemical constituents and inhibitory activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of *Eryngium* species (Apiaceae). *Chem. Biodivers.* 8, 454–459.
55. Celiktas, O.Y., Kocabas, E.E.H., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T., Baser, K.H.C., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 100, 553–559.
56. Chanda, S., Dave, R., 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties : An overview. *African J. Microbiol. Res.* 3, 981–996.
57. Chanda, S., Dave, R., 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties : An overview. *African J. Microbiol. Res.* 3, 981–996.
58. Chandra, S., Rawat, D.S., 2015. Medicinal plants of the family Caryophyllaceae : a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integr. Med. Res.* 1–9.
59. Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Atik-Bekkara, F., 2014. Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *J. Chinese Med. Assoc.* 77, 302–307.
60. Charles, D.J., 2013. *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer, USA.
61. Claire, E.L., Schwaiger, S., Banaigs, B., Stuppner, H., Gafner, F., 2005. Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4367–4372.
62. Compean, K. L., Ynalvez, R.A., 2014. Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A Review. *Res. J. Med. Plant.*
63. Conea, S., Pâravu, A.E., Taulescu, M.A., Vlase, L., 2015. Effects of *Eryngium planum* and *Eryngium campestre* extracts on ligature-induced rat periodontitis. *Dig. J. Nanomater. Biostructures* 10, 693–704.
64. Cook, N.C., Samman, S., 2006. Dietary Sources. *Flavonoids---Chemistry, Metab. Cardioprot. Eff. Diet. sources* 2863, 66–76.
65. Corazza, F., 2017. L'inflammation : qu'est-ce que c'est ? .université liberté bruxelles.Belgique.P.27.
66. Core, E.L., 1941. North American Species of *Paronychia*. *Am. Midl. Nat.* 26, 369–397.
67. Couplan, F., 2012. *Les plantes et leurs noms: Histoires insolites*. Editions Quae, Paris, France.p.53.
68. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., 2006. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview, in: Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (Eds.), *Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, pp. 1–22.
69. Curini, M., Epifano, F., Menghini, L., 2004. Flavonoids and tocopherols from *Paronychia kapela*. *Chem. Nat. Compd.* 40, 161–162.
70. Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356.
71. Da Silva, L.C.N., Da Silva, C.A., De Souza, R.M., José Macedo, A., Da Silva, M.V., Dos Santos Correia, M.T., 2011. Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2222–2228.

72. Daira, N.E., Maazi, M.C., Chefrou, A., 2016. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. Bull. la Société R. des Sci. Liège 85, 276–290.
73. Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Loi, M.C., Innocenti, G., 2008. Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. Food Chem. 106, 745–749.
74. Darriet, F., 2011. Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corse-Sardaigne : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. Université de Corse-Pascal Paoli. Pp.49-51.
75. Darriet, F., Andreani, S., De Cian, M.C., Costa, J., Muselli, A., 2014. Chemical variability and antioxidant activity of *Eryngium maritimum* L. essential oils from Corsica and Sardinia. Flavour Fragr. J. 29, 3–13.
76. Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M., Tawata, S., 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. Food Control 19, 346–352.
77. Debnath, T., Kim, D.H., Lim, B.O., 2013. Natural products as a source of anti-inflammatory agents associated with inflammatory bowel disease. Molecules 18, 7253–7270.
78. Defraigne, J.O., Pincemail, J., 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Rev Med Liège 63, 10–19.
79. Delahaye, C., Rainford, L., Technologist, S.M., Nicholson, A., Mitchell, S., Lindo, J., Ahmad, M., 2009. Antibacterial and antifungal analysis of crude extracts from the leaves of *Callistemon viminalis*. J. Med. Biol. Sci. 3, 1–7.
80. Dellavalle, P.D., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., Rizza, M.D., 2011. Antifungal activity of medicinal plants extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. Chil. J. Agric. Res. 71, 231–239.
81. Dhiman, R., Aggarwal, N., Aneja, K.R., Kaur, M., 2016. In Vitro Antimicrobial Activity of Spices and Medicinal Herbs against Selected Microbes Associated with Juices. Int. J. Microbiol. 2016.
82. Di Tizio, A., Łuczaj, Ł.J., Quave, C.L., Redžić, S., Pieroni, A., 2012. Traditional food and herbal uses of wild plants in the ancient South-Slavic diaspora of Mundimitar/Montemitro (Southern Italy). J. Ethnobiol. Ethnomed. 8, 1–10.
83. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem. 97, 654–660.
84. Downie, S.R., Katz-Downie, D.S., Sun, F. J., Lee, C. S., 2008. Phylogeny and biogeography of Apiaceae tribe Oenantheae inferred from nuclear rDNA ITS and cpDNA sequences, with emphasis on the North American Endemics clade. Botany 86, 1039–1064.
85. Downie, S.R., Katz-Downie, D.S., Watson, M.F., 2000. A Phylogeny of the Flowering Plant Family Rpo1 Intron Sequences : Towards a Suprageneric Classification of Subfamily a Pioideae 1. Am. J. Bot. 87, 273–292.
86. Ebadollahi, A., 2013. Plant Essential Oils from Apiaceae Family as Alternatives to Conventional Insecticides. Ecol. Balk. 5, 149–172.
87. Edward, J.B., Sinai, M., 2004. An Atlas of the CLINICAL MICROBIOLOGY OF INFECTIOUS DISEASES. The Parthenon Publishing Group, New York . USA. Pp.9-25.
88. El Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2004. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. J. Ethnopharmacol. 91, 43–50.
89. El-soud, N.H.A., Deabes, M.M., El-kassem, L.T.A., Khalil, M.Y., 2012. Antifungal Activity of Family Apiaceae Essential Oils. J. Appl. Sci. Res. 8, 4964–4973.
90. Elkhair, E.A., Fadda, H., Mohsen, U.A., 2010. Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants from Gaza Strip-Palestine. J. Al Azhar Univ. 12, 45–54.
91. Engelhardt, G., Homma, D., Schlegel, K., Utzmann, R., Schnitzler, C., 1995. Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance. Inflamm. Res. 44, 423–433.
92. Erdem, S.A., Mitaine-Offer, A.C., Miyamoto, T., Kartal, M., Lacaille-Dubois, M.A., 2015. Triterpene saponins from *Eryngium kotschyi*. Phytochemistry 110, 160–165.
93. Erdem, S.A., Nabavi, S.F., Orhan, I.E., Daglia, M., Izadi, M., Nabavi, S.M., 2015. Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. DARU J. Pharm. Sci. 23, 53.
94. Es-Safi, N. E., 2012. Plant Polyphenols : Extraction , Structural, in: Rao, V. (Ed.), Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health. InTech, p. 12.

95. Essawi, T., Srour, M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 70, 343–349.
96. Evans, S.S., Repasky, E.A., Fisher, D.T., 2015. Fever and the thermal regulation of immunity: The immune system feels the heat. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 335–349.
97. Fallis, A., Bash, E., Lewandowski, C.M., Co-investigator, N., Lewandowski, C.M., Soediono, B., 2013. Experimente zur Biosynthese der Naphthylisochinolin-Alkaloide sowie, *Journal of Chemical Information and Modeling.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Heidelberg.
98. Favier, A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension. *l'actualité Chim.* 108–115.
99. Favier, A., 2006. Stress oxydant Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr* 64, 390–396.
100. Ferreira, A., Proenc, C., Serralheiro, M.L.M., Ara, M.E.M., 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacol.* 108, 31–37.
101. Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P.L., 2008. Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscany, Italy). *Food Chem.* 107, 671–674.
102. Galam, N.Z., Gambo, I.M., Rabiou, A., Chinelo, N., Dami, S., 2013. Anti-inflammatory Effect of Aqueous Extract of Coffee plant leaves (*Coffea canephora*) in Rats . *J. Nat. Sci. Res.* 3, 2224–2226.
103. Gardès-albert, M., Bonnefont-rousset, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *Actual. Chim.* 91–96.
104. Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M.J., 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1370–1373.
105. Gil-Cardoso, K., Ginés, I., Pinet, M., Ardévol, A., Blay, M., Terra, X., 2016. Effects of flavonoids on intestinal inflammation, barrier integrity and changes in gut microbiota during diet-induced obesity. *Nutr. Res. Rev.* 29, 234–248.
106. Glasby, J.S., 2005. Dictionary of plants containing secondary metabolites. Taylor & Francis Group, London.p462.
107. Gokhale, M., Wadhvani, M., 2015. Antimicrobial Activity Of Secondary Metabolites From Plants- A Review 2, 60–65.
108. Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, Romano, A., 2013. The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Ind. Crops Prod.* 43, 465–471.
109. González, J.A., García-Barriuso, M., Amich, F., 2010. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in the Arribes del Duero, western Spain. *J. Ethnopharmacol.* 131, 343–355..
110. González, J.A., Vallejo, J.R., 2013. The scorpion in Spanish folk medicine: A review of traditional remedies for stings and its use as a therapeutic resource. *J. Ethnopharmacol.* 146, 62–74.
111. González-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., Casares-Porcel, M., Lirola, M.J.M., 1995. New contributions to the ethnopharmacology of Spain. *J. Ethnopharmacol.* 45, 157–165.
112. Gould, K.S., Lister, C., 2006. Flavonoid Functions in Plants, in: Øyvind, M.A., Kenneth, R.M. (Eds.), *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications.* CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 397–398.
113. Greenberg, A.K., Donoghue, M.J., 2011. Molecular systematics and character evolution in Caryophyllaceae. *Taxon* 60, 1637–1652.
114. Guardia, T., Rotelli, A.E., Juarez, A.O., Pelzer, L.E., 2001. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmaco* 56, 683–687.
115. Gülçin, I., 2012. Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Arch. Toxicol.* 86, 345–391.
116. Güne, M.Ş.G., Belgin, S., İsgör, Y.G., Moghaddam, N.S., Geven, F., Yildirim, Ö., 2014. Original article The Effects of *Eryngium campestre* Extracts on Glutathione-S-Transferase , Glutathione Peroxidase and Catalase Enzyme Activities 11, 339–346.
117. Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.* 27, 1–93. doi:10.1016/j.mam.2005.07.008
118. Guyton, A.C., Hall, J.E., 2006. Textbook Of Medical Physiology. Elsevier Inc., Philadelphia, Pennsylvania.Pp.898-900.
119. Hammadi, D., Ahmed, M., Boudjethia, K.W., Boukhalifa, A.I., Djebli, N., 2015. Ethnomedicinal Survey of Medicinal Plants Used in the Western Region of Algeria. *Med. Aromat. Plants* 5, 1–5.

120. Handa, S.S., 2008. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants Sukhdev, in: Handa, S.S., Khanuja, Suman Preet Singh Longo, G., Rakesh, D.D. (Eds.), *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants Scientific Editors: Sukhdev Swami Handa Suman Preet Singh Khanuja Gennaro Longo Dev Dutt Rakesh International Centre For Science And High Technology, Trieste, Italy, Pp. 21-44.
121. Hart, T., Shears, P., 1997. *Atlas de poche de microbiologie*. Pp.71-105.
122. Hawas, U.W., Abou El-Kassem, L.T., Awad, H.M., Taie, H.A.A., 2013. Anti-alzheimer, antioxidant activities and flavonol glycosides of *Eryngium campestre* L. *Curr. Chem. Biol.* 7, 188–195.
123. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13, 572–584.
124. Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., Reginster, J.Y., 2001. Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Rev. Med. Liege* 56, 433–442.
125. Hider, R.C., Liu, Z.D., Khodr, H.H., 2001. Flavonoids and Other Polyphenols. *Methods Enzymol.* 335, 190–203.
126. Hobou, D.R.A.D., Fofié, N.B.Y., N'guessan, K., Koné, D., 2011. Evaluation De La Toxicite De *Stachytarpheta Indica* Chez La Souris. *J. sci. pharm. biol.* 12, 6–12.
127. Holsapple, M.P., Schnur, M., Yim, G.K.W., 1980. Pharmacological modulation of edema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine. *Agents Actions* 10, 368–373.
128. Horáková, L., 2011. Flavonoids in prevention of diseases with respect to modulation of Ca-pump function. *Interdiscip. Toxicol.* 4, 114–124.
129. Huang, D., Boxin, O.U., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841–1856.
130. Ifesinachi, P., 2013. Mechanisms of fever in humans. *Int. J. Microbiol. Immunol. Res.* 2, 37–43.
131. İlhami G. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol.* 86:345–391. 2012.
132. Iloki-Assanga, S.B., Lewis-Luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L., Haines, D.D., 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes* 8, 396-409.
133. Iranshahi, M., Rezaee, R., Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., 2015. Protective effects of flavonoids against microbes and toxins: The cases of hesperidin and hesperetin. *Life Sci.* 137, 125–132.
134. Ivanov, A.I., Romanovsky, A.A., 2004. Prostaglandin E2 as a mediator of fever: Synthesis And Catabolism. *Front. Biosci.* 9, 1977–1993.
135. Jamaluddin, F.R., Lee, S.H., Zaidon, A., Razak, W., Jamaluddin, M.D. 2015. Antimicrobial activities of stem bark and wood extracts from *Nauclea subdita* against pathogenic microorganisms. *Malaysian Journal of Microbiology* 11(4), 365-372.
136. Jang, K.J., Kim, H., Han, M.H., Oh, Y.N., Yoon, H.M., Chung, Y.H., Kim, G.Y., Hwang, H.J., Kim, B.W., Choi, Y.H., 2013. Anti-inflammatory effects of saponins derived from the roots of *Platycodon grandiflorus* in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *Int. J. Mol. Med.* 31, 1357–1366.
137. Jaradat, N.A., Al-Khawaja, M.M., Abu-Hadid, M.M., 2015. Novel serial extraction method for antibacterial and antifungal evaluations of the entire *Eryngium campestre* L. plant from Jerusalem/Palestine. *J. Chem. Pharm. Res.* 7, 905–913.
138. Jayaprakasha, G., Jaganmohanrao, L., Sakariah, K., 2005. Chemistry and biological activities of. *Trends Food Sci. Technol.* 16, 533–548.
139. Jesske, T., Brandes, D., 2012. Untersuchungen zur Keimung von *Eryngium campestre* L. Technical University of Braunschweig. Germany.
140. Joao, B.C., Otuki, M.F., Adair, R.S. 2003. Anti-Inflammatory Compounds of Plant Origin. Part I. Action on Arachidonic Acid Pathway, Nitric Oxide and Nuclear Factor k B (NF-kB). *Planta. Med.* 69, 973-983.
141. Jothy, S.L., Zakaria, Z., Chen, Y., Lau, Y.L., Latha, L.Y., Sasidharan, S., 2011. Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. *Molecules* 16, 5268–5282.
142. Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S., Skaria, B.P., 1998. *Medicinal Plants, Medicinal Plants*. Kerala Agricultural University, Kerala, India. Pp.3-5.
143. Kalemba, D., Kalemba, D., Kunicka, A., Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10, 813–29.

144. Kang, J.H., Sung, M.K., Kawada, T., Yoo, H., Kim, Y.K., Kim, J.S., Yu, R., 2005. Soybean saponins suppress the release of proinflammatory mediators by LPS-stimulated peritoneal macrophages. *Cancer Lett.* 230, 219–227.
145. Kapoor, A., Kaur, G., Kaur, R., 2015. Antimicrobial Activity of Different Herbal Plants Extracts : a Review. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 4, 422–459.
146. Kartal, M., Mitaine-Offer, A.C., Abu-Asaker, M., Miyamoto, T., Calis, I., Wagner, H., Lacaille-Dubois, M.A., 2005. Two new triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *Chem. Pharm. Bull.* 53, 1318–20.
147. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A., 2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.* 100, 584–589.
148. Kasabri, V., Afifi, F.U., Hamdan, I., 2011. Evaluation of the acute antihyperglycemic effects of four selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. *Pharm. Biol.* 49, 687–695.
149. Kasprzak, M.M., Erxleben, A., Ochocki, J., 2012. Properties and applications of flavonoid metal complexes. *R. Soc. Chem.* 8, 1–3.
150. Kevin, L.Y.W., Hussin, A.H., Zhari, I., Chin, J.H., 2012. Sub-acute oral toxicity study of methanol leaves extract of *Catharanthus roseus* in rats. *J. Acute Dis.* 38–41.
151. Khaldi, S., Chaouachi, F., Ksouri, R., Gazzah, M. El, 2013. Polyphenolic Composition in Different Organs of Tunisia Populations of *Cynara Cardunculus*.L and Their Antioxidant Activity. *J. Food Nutr. Res.* 1, 1–6.
152. Khalfallah, A., Berrehal, D., Kabouche, A., Karioti, A., Bilia, A.R., Kabouche, Z., 2014. Flavonoids, antioxidant and antibacterial activities of *eryngium triquetrum*. *Chem. Nat. Compd.* 50, 130–132.
153. Khan, A., Rahman, M., Islam, S., 2008. Antipyretic activity of *Peperomia pellucida* leaves in rabbit. *Turkish J. Biol.* 32, 37–41.
154. Khan, W., Bakht, J., Shafi, M., 2016. Evaluation of polyphenol content in different parts of *physalis ixocarpa*. *Pakistan J. Bot.* 48, 1145–1151.
155. Kholkhal, W., Ilias, F., Bekhechi, C., Bekkara, F.A., 2012. *Eryngium maritimum*: A Rich Medicinal Plant of Polyphenols and Flavonoids Compounds with Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities. *Curr. Res. J. Biol. Sci.* 4, 437–443.
156. Kikowska, M., Dworacka, M., Kędziora, I., Thiem, B., 2016. *Eryngium creticum* – ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological activity. A review. *Rev. Bras. Farmacogn.* 26, 392–399.
157. Koné, W.M., Kamanzi Atindehou, K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M., 2004. Traditional medicine in North Côte-d’Ivoire: Screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 93, 43–49.
158. Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Kustrak, D., 2005. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharm.* 55, 377–385.
159. Kumar, S., Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview. *Sci. World J.* 1–16.
160. Küpeli, E., Kartal, M., Aslan, S., Yesilada, E., 2006. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *J. Ethnopharmacol.* 107, 32–37.
161. Lacaille-Dubois, M.A., Wagner, H., 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* 2, 363–386.
162. Lagrouh, F., Dakka, N., Bakri, Y., 2017. The antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. *J. Mycol. Med.* 27, 303–311.
163. Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., Hseini, S., 2009. Catalogue Des Plantes Medicinales Utilisees Dans La Region De Zaër (Maroc Occidental). *LEJEUNIA; Rev. Bot.* 186, 8.
164. Laid, B., Khellaf, R., Mouloud, G., Rabah, B., Faiçal, B., Hamenna, B., 2014. Ethnobotanical study of medicinal plants in djebel messaad region (m’sila, algeria). *Glob. J Res. Med. Plants Indig. Med.* 3, 445–459.
165. Lalitha, P., Sripathi, S.K., Jayanthi, P., 2012. Cute Toxicity Study Of Extracts Of *Eichhornia Crassipes* (Mart.) Solms. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 5, 24–26.
166. Lattanzio, V., 2013. Phenolic Compounds: Introduction, in: Kishan, G.R., Merillon, J.-M. (Eds.), *Natural Products*. Springer-Verlag, Berlin. Pp. 1543–1598.
167. Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M., 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 125, 288–306.
168. Loporatti, M.L., Ivancheva, S., 2003. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J. Ethnopharmacol.* 87, 123–142.

169. Lewis, K., Ausubel, F.M., 2006. Prospects for plant-derived antibacterials. *Nat. Biotechnol.* 24, 1504–1507.
170. Li, H., Cheng, K., Wong, C., Fan, K., Chen, F., Jiang, Y., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.* 102, 771–776.
171. Li, H., Lu, X., Zhang, S., Lu, M., Liu, H., 2008. Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Pholiota nameko*. *Biochem.* 73, 669–675.
172. Lim, T., 2012. *Edible Medicinal and Non-Medical Plants*. p51.
173. Lin, J.-K., WENG, M.-S., 2006. Flavonoids as nutraceuticals, in: Grotewold, E. (Ed.), *The Science of Flavonoids*. Springer, USA, pp. 213–238.
174. Liu, J., Shi, L., Han, J., Li, G., Lu, H., Hou, J., Zhou, X., Meng, F., Downie, S.R., 2014. Identification of species in the angiosperm family Apiaceae using DNA barcodes. *Mol. Ecol. Resour.* 14, 1231–1238.
175. Mag, P., N, S.B., Nayak, B.S., Seth, K., Jalalpure, S.S., Patel, K.N., Patel, M., Mishra, D., 2006. Search for medicinal plants as a source of anti-inflammatory and anti-arthritic agents - A review. *Pharmacogn. Mag.* 2, 77–86.
176. Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles, C., Perez, C., Colella, M., Olaizola, C., Ontiveros, Y., 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Int. J. Infect. Dis.* 8, 39–45.
177. Mansouri, A.; Embarek, G.; Kokkalou, E.; Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.*, 2005, 89, 411-420.
178. Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17, 24–38.
179. Marčetić, M., Petrović, S., Milenković, M., Niketić, M., 2014. Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (*Apiaceae*). *Open Life Sci.* 9, 149–155.
180. Masadeh, M.M., Alkofahi, A.S., Alzoubi, K.H., Tumah, H.N., Bani-hani, K., 2014. Anti-*Helicobacter pylori* activity of some Jordanian medicinal plants. *Pharm Biol* 52, 566–569.
181. Masullo, M., Piacente, S., 2014. Fitoterapia Oleanane type glycosides from *Paronychia anatolica* subsp. *balansae*. *Fitoterapia* 92, 274–279.
182. Megdiche Ksouri, W., Chaouachi F., M'Rabet R., Medini F., Zaouali Y., Trabelsi N., Ksouri R., Noumi E., Abdelly C., 2011. Antioxidant and antimicrobial properties of *Frankenia thymifolia* Desf. fractions and their related biomolecules identification by gas chromatography/ mass spectrometry (GC/MS) and high performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Medicinal Plants Research* 5(24), 5754-5765.
183. Merghem, R., Jay, M., Viricel, M.R., Bayet, C., Voirin, B., 1995. Five 8-C-benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (*Labiatae*). *Phytochemistry* 38, 637–640.
184. Merve, Ş.G.G., Gör, B.S.İ.Ş., Gör, Y.G.İ.Ş., 2014. Original article The Effects of *Eryngium campestre* Extracts on Glutathione-S-Transferase, Glutathione Peroxidase and Catalase Enzyme Activities 11, 339–346.
185. Mohammed, M.S., Osman, W.J.A., Garelnabi, E.A.E., Osman, Z., Osman, B., Khalid, H.S., Mohamed, M.A., 2014. Secondary metabolites as anti-inflammatory agents. *J. Phytopharm.* 3, 275–285.
186. Mohammedi, Z., 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. *Univ. de Tlemcen*.
187. Moloney, M.G., 2016. Natural Products as a Source for Novel Antibiotics. *Trends Pharmacol. Sci.* 37, 689–701.
188. Morrissey, J.P., Osbourn, A.E., 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 708–24.
189. Mukinda, J.T., Syce, J.A., 2007. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 112, 138–144.
190. Muko, K.N., Ohiri, F.C., 2000. A preliminary study on the anti-inflammatory properties of *Emilia sonchifolia* leaf extracts. *Fitoterapia* 71, 65–68.
191. Munuswamy, H., Thirunavukkarasu, T., Rajamani, S., Elumalai, E.K., Ernest, D., 2013. A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu. *J. Acute Dis.* 2, 99–105.
192. Murtaza, G., Mukhtar, M., Sarfraz, A., 2015. A Review : Antifungal Potentials of Medicinal Plants. *J. Bioresour. Manag.* 2, 23–31.
193. Murugesan, D., Deviponnuswamy, R., 2014. Potensial anti-inflammatory medicinal plants- a review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 6, 43–49.

194. Nair, R., Chanda, S., 2005. Anticandidal activity of *Punica granatum* exhibited in different solvents. *Pharm. Biol.* 43, 21–25.
195. Ncube, N.S., Afolayan, A.J., Okoh, A.I., Ncube, N.S., Afolayan, A.J., Afolayan, A.J., Okoh, A.I., Okoh, A.I., 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin : current methods and future trends. *African J. Biotechnol.* 7, 1797–1806.
196. Nebija, F., Stefkov, G., Karapandzova, M., Stafilov, T., Panovska, T.K., Kulevanova, S., 2009. Chemical characterization and antioxidant activity of *Eryngium campestre* L., Apiaceae from Kosovo. *Maced. Pharm. Bull.* 55, 22–32.
197. Newman, D., Cragg, G., Snader, K., 2003. Natural Products as sources of New Drugs over the Period 1981 - 2002. *J. Nat. Prod.* 66, 1022–1037.
198. Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D.W., Gathumbi, P.K., Kabasa, J.D., Kiama, S.G., 2012. Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodiversity using Brine Shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae). *Open Conf. Proc. J.* 3, 30–34.
199. Nijveldt, R.J., Nood, E., Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Norren, K., Leeuwen, P.A., 2001. Review Article Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and. *Am. J. Clin. Nutr.* 74, 418–425.
200. Novaretti, R., Lemordantb, D., 1990. Plants in the traditional medicine of the UBAYE Valley. *J. Ethnopharmacol.* 30, 1–34.
201. Ohshima, H., Miyoshi, N., Susumu, T., 2014. Infection, Inflammation, And Cancer: Overview, In: Hiraku, Y., Kawanishi, S., Hiroshi, O. (Eds.), *Cancer And Inflammation Mechanisms*. JohnWiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey., pp. 1–9.
202. Ojewole, J.A.O., 2005. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. *J. Ethnopharmacol.* 99, 13–19.
203. Okoli, C.O., Akah, P.A., Nwafor, S. V, 2003. Anti-inflammatory activity of plants. *J. Nat. REMEDIES* 3, 1–30.
204. Okoli, C.O., Akah, P.A., Nwafor, S. V., Anisiobi, A.I., Ibegbunam, I.N., Erojikwe, O., 2007. Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams. *J. Ethnopharmacol.* 109, 219–225.
205. Oktay, M., Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö.I., 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *LWT - Food Sci. Technol.* 36, 263–271.
206. Oliveira, A.A, Jorge, F.S., Vespasiano, Y.K. S, Elida, C.G.M., Magda, C., Gonçalves, A., Roberto, P., Bezerra, M., Junior, O.M., Kanzaki, L.I.B., 2013. Antimicrobial activity of Amazonian medicinal plants Springer Plus 2, 1-6.
207. Olson, H., Betton, G., Robinson, D., Thomas, K., Monro, A., Kolaja, G., Lilly, P., Sanders, J., Sipes, G., Bracken, W., Dorato, M., Van Deun, K., Smith, P., Berger, B., Heller, A., 2000. Concordance of the Toxicity of Pharmaceuticals in Humans and in Animals. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 32, 56–67.
208. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., Bassami, M.R., 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chem.* 120, 765–770.
209. Paiva, P., Gomes, F., Napoleão, T., 2010. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Curr. Res.* 396–406.
210. Panda, S.K., 2012. Screening Methods in the Study of Fungicidal Property of Medicinal Plants. *Int. J. Biotechnol. Res.* 2, 1–35.
211. Panda, S.K., 2012. Screening Methods in the Study of Fungicidal Property of Medicinal Plants Screening Methods in the Study of Fungicidal Property of Medicinal Plants 2, 1–35.
212. Pasquier, C., 1995. Stress oxydatif et inflammation. *Rev. Fr. des Lab.* 276, 87–92.
213. Paur, I., Carlsen, M.H., Halvorsen, B.L., Blomhoff, R., 2011. Herbel Medicine Biomolecula and clinical aspects, in: Benzie, I.F.F., Wachtel-Galor, S. (Eds.), *Herbel Medicine Biomolecula and Clinical Aspects*. Taylor & Francis Group, New York, pp. 11–33.
214. Perron, N.R., Brumaghim, J.L., 2009. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys.* 53, 75–100.
215. Perron, N.R., García, C.R., Pinzón, J.R., Chaur, M.N., Brumaghim, J.L., 2011. Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *J. Inorg. Biochem.* 105, 745–753.
216. Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.* 4, 89–96.
217. Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 97, 55–74.

218. Podolak, I., Galanty, A., Sobolewska, D., 2010. Saponins as cytotoxic agents : a review. *Phytochem Rev* 9, 425–474.
219. Pousset, J., 1998. *Plantes medicinales africaines Utilisation Pratique*, ellipses. ed. Agence De Coopération Culturelle Et Technique.p5.
220. Prakash, P., Gupta, N., 2005. Therapeutic Uses Of *Ocimum Sanctum* Linn (Tulsi) With A Note On Eugenol And Its Pharmacological Actions : A Short Review. *Indian J Physiol Pharmacol* 49, 125–131.
221. Price III, J.A., 2016. An in vitro evaluation of the Native American ethnomedicinal plant *Eryngium yuccifolium* as a treatment for snakebite envenomation. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 5, 219–225.
222. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Anal. Biochem.* 269, 337–341.
223. Pushpangadan, P., Ijnu, T.P., George, V., 2015. Plant based anti-inflammatory secondary metabolites. *Ann. Phytomedicine* 4, 17–36.
224. Quattrocchi, U.F.L.S., 2013. *CRC World Dictionary of MEDICINAL AND POISONOUS PLANTS Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymolo*, Journal of Chemical Information and Modeling. CRC Press Taylor& Francis Group, Boca Raton.p2793.
225. Quezel, P., Santa, S., *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Vol. 1-2; CNRS: Paris, 1963.
226. Rahmatullah, M., Rahman, T., Jahan, R., 2012. Anti-Malarial Plants Used in Folk Medicine in Bangladesh, in: Mahendra, R., Geoffrey, A.C., Martínez, J.L., Marinoff, M., Rastrell, L. (Eds.), *Medicinal Plants Biodiversity and Drugs*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, p. 24
227. Rajasekaran, A., Arivukkarasu, R., Murugesh, S., 2010. Evaluation of antipyretic activity of ethyl acetate extract of *Adenema hyssopifolium* G. Don in a rat model. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 3, 523–526.
228. Rakotomalala, R., 2015. *Analyse de corrélation*. Université Lumière Lyon 2.France.p10.
229. Rankin, J.A., 2004. Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin. Issues* 15, 3–17.
230. Rhiouani, H., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2008. Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 118, 378–386.
231. Rios, J.L., Recio, M.C., Villar, A., 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *J. Ethnopharmacol.* 23, 127–149.
232. Rivera-Nunez, D., Obon-De-Castro, C., 1993. *Ethnopharmacology of Murcia (SE Spain)*. *Médicaments Aliment. l'approche Ethnopharmacol.* 215–239.
233. Rodrigo, R., 2009. *Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Disease*. Nova Biomedical Books, New York.358p.
234. Rojas-Silva, P., Graziose, R., Vesely, B., Poulev, A., Mbeunkui, F., Grace, M.H., Kyle, D.E., Lila, M.A., Raskin, I., 2014. Leishmanicidal activity of a daucane sesquiterpene isolated from *Eryngium foetidum*. *Pezzuto Pharm Biol* 52, 398–401.
235. Rolland, Y., 2004. Antioxydants naturels végétaux. *OCL - Ol. Corps Gras Lipides* 11, 419–424.
236. Rotelli, A.E., Guardia, T., Juárez, A.O., De La Rocha, N.E., Pelzer, L.E., 2003. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol. Res.* 48, 601–606.
237. Roth, J., Rummel, C., Barth, S.W., Gerstberger, R., Hübschle, T., 2009. Molecular Aspects of Fever and Hyperthermia. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 29, 229–245.
238. Sachan, S., Singh, M.P., 2013. Anti-inflammatory activity of quercetin in acute , sub-acute and chronic phases of inflammation in animal models. *J. ofChemical Pharm. Res.* 5, 152–155.
239. Sait, S., Hamri-Zeghichi, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Rigou, P., Brighenti, V., Pio Prencipe, F., Benvenuti, S., Pellati, F., 2015. HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 111, 231–240.
240. Salem Alrawaiq, N., Abdullah, A., 2014. A review of flavonoid quercetin: Metabolism, Bioactivity and antioxidant properties. *Int. J. PharmTech Res.* 6, 933–941.
241. Sanda, V., Biljana, B., 2012. Plant Polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health, in: Venketeshwe, R. (Ed.), *Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*. InTech, pp. 155–180.
242. Santayana, M.P. De, Blanco, E., Jard, R., 2005. Plants known as té in Spain : An ethno-pharmacobotanical review. *J. Ethnopharmacol.* 98, 1–19.
243. Sathya, M., Kokilavani, R., Ananta Teepa, K., 2012. Acute And Subacute Toxicity Studies Of Ethanolic Extract Of *Acalypha Indica* Linn In Male Wistar Albino Rats Sathya. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 5, 3–6.

244. Sawadogo, W.R., Boly, R., Lompo, M., Some, N., 2006. Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of *Dicliptera verticillata*. *International Journal of Pharmacology* 2(4), 435-438.
245. Scalbert, A., Johnson, I.T., Saltmarsh, M., 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 215–217.
246. Schieber, M., Chandel, N.S., 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress *Michael* 24, 1–25.
247. Sen, A., Batra, A., 2012. Evaluation of Antimicrobial Activity of Different Solvent Extracts of Medicinal Plant: *Melia Azedarach L.* *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 4, 67–73.
248. Sener, B., Bingol, F., 1988. Screening of natural sources for antiinflammatory activity (Review). *Int. J. Crude Drug Res.* 26, 197–207.
249. Sharadanand Phatak, R., Subhash Hendre, A., Rohan Sharadanand Phatak, C., 2014. Total antioxidant capacity (TAC) of fresh leaves of *Kalanchoe pinnata*. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2, 32–35.
250. Sharma, A., Shanker, C., Tyagi, L.K., Singh, M., Rao, C. V, 2008. Herbal Medicine for Market Potential in India: An Overview. *Acad. J. Plant Sci.* 1, 26–36.
251. Shashank, K., Abhay, K., 2013. Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Sci. World J* 4, 32–48.
252. She Menglan, Fading, Pu, Zehui, Pan, Watson, Mark F., Cannon, John F. M., Holmes-Smith, Ingrid, Eugene, V. Kljuykov, Phillippe, Loy R., Pimenov, M.G., 2005. Antibacterial Activity of Some Plants From Family Apiaceae in Relation To Selected Phytopathogenic Bacteria. *Flora of China* 14, 1–205.
253. Sifouane, S., 2012. Etude Phytochimique De La Plante *Eryngium Campestre*. Universite Hadj Lakhdar Batna. 111p.
254. Silva, N., Fernandes Júnior, A., 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 16, 402–413.
255. Singh, A.K., Attrey, D.P., Deep, P., Dubey, S., Naved, T., Roy, B., 2014. Acute & Sub-Acute Toxicity Studies Of Pharmacologically Active Seabuckthorn Leaf Extract Plant material. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 6, 415–419.
256. Singh, N., Haldar, S., Tripathi, A.K., Horback, K., Wong, J., Sharma, D., Beserra, A., Suda, S., Anbalagan, C., Dev, S., Mukhopadhyay, C.K., Singh, A., 2014. Brain Iron Homeostasis: From Molecular Mechanisms To Clinical Significance and Therapeutic Opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 1324–1363.
257. Singh, A.K., 2008. Hydrolytic Maceration, Expression and Cold Fat Extraction, in: Handa, S.S., Khanuja, Suman Preet Singh Longo, G., Rakesh, D.D. (Eds.), *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. ICS-UNIDO, Trieste, Italy,
258. Singh, S., Singh, R.P., 2008. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. *Food Rev. Int.* 24, 392–415.
259. Slemmer, J.E., Shacka, J.J., Sweeney, M.I., Weber, J.T., 2008. Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging. *Curr. Med. Chem.* 15, 404–414.
260. Smissen, R.D., Clement, J.C., Garnock-Jones, P.J., Chambers, G.K., 2002. Subfamilial Relationships Within Caryophyllaceae As Inferred From 5' NDHF Sequences. *Am. J. Bot.* 89, 1336–1341.
261. Soni, A., Sosa, S., 2013. Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. *J. Pharmacogn. Phytochem. JPP* 22, 22–29.
262. Sparg, S.G., Light, M.E., Staden, J. Van, 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.* 94, 219–243.
263. Stefanović, O., Radojević, I., Vasić, S., Čomić, L., 2012. Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants, in: Bobbarala, V. (Ed.), *Antimicrobial Agents*. InTech, Rijeka, Croatia, pp. 3–25.
264. Steiner, A.A., Ivanov, A.I., Serrats, J., Hosokawa, H., Phayre, A.N., Robbins, J.R., Roberts, J.L., Kobayashi, S., Matsumura, K., Sawchenko, P.E., Romanovsky, A.A., 2006. Cellular and molecular bases of the initiation of fever. *PLoS Biol.* 4, 1517–1524.
265. Strzelecka, M., Bzowska, M., Koziel, J., Szuba, B., Dubiel, O., Rivera Nunez, D., Heinrich, M., Bereta, J., 2005. Anti-Inflammatory Plants. *J. Physiol. Pharmacol.* 56, 139–156.
266. Sukhdev, S.H., Suman P.S.K., Gennaro, L., Dev, D. R., 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Ternational Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy. p.22.

267. Sulaiman, M., 2013. An Overview of Natural Plant Antioxidants: Analysis and Evaluation. *Adv. Biochem.* 1, 64.
268. Sultana, S., Asif, H.M., Akhtar, N., Ahmad, K., 2015. Medicinal plants with potential antipyretic activity: A review. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 5, 202–S208.
269. Suneel Kumar, A., Venkatarathanamma, V., Naga Saibabu, V., Seetha Ram, K., 2015. Antipyretic activity of annona plants leaves on brewer's yeast induced febrile rats. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 8, 210–212.
270. Talhouk, R.S., Salloum, R., Homaidan, F.R., 2012. Inflammatory Diseases: Mechanisms and Natural Remedies, in: Rai, M., Cordell, G.A., Martínez, J.L., Marinoff, M., Rastrelli, L. (Eds.), *Medicinal Plants*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 495–525.
271. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* 104, 1372–1378. doi:10.1016/j.foodchem.2007.01.064
272. Trinity, J.D., Pahnke, M.D., Trombold, J.R., Coyle, E.F., 2014. Impact of polyphenol antioxidants on cycling performance and cardiovascular function. *Nutrients* 6, 1273–1292.
273. Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2, 1231–1246.
274. Tulsawani, R., 2010. Ninety day repeated gavage administration of *Hippophae rhamnoides* extract in rats. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2483–2489.
275. Ukwuani, A.N., Abubakar, M.G., Warra, S.H., Agaie, B.M., 2012. Antipyretic activity of some Nigerian medicinal plants in rats. *Int. J. Pharm. Clin. Res.* 4, 48–51.
276. Ural, I.O., Kayalar, H., Durmuskahya, C., Cavus, I., Ozbilgin, A., 2014. In vivo antimalarial activity of methanol and water extracts of *Eryngium thorifolium* boiss (apiaceae family) against *P. berghei* in infected mice. *Trop. J. Pharm. Res.* 13, 1313–1317.
277. Uttara, B., Singh, A. V, Zamboni, P., Mahajan, R.T., 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr. Neuropharmacol.* 7, 65–74.
278. Vashist, H., Jindal, A., 2012. Antimicrobial Activities of Medicinal Plants – Review. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 3, 222–230.
279. Vasundra Devi, P.A., Divya Priya, S., 2013. Antipyretic activity of ethanol and aqueous extract of root of *Asparagus racemosus* in yeast induced pyrexia. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 6, 190–193.
280. Verbois, S., 2015. LA PHYTOTHERAPIE, Groupe Eyr. ed. Eyrolles, Saim-Germain.France.p5.
281. Vikrant, A., Arya, M.L., 2011. Department of Pharmacognosy , Amar Shaheed Baba Ajit Singh Jujhar Singh Memorial. *Int. J. PharmTech Res.* 3, 899–908.
282. Vinay, K.V., Zeashan, H., Minakshi, V., 2014. Antiinflammatory and antinociceptive activity of *moringa oleifera*. *J. Biomed. Pharm. Res.* 3, 14–21.
283. Vladimir-kneževi, S., Blažekovi, B., 2012. Plant Polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health. *Phytochem. as Nutraceuticals – Glob. Approaches to Their Role Nutr. Heal.* 155–180.
284. Wallace, H.M., 2011. Risk perception in toxicology-part II: Toxicology must be the solution not the problem. *Toxicol. Sci.* 121, 7–10.
285. Walum, E., 1998. Acute oral toxicity. *Environ. Health Perspect.* 106 Suppl 2, 497–503.
286. Wang, P., Su, Z., Li, W.Y., Shiyou, G.D., 2012. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharm. Crop.* 3, 99–120.
287. Wang, P., Yuan, W., Deng, G., Su, Z., Li, S., 2013. Triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium* “Kershaw Blue.” *Phytochem. Lett.* 6, 306–309.
288. Watson, R.R., 2014. *Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation*. Elsevier Inc., USA.
289. Wiart, C., 2006. *Medicinal Plants Of The Aisa-Pacific: Drugs For The Future*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 5, Singapore.Pp.21-26.
290. Wink, M., 2010. *Annual Plant Reviews Vol. 39 Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*. A John Wiley & Sons, Ltd., United Kingdom.
291. Winyard, P.G., 2003. Key Stages in the Acute Inflammatory Response and Their Relevance as Therapeutic Targets, in: Winyard, P.G., Willoughby, D. (Eds.), *Inflammation Protocols*. Humana Press Inc., p3.
292. World Health Organization (WHO), 2002. *WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005*, World Health Organisation Geneva. Pp.1-3.
293. World Health Organization report; 2004. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. France. Publications of the World Health Organization. p.19

294. Zhang, Z., Li, S., Ownby, S., Wang, P., Yuan, W., Zhang, W., Scott Beasley, R., 2008. Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry* 69, 2070–2080.
295. Zohra, M., Fawzia, A., 2014. Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. *Int. J. Pharma Sci. Res.* 5, 495–500.

➤ **Les sites web**

1. Laboratoire NUTRIXEAL, Antioxydants naturels, sur [http : //www.nutrixeal.fr/antioxydants-naturels-c102x1145087](http://www.nutrixeal.fr/antioxydants-naturels-c102x1145087), consulté le 10/01/2018.
2. Les champignons, sur [http : //www.cyclamen.com](http://www.cyclamen.com), consulté le 21 /04/2017.
3. Tela Botanica Le réseau de la botanique francophone, sur [http : //www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org), consulté le 22, 23,25 /08/2017.
4. Frann Leach, Field eryngo health benefits, sur <http://www.frannsalthealth.com/blog/field-eryngo-health-benefits>, consulté le 23, 24 /08/2017.
5. Herbario Virtual De Banyeres De Mariola Y Alicante : *Paronychia capitata* - Asperilla - Herba de la plata, sur [http : //herbariovirtualbanyeres.blogspot.com](http://herbariovirtualbanyeres.blogspot.com), consulté le 23, 24 /08/2017.
6. *Paronychia capitata* (L.) Lam., 1779 - Paronyque en tête-Taxonomie, sur [http : //inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/112431/tab/taxo](http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/112431/tab/taxo), consulté le 28 /08/2017.
7. [http : //www.maphill.com](http://www.maphill.com), consulté le 16 /08/2017.
8. Plants for A Future, sur [http : //www.pfaf.org](http://www.pfaf.org), consulté le 23 /08/2017.



Annexe

Valorisation des travaux de la thèse

Les travaux relatés dans ce manuscrit ont fait l'objet de deux publications scientifiques dans des journaux internationaux indexés dans SCOPUS à comité de lecture.

Publications scientifiques dans des revues à comité de lecture

1. *Current Bioactive Compounds* 2017, 13, 340-346; **RESEARCH ARTICLE**
Investigation of In vitro Antioxidant Activity and In vivo Antipyretic and Anti-inflammatory Activities of Algerian *Eryngium campestre* L.

Soumia Bouzidi, Naima Benkiki, Messaoud Hachemi and Hamada Haba.

2. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2017.Vol. 10, Issue 3, 177-179
In Vitro Antioxidant Activity, In Vivo Antipyretic and Anti-Inflammatory Activities of *Paronychia Capitata* L.

Bouzidi Soumia, Benkiki Naima, Allaoua Zina.

Communications par affiche

- Vème Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources. Du 22 au 25 Mars 2017 (Tabarka- Tunisie). IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND IN VIVO ANTIPYRETIC ACTIVITY OF ALGERIAN ERYNGIUM CAMPESTRE L.

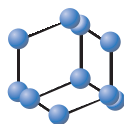
Bouzidi Soumia, Benkiki Naima.

Autres contributions

Natural Product Research, 2016.Volume 30 -Issue 6, pp. 700-704
Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Pteranthus dichotomus* from Algerian Sahara

Zina Allaoua , Mohammed Benkhaled , Ammar Dibi , Christophe Long , Mohammed Cherif Aberkane , **Soumia Bouzidi** , Ahmed Kassah-Laouar & Hamada Haba.

RESEARCH ARTICLE

BENTHAM
SCIENCE

Investigation of *In Vitro* Antioxidant Activity and *In Vivo* Antipyretic and Anti-Inflammatory Activities of Algerian *Eryngium campestre* L.



Soumia Bouzidi¹, Naima Benkiki¹, Messaoud Hachemi¹ and Hamada Haba^{2,*}

¹Laboratory of Biotechnology of Bioactive Molecules and Cell Pathophysiology, Faculty of Nature, and Life Sciences, Batna-2 University, Batna, Algeria; ²Laboratory of Chemistry and Environmental Chemistry (L.C.C.E), Department of Chemistry, Faculty of Matter Sciences, Batna-1 University, Batna, Algeria

Abstract: Objective: This study was accomplished to evaluate the *in vitro* antioxidant activity, *in vivo* antipyretic and the anti-inflammatory activities of the *n*-butanol extract of roots and aerial parts of Algerian *Eryngium campestre* L.

Materials and Methods: The antioxidant properties were tested using DPPH radical scavenging and β -Carotene linoleic acid of various extracts from roots and aerial parts of *E. campestre* L., total phenolic and flavonoid contents were also determined. Furthermore, the anti-inflammatory and antipyretic activities of the *n*-butanol extracts were investigated on female wistar rats at the dose levels of 250 and 500 mg/kg body weight, using the egg albumin induced oedema and brewer's yeast induced pyrexia method respectively.

Results: *n*-butanol extract of aerial parts had considerably higher antiradical activity with IC50 value of 16.140 μ g/ml, and a good anti-inflammatory activity comparable to the standard drug diclofenac. Also, the *n*-butanol extract of roots possessed a better antipyretic effect (at both dose 250 mg/kg and 500 mg/kg) compared to the *n*-butanol extract of aerial parts.

Conclusion: These results suggested that *Eryngium campestre* L. could be used to treat various inflammatory diseases.

Keywords: *Eryngium campestre*, inflammation, pyrexia, antipyretic activity, anti-inflammatory activity, apiaceae, antioxidant activity.

1. INTRODUCTION

Eryngium campestre L. is a famous medicinal plant belonging to the subfamily Saniculoideae of the family Apiaceae. This family contained about 455 genera and 3700 species grouped in three subfamilies Hydrocotyloideae, Saniculoideae and Apioideae [1]. It is known as a cosmopolitan plant and grows abundantly in the northern hemisphere [2]. In Algeria, *Eryngium* genus is represented by seven species found particularly in highlands including *Eryngium campestre* L. [3].

The species of this genus are used in traditional medicine to prepare diuretic, appetite stimulant, laxative and anti-inflammatory remedies [4]. *E. campestre* L. is utilized, in folk medicine in Kosovo and Turkey, as infusion to treat cough, urinary infections, disturbed functions of kidney, increased urine secretion and for regulation of the function of prostate [5, 6], and as a remedy against venomous bites of scorpion [7]. In Italy and Bulgaria, the infusion of roots is

used as prostatitis, diuretic, spasmolytic, anti-oedema, cholagogue and choleric, and to promote perspiration [8].

In Algerian folk medicine, *Eryngium campestre* L. locally named "Tabelwadha" is used against urinary infections, cough, tonsillitis and whooping cough.

Previous phytochemical studies showed that aerial parts and roots of *E. campestre* contained phenolic acids, flavonoids, saponins, coumarins, monoterpene glycosides, essential oils and terpenoids [5, 6, 9, 10]. Although, its richness in secondary metabolites and many uses in traditional local medicine against several diseases, there are no data regarding the biological activities of *E. campestre* growing in Algeria. Therefore, the present investigation describes the evaluation of the *in vitro* antioxidant activity and *in vivo* antipyretic and anti-inflammatory activities of roots and aerial parts of *E. campestre* L. from Algeria.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant Material

Aerial parts and roots of *E. campestre* L. were collected in June 2014 in Khenchela east of Algeria. The plant was identified by Prof. Bachir Oudjehih. An authenticated

*Address correspondence to this author at the Faculty of Matter Sciences, Department of Chemistry, Laboratory of Chemistry and Environmental Chemistry (L.C.C.E), Batna-1 University, Batna, Algeria; Tel/Fax: +213 33 31 90 15; E-mail: haba.hamada@yahoo.fr

voucher specimen, with the identification number 677/LCCE, was deposited at Agronomic Institute of Batna-1 University, Algeria.

2.2. Extraction

Air-dried and powdered plant materials (roots, aerial parts) of *E. campestre* L. were macerated separately with MeOH-H₂O (70:30) for 3 days at room temperature. Filtration and evaporation of the extracts gave two aqueous-alcoholic extracts. Each aqueous phase was extracted successively with ethyl acetate and *n*-butanol. The organic phases were evaporated and the following extracts have been obtained: ethyl acetate (Biochem Chemopharma, Quebec) roots (ECRAC), and aerial parts (ECAAC), and *n*-butanol (Sigma-Aldrich, Germany) roots (ECRBU), and aerial parts (ECABU). Aqueous extracts (ECRAQ and ECAAQ) were prepared by boiling the air-dried powdered plant parts (roots and aerial parts) in sterile distilled water for 10 min and then cooled to room temperature overnight. The aqueous extracts were filtered using Whatman filter paper. The filtrates were concentrated using rotary evaporator and lyophilized.

2.3. Determination of Total Phenolic Contents

The total phenolic content of the plant extracts was determined according to the Folin-Ciocalteu method [11]. Folin-Ciocalteu reagent was added to the extract and gallic acid solutions. After 4 min, Na₂CO₃ (Biochem Chemopharma, USA) was added and the mixture was stored at room temperature for 2 h. The absorbance of the mixture was measured at 765 nm. The results were calculated using the standard calibration curve of gallic acid (0-200 µg/ml) and expressed as micrograms of gallic acid equivalents per milligrams of extract (µg GAE/mg of extract).

2.4. Determination of Total Flavonoid Contents

Colorimetric aluminum chloride method was used for flavonoid determination [12]. Briefly, 1 ml solution of each plant extract in methanol was separately mixed with 1 ml of 2% aluminum chloride (AlCl₃), and left at room temperature for 10 min. The absorbance of the reaction mixture was measured at 430 nm with UV/Visible spectrophotometer (UV-9200-Biotech Engineering Management, UK). Total flavonoid contents were calculated from a calibration curve obtained by preparing quercetin solutions in methanol (0-40 µg/ml), and expressed in microgram of quercetin equivalents per milligrams of extract (µg QE/mg of extract).

2.5. Determination of Antioxidant Activity

2.5.1. DPPH Radical Scavenging Activity

The free radical scavenging activity of the extracts was measured *in vitro* by 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The DPPH solution was prepared by dissolving 2.4 mg of DPPH with 100 ml of methanol [13]. 975 µl of this solution were mixed with 25 µl of the sample at various concentrations. The reaction mixture was shaken well and incubated in the dark for 30 min at room temperature. Then, the absorbance was taken at 517 nm, lower absorbance of the reaction mixture indicated higher free radical scavenging activity.

The antioxidant activity of the extracts was expressed as IC₅₀. The IC₅₀ value is defined as the concentration in (µg/ml) of extracts that inhibits the formation of DPPH radicals by 50%. Quercetin was used as reference standard.

2.5.2. β-Carotene-Linoleic Acid Assay

To assess lipid peroxidation activity of the samples, β-carotene bleaching assay was carried out according to the method described by Kartal *et al.* [14]. β-carotene (Fluka Analytical-Sigma, USA) solution (0.5 mg/1ml chloroform) was pipetted into a round-bottom flask (50 ml) containing 25 µl of linoleic acid and 200 mg of Tween 40. Then, the mixture was evaporated at 40°C using a rotary evaporator to remove chloroform. After evaporation, the mixture was immediately diluted with 100 ml of distilled water saturated with oxygen. The distilled water was added slowly to the mixture with vigorous agitation to form an emulsion. After that, 2.5 ml aliquots of the emulsion were transferred into different test tubes containing 350 µl of samples in 80% methanol at 2 g/ml. The mixture was then gently mixed and incubated for 48 h at room temperature. The same procedure was repeated with BHT (Butyated hydroxytoluene) (Sigma-Aldrich, USA) at the same concentration and a blank containing only 350 µl of methanol. After the incubation period, the absorbance of the mixtures was measured at 490 nm at 0, 1, 2, 4, 6, 24, 26, 28, and 48 h. All determinations were performed in triplicate. The total antioxidant activity (AA) was calculated on the basis of the following equation:

AA % = A Sample/A BHT × 100, where A BHT is the absorbance of the positive control BHT and A Sample is the absorbance of the extract after 48 h.

2.6. Animals

Young adult female Wistar albino rats (150-200 g) were obtained from Pasteur Institute (Algiers, Algeria). They were housed in plastic cage at temperature of (25 ± 2)°C with a 12 light/dark cycle respectively before and during the experiment, and had free access to drinking water. Animals were fed with a standard diet.

2.7. Acute Oral Toxicity

The oral acute toxicity test was performed using fifteen healthy rats that were allocated in three groups of five animals each. From 12 h before until 4 h after the oral administration, the animals were fasted (animals had water but not food) and weighted. The assay was followed as OECD (Organization for Economic Co-operation and Development Guideline 420 (OECD, 2001). The control group received normal saline 10 ml/kg body weight by gavage while the exposed groups (groups 2 and 3) received 2000 mg/kg *n*-butanol extracts of roots and aerial parts of *E. campestre* L. respectively. Animals were observed during the first 30 min, then 2, 4 and 6 h after treatment, and daily thereafter for a total of 14 days in terms of weight loss, mortality, changes in behavior, skin, eyes and fur. On day 15, the animals were sacrificed after blood collection and the internal organs were removed.

2.8. Anti-Inflammatory Activity

The anti-inflammatory effect was assessed in acute inflammation method already described by Anosike *et al.* [15].

Initially normal paw thickness of each rat was noted. Inflammation was produced by injection of 0.1 ml of undiluted fresh egg albumin into the sub planter surface of the right hand paw of each rat one hour after oral administration of *E. campestre* L. *n*-butanol extract (ECRBU/ECABU 250, 500 mg/kg body weight), or diclofenac (DICLO; 30 mg/kg body weight). The control group was received 10 ml/kg of normal saline. The paw thickness was measured before injecting egg albumin and after 30, 60, 120, 180, 240 and 300 min using vernier caliper. The percentages of inhibition were calculated as: % Inhibition = $[(tCn-tC0)-(tTn-tT0)] / [(tCn-tC0)] \times 100$, where: tCn = paw thickness at particular time point of control animal, tC0 = paw thickness before induction, tTn = paw thickness at particular time point of treated animal, tT0 = paw thickness before induction [16].

2.9. Antipyretic Activity

Before the start of experiment, the animals were divided into six groups each of five rats. The rectal temperature of each one was recorded using digital thermometer (Vedo Lente-Artsana, Italy) and then pyrexia was induced by subcutaneous injection of 20% w/v of brewer's yeast (10 ml/kg) in normal saline [17]. All groups were fasted overnight but allowed free access to water and after 18 h rectal temperature of each rat was recorded. The induction of pyrexia was confirmed by rise in temperature more than 0.5°C. Group I received normal saline (10 ml/kg) as a negative control, group II received Paracetamol (PARA 150 mg/kg) as a standard drug while the remaining groups III, IV, V and VI received 250, 500 mg/kg of ECRBU and ECABU respectively. After drug administration, the rectal temperature was then recorded over a period of 5 h.

2.10. Statistical Analysis

The data of the *in vivo* activities were statistically analyzed using One-Way ANOVA followed by Dunnett's test for individual comparison of groups with control. All values were expressed as mean \pm SEM (n = 5). Values were considered statistically significant when $p < 0.01$. The *in vitro* data

were reported as mean \pm standard deviation (SD) of three replicates. They were analyzed using one-way variance analysis (One Way ANOVA) and Newman-Keuls Post-test ($p < 0.05$).

3. RESULTS

3.1. Total Phenolic Contents and Total Flavonoid Contents

Preliminary phytochemical screening indicated the presence of phenolics and flavonoids in both roots and aerial parts extracts of *E. campestre*. As shown in (Table 1) the total polyphenol content in the aerial parts of this species was more important than in roots. These phytochemicals had the highest concentration in ethyl acetate extract ECAAC (27.77 μ g GAE/mg extract). However, maximum flavonoid content was obtained from aqueous extract of *E. campestre* roots ECRAQ (7.543 μ g QE/mg extract).

3.2. Antioxidant Activity

3.2.1. DPPH Radical Scavenging Activity

Based on the reduction of the free radical DPPH and decreasing of absorbance at 517 nm, the DPPH radical scavenging method was used to evaluate the antioxidant property and it was compared with that of the standard antioxidant, quercetin. The concentrations of the plant extracts required to scavenge DPPH showed a dose dependent response. The antioxidant activity of each sample was expressed in terms of IC50 and shown in (Table 1). The *n*-butanol extract of aerial parts (ECABU) showed a good antioxidant activity with the lowest IC50 value (16.140 μ g/ml) after 30 min of incubation. The IC50 of quercetin was 1.149 μ g/ml whereas that of ECABU was 16.140 μ g/ml (Table 1), indicating that the anti-oxidant activity of ECABU was much weaker than the control.

3.2.2. β -Carotene Linoleic Acid Assay

We assessed the lipid peroxidation inhibitory activity of the different *E. campestre* L. extracts by the β -carotene

Table 1. Total phenolic and flavonoid contents, effects of extracts and positive control quercetin on the free radical (DPPH) scavenging and the relative antioxidant activity of samples and BHT in the β -carotene / linoleic acid system.

| Extracts | Total Phenolic Contents A | Total Flavonoid Contents B | DPPH Scavenging Activity IC50 (μ g/ml) | Antioxidant Activity The β - Carotene Essay (Inhibition %) |
|-----------|---------------------------------|--------------------------------|--|---|
| ECRAC | 22.307 \pm 1.656 ^b | 3.548 \pm 0.822 ^a | 16.522 \pm 1.211 ^a | 77.9568 \pm 3.5012 ^a |
| ECRBU | 07.180 \pm 0.352 ^a | 3.218 \pm 0.239 ^a | 19.266 \pm 0.251 ^b | 46.8975 \pm 3.4922 ^b |
| ECRAQ | 18.214 \pm 6.757 ^b | 9.461 \pm 0.130 ^b | 36.116 \pm 1.273 ^c | 89.7840 \pm 1.1452 ^c |
| ECAAC | 27.773 \pm 3.063 ^b | 6.463 \pm 0.754 ^c | 20.052 \pm 0.522 ^b | 51.0355 \pm 1.0573 ^b |
| ECABU | 21.520 \pm 0.720 ^b | 3.263 \pm 0.213 ^a | 16.140 \pm 0.256 ^a | 46.1899 \pm 0.3101 ^b |
| ECAAQ | 21.505 \pm 1.091 ^b | 7.543 \pm 0.395 ^d | 36.717 \pm 1.022 ^c | 75.2668 \pm 2.8021 ^d |
| Quercetin | / | / | 01.1495 \pm 0.0004 | / |
| BHT | / | / | / | 99.1667 \pm 1.0560 |

Mean \pm SD (n = 3). ^A Expressed as microgram of gallic acid per milligram dry extract. ^B Expressed as microgram of quercetin per milligram dry extract. Means in the same column and not sharing the same letter (a, b, c and d) are significantly different $P < 0.05$.

bleaching test. The antioxidative activity was observed in all extracts of the plant (Table 1). This activity was ranged from 46.18% to 89.78%. The highest inhibition of oxidation was provided by root aqueous extract (ECRAQ) showing 89.78% inhibition, which is close to the synthetic antioxidant reagent BHT (99.16%).

3.3. Acute Toxicity

The oral administration of a single dose of ECRBU and ECABU 2000 mg/kg did not produce any sign of toxicity or mortality. As shown in (Table 2), no significant difference was observed between the control and treatment groups during 14 days of the study. Appearance and behavior of the

animals were similar in all groups during the observation period. The preliminary acute oral toxicity test of *n*-butanol extract of the two parts at the highest dose of 2000 mg/kg, both were found to be safe.

3.4. Anti-Inflammatory Activity

The evaluation of the anti-inflammatory activity of *n*-butanol extracts of roots and aerial parts of *E. campestre* L. was assessed by egg albumin induced paw oedema method. The study showed that both extracts had a significant effect on inflammation and reduced clearly the swelling. As shown in (Table 3 and Fig. 1), the *n*-butanol extracts of roots and aerial parts at 250 and 500 mg/kg doses inhibited signifi-

Table 2. Effects of oral administration of *E. campestre* L. for 2 weeks on body weight, biochemical and hematological parameters of female Wistar rats.

| | | Treatment | | |
|--------------------------|---------------------------------------|---------------|-------------|-------------|
| | | Normal Saline | ECRBU | ECABU |
| Body Weight (g) | Day 0 | 169.0±3.937 | 170.2±8.680 | 165.8±3.527 |
| | Day 7 | 170.0±4.062 | 189.6±7.118 | 190.4±3.803 |
| | Day 14 | 177.8±5.398 | 176.0±9.413 | 171.6±7.501 |
| Biochemical Parameters | Urea (g/l) | 0.256±0.025 | 0.314±0.030 | 0.336±0.028 |
| | Creatinine (mg/l) | 5.700±0.234 | 6.400±0.548 | 5.84±0.186 |
| | AST | 12.14±0.619 | 12.60±0.339 | 13.4±0.606 |
| | ALT | 15.78±0.955 | 14.42±0.963 | 14.60±0.487 |
| | Cholesterol (g/l) | 0.466±0.026 | 0.440±0.046 | 0.514±0.043 |
| | Triglycerides (g/l) | 0.426±0.055 | 0.406±0.054 | 0.378±0.022 |
| Hematological Parameters | Glucose (g/l) | 0.914±0.057 | 0.612±0.145 | 0.814±0.034 |
| | White blood cell ($\times 10^9/L$) | 8.660±0.348 | 10.94±0.691 | 10.20±0.639 |
| | Red blood cell ($\times 10^{12}/L$) | 5.066±0.196 | 3.990±0.100 | 04.71±0.279 |
| | Hemoglobin (g/dL) | 15.46±0.686 | 12.64±0.409 | 13.70±0.367 |
| | Platelet ($\times 10^9/L$) | 769.6±65.76 | 917.8±30.73 | 676.0±78.90 |

Values are means \pm SEM., n = 5. There is no significant difference.

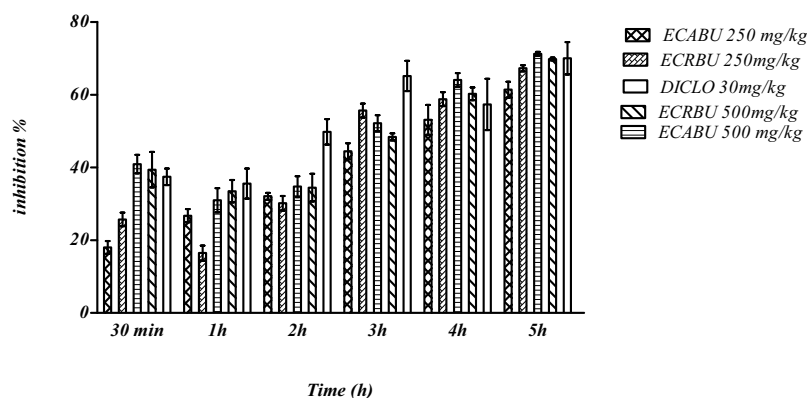


Fig. (1). Effect of various doses of *E. campestre* roots and aerial parts butanol extracts and diclofenac on egg albumin induced paw oedema in rats.

cantly the increase of paw oedema from 30 min to 5 h. The maximum inhibitory effect (71.25%) was recorded at the dose 500 mg/kg of the *n*-butanol extract of aerial parts after 5 h. Oral administration of diclofenac (30 mg/kg) reduced also the oedema with significant inhibition of 70.04% at 5 h.

3.5. Antipyretic Activity

The effect of roots and aerial parts *n*-butanol extracts on yeast-induced pyrexia is presented in (Table 4 and Fig. 2).

After 18 h of the subcutaneous injection of yeast suspension, the normal body temperature (the rectal temperature) was markedly elevated for all groups. Both ECRBU and ECABU *n*-butanol extracts of *Eryngium campestre* L. possessed a significant antipyretic effect in the maintaining of normal body temperature, the activity was time and concentration dependent. Animals treated with *n*-butanol extracts of *E. campestre* at 500 mg/kg of roots and aerial parts showed a decrease in the rectal temperature as early as from 1 h by 0.22°C. On the other hand, the dose of 250 mg/kg of aerial

Table 3. Effect of the *n*-butanol extracts of *E. campestre* (ECRBU and ECABU) on egg albumin induced paw oedema in rats.

| Treatment | Dose | Paw Thickness (mm) ± SEM | | | | | |
|-----------|-----------|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 30 min | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h |
| Control | 10 ml/kg | 9.340 ± 0.145 | 7.678 ± 0.134 | 6.534 ± 0.151 | 6.196 ± 0.109 | 4.936 ± 0.158 | 4.070 ± 0.077 |
| ECRBU | 250 mg/kg | 7.252 ± 0.023*** | 6.500 ± 0.039*** | 4.988 ± 0.073*** | 4.212 ± 0.250*** | 3.238 ± 0.019*** | 2.800 ± 0.165*** |
| | 500 mg/kg | 6.294 ± 0.286*** | 5.746 ± 0.187*** | 4.800 ± 0.113*** | 3.902 ± 0.106*** | 3.170 ± 0.015*** | 2.722 ± 0.081*** |
| ECABU | 250 mg/kg | 7.680 ± 0.134*** | 6.420 ± 0.034*** | 4.910 ± 0.080*** | 3.890 ± 0.122*** | 3.100 ± 0.071*** | 3.040 ± 0.007*** |
| | 500 mg/kg | 6.190 ± 0.085*** | 5.740 ± 0.159*** | 4.790 ± 0.099*** | 3.920 ± 0.077*** | 3.030 ± 0.072*** | 2.610 ± 0.021*** |
| DICLO | 30 mg/kg | 6.418 ± 0.157*** | 5.340 ± 0.121*** | 4.492 ± 0.193*** | 3.402 ± 0.097*** | 3.120 ± 0.139*** | 2.710 ± 0.187*** |

Values are mean ± SEM. n = 5. Significantly different from control: *** p < 0.001.

Table 4. Antipyretic effect of *E. campestre* L. using brewer's yeast pyrexia method.

| Rectal Temperature (°C) Before and After Injection of Brewer's Yeast | | | | | | | | |
|--|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | 0h | 18h | 18h 30min | 19h | 20h | 21h | 22h | 23h |
| Control | 36.70±0.341 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.00±0.162 | 38.00±0.171 | 38.00±0.171 | 37.90±0.172 |
| ECRBU 250 mg/kg | 36.94±0.191 | 38.10±0.122 | 37.98±0.073 ns | 37.74±0.074* | 37.58±0.058* | 37.34±0.067** | 37.18±0.102** | 37.00±0.144** |
| ECRBU 500 mg/kg | 36.26±0.305 | 37.46±0.386 | 37.32±0.398 ns | 36.94±0.199* | 36.84±0.273*** | 36.54±0.261*** | 36.38±0.269*** | 36.32±0.293** |
| ECABU 250 mg/kg | 36.80±0.436 | 37.90±0.170 | 37.80±0.194 ns | 37.70±0.198 ns | 37.70±0.218 ns | 37.50±0.242 ns | 37.30±0.292 * | 37.10±0.367 * |
| ECABU 500 mg/kg | 36.40±0.258 | 37.90±0.222 | 37.80±0.225 ns | 37.70±0.164 * | 37.50±0.176 ** | 37.30±0.196 ** | 37.00±0.206 *** | 36.70±0.230 *** |
| PARA 150 mg/kg | 36.54±0.258 | 37.88±0.222 | 37.74±0.224 ns | 37.50±0.164*** | 37.20±0.176*** | 36.92±0.196*** | 36.76±0.206*** | 36.60±0.230*** |

Values are mean ± SEM. n = 5. ns: no significantly difference, Significantly different from control: * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001. 0 h: normal rectal temperature.

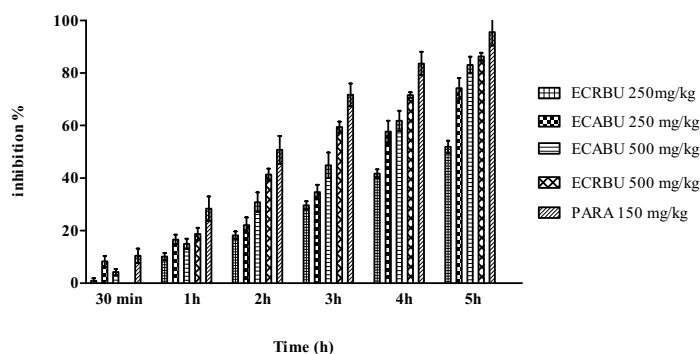


Fig. (2). Effect of various doses of *E. campestre* roots and aerial parts butanol extracts and Paracetamol on yeast induced hyperthermia in rats.

parts had a moderate activity only in the late phase after 4 and 5 h. However, from two hours to the end of the experiment at 500 mg/kg dose of *n*-butanol extract of roots, it has been noticed a significant antipyretic activity comparable to that of paracetamol which was used as standard antipyretic drug.

4. DISCUSSION

Oxidative stress is defined by an imbalance between increased levels of reactive oxygen species (ROS) and a low activity of antioxidant mechanisms. An increased oxidative stress can induce damage to the cellular structure and potentially destroy tissues; which is responsible for a number of chronic diseases including cancer [18]. The data of DPPH and β -Carotene linoleic acid assays demonstrated clearly that extracts of *E. campestre* had a good antioxidant activity due to the presence of polyphenol compounds in its various extracts. It is clear that polyphenols such as flavonoids, phenolic acids and tannins play a vital role in the defense system against Reactive Oxygen Species. They act as antioxidants by a number of potential mechanisms; the free radical scavenging, in which the polyphenols can break the free radical chain reaction, as well as suppression of the free radical formation by regulation of enzyme activity or chelating metal ions involved in free radical production [19]. The variation of this activity might be due to differences in the kind and concentration of polyphenols released from plant matrix with tested solvents having different polar values during the extraction process.

In the present study, the anti-inflammatory activity of *n*-butanol extract of *E. campestre* was tested against egg albumin induced paw oedema in the rat paw. This inflammatory model is a biphasic event; the first phase of oedema (0-2 h) is probably due to the release of histamine and serotonin, and the second phase (3-5 h) of oedema is due to the release of prostaglandin [15]. ECRBU and ECABU suppressed significantly the rat paw oedema at the early and later phases. It is very importante to indicate that in future experiments the chemical constituents of different *E. casmpestre* L. extracts should be isolated and identified. These phytochemicals should also be submitted to anti-inflammatory activity.

It is now evident that the antipyretic activity is commonly mentioned as a characteristic of drugs or compounds exert their action by inhibiting of the enzymatic activity of cyclooxygenase and consequently reducing the levels of PGE2 within the hypothalamic region [20]. Therefore, the antipyretic activity of *n*-butanol extracts of *E. campestre* L. is probably due to the inhibition of prostaglandin biosynthesis in hypothalamus.

CONCLUSION

This investigation highlighted the antioxidant activity, oral acute toxicity, anti-inflammatory and antipyretic activities of roots and aerial parts of *Eryngium campestre* L. that grows in Algeria. It was observed that *E. campestre* had a good antioxidant activity due to the presence of polyphenol compounds in its various extracts. The finding of this study suggests that *E. campestre* could be a potential source of natural antioxidants having a great importance as therapeutic agents. Moreover, the results indicate that *E. campestre* may

be useful in the protection against inflammatory diseases and treatment of pyrexia; especially the aerial parts.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express thanks to the general directorate for scientific research and technological development (DGRSDT) of the Algerian Minister of Higher Education and Scientific Research for providing a research grant.

REFERENCES

- Downie, S.R.; Katz-Downie, D.S. A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Am. J. Bot.*, **1996**, *83*, 234-251.
- Downie, S.R.; Katz-Downie, D.S.; Watson, M.F. Phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rpl16 and rpoC1 intron sequences: Towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae. *Am. J. Bot.*, **2000**, *87*, 273-292.
- Quezel, P.; Santa, S. *New flora of Algeria and the southern desert regions*, Vol. 1-2, CNRS: Paris, **1963**.
- Cavaleiro, C.; Goncalves, M.J.; Serra, D.; Santoroa, G.; Tomi, F.; Bighelli, A.; Salgueiro, L.; Casanova, J. Composition of a volatile extract of *Eryngium duriaei* subsp. *juresianum* (M. Lainz) M. Lainz, signalled by the antifungal activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, *54*, 619-622.
- Nebija, F.; Stefkov, G.; Karapandzova, M.; Stafilov, T.; Kadifkova Panovska, T.; Kulevanova, S. Chemical characterization and antioxidant activity of *Eryngium campestre* L., Apiaceae from Kosovo. *Maced. Pharmbull.*, **2009**, *55*, 22-32.
- Güneş, M.G.; İşgör, B.S.; İşgör, Y.G.; Moghaddam, N.S.; Geven, F.; Yildirim, Ö. The effects of *Eryngium campestre* extract on glutathione-s-transferase, glutathione peroxidase and catalase enzyme activities. *Turk. J. Pharm. Sci.*, **2014**, *11*, 339-346.
- Kupeli, E.; Kartal, M.; Aslan, S.; Esilada, E.Y. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *J. Ethnopharmacol.*, **2006**, *107*, 32-37.
- Leporatti, M.L.; Ivancheva, S. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J. Ethnopharmacol.*, **2003**, *87*, 123-142.
- Kartal, M.; Mitaine-Offier, A.C.; Paululat, T.; Abu-Asaker, M.; Wagner, H.; Mirjolet, J.F.; Guilbaud, N.; Lacaille-Dubois, M.A. Triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *J. Nat. Prod.*, **2006**, *69*, 1105-1108.
- Ping, W.; Zushang, S.; Wei, Y.; Guangrui, D.; Shiyu, L. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharm. Crop.*, **2012**, *3*, 99-120.
- Li, H.B.; Cheng, K.W.; Wong, C.C.; Fan, K.W.; Chen, F.; Jiang, Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.*, **2007**, *102*, 771-776.
- Bahorun, T.; Gressier, B.; Trotin, F.; Brunete, C.; Dine, T.; Vasseur, J.; Gazin, J.C.; Pinkas, M.; Luycky, M.; Gazin, M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel Forschung*, **1996**, *46*, 1086-1089.
- Mansouri, A.; Embarek, G.; Kokkalou, E.; Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.*, **2005**, *89*, 411-420.
- Kartal, N.; Sokmen, M.; Bektas, T.; Dimitra, D.; Moschos, P.; Atalay, S. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.*, **2007**, *100*, 584-589.
- Anosike, C.A.; Obidoa, O.; Ezeanyika, L.U.S. The anti-inflammatory activity of garden egg (*Solanum aethiopicum*) on egg albumin-induced oedema and granuloma tissue formation in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **2012**, *5*, 62-66.

- [16] Preehi, K.C.; Kuttan, G.; Kuttan, R. Anti-inflammatory activity of flower extract of *Calendula officinalis* Linn. and its possible mechanism of action. *Indian J. Exp. Biol.*, **2009**, *47*, 113-120.
- [17] Junaid, N.; Vikas, G.; Prithviraj, C.; Pawan, K. Anti-inflammatory and antipyretic activity of *Aleuritis moluccana* leaves. *AJPCR*, **2010**, *3*, 35-37.
- [18] Charles, D.J. *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*; Springer: New York, **2013**.
- [19] Sanda, V.K.; Biljana, B.; Maja Bival, Š.; Marija, B. Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In: Rao, V., Ed.; *Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*; InTech: Croatia, **2012**; pp. 155-180.
- [20] Vasundra, D.P.A.; Divya, P.S. Antipyretic activity of ethanol and aqueous extract of root of *Asparagus racemosus* in yeast induced pyrexia. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, **2013**, *6*, 190-193.

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY, IN VIVO ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF *PARONYCHIA CAPITATA* L.

BOUZIDI SOUMIA^{1*}, BENKIKI NAIMA¹, ALLAOUA ZINA²

¹Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactives et de la Physiopathologie Cellulaire, Université de Batna-2, Batna, Algérie. ²Département de Chimie, Faculté des Sciences de la Matière, Laboratoire de Chimie et Chimie de l'Environnement (L.C.C.E), Université de Batna-1, Batna, Algérie. Email: bousoum40@yahoo.fr

Received: 01 November 2016, Revised and Accepted: 11 November 2016

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to evaluate the *in vitro* antioxidant activity of *Paronychia capitata* various extracts, acute toxicity, the *in vivo* antipyretic and anti-inflammatory activities of the n-butanol extract.

Methods: The antioxidant properties were tested using 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl radical scavenging and β -carotene linoleic acid system, the total phenolic and flavonoid contents were determined. Furthermore, anti-inflammatory activity and antipyretic activity of the n-butanol extract were assessed on male Wistar rats at the dose levels 250, 500 mg/kg body weight, using the egg albumin-induced edema, and brewer's yeast-induced pyrexia method, respectively.

Results: The n-butanol extract of *P. capitata* had considerably the highest antiradical activity with inhibitory concentration 50 value of 8.667 μ g/ml.

Conclusion: The experimental data demonstrated that n-butanol extract of *P. capitata* possess significantly remarkable anti-inflammatory and antipyretic activities compared to the standard drugs.

Keywords: Caryophyllaceae, Flavonoid, Inflammation, Fever, *Paronychia capitata*.

© 2017 The Authors. Published by Innovare Academic Sciences Pvt Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.15981>

INTRODUCTION

Paronychia is a genus that belongs to the subfamily of *Paronychioideae* [1]. It is represented by five species in the flora of Algeria [2]. *Paronychia capitata* L. known under the name of (Atai el Djebel). The infusion of the aerial parts of the plant has been used in Spanish folk medicine to purify blood, regulate the circulation and treat gout, as well as an agent for dermatitis and as an expectorant [3,4]. It is also used as cholagogue, dermatologic, anti-infective, lithotritic, diuretic, digestive and antihypertensive [5,6]. Although there are no reports of the medicinal uses of *P. capitata*, the aerial parts of *P. argentea* Lam. are used in the Algerian popular medicine for the treatment of renal diseases, diabetes, and as diuretic. This plant is also used to treat stomach ulcers, anorexia, bladder and prostate diseases, and heart pains [7,8]. According to literature survey, no data are available about the therapeutic applications or the biological activity of *P. capitata* in Algeria. Therefore, this study examined the total phenolic and flavonoid contents, the antioxidant activity (AA) and the anti-inflammatory and antipyretic activities of various extracts of *P. capitata* collected from the East of Algeria.

P. capitata Lam. was collected in May 2015, in Batna, East of Algeria. All parts of the plant previously dried and ground into thin powder was macerated twice in 70% ethanol for 48 hrs at room temperature. After filtration and evaporation of the solvent, the resulting aqueous phase undergoes a liquid-liquid extraction with petroleum ether then ethyl acetate, and final n-butanol. Evaporation dry organic solutions raised the following extracts: The petroleum *P. capitata* ether extract, ethyl acetate extract and the butanol extract. Aqueous extract was prepared by boiling the air-dried powdered plant in distilled water for 10 minutes and then cooled to room temperature overnight. The aqueous extract was filtered using Whatman filter paper. The filtrate was concentrated using rotary evaporator and lyophilized.

The total phenolic content of the plant extracts was determined according to the Folin-Ciocalteu method [9]. The results were calculated using the standard calibration curve of gallic acid (0-200 μ g/ml) and expressed as micrograms of gallic acid equivalents per milligrams of dry extract (μ g GAE/mg of extract). Colorimetric aluminum chloride method was used for flavonoid determination [10]. Total flavonoid contents were calculated from a calibration curve obtained by preparing quercetin solutions in methanol (0-40 μ g/ml), and expressed in microgram of quercetin equivalents per milligrams of dry extract (μ g QE/mg of extract).

The free radical scavenging activity of the extracts was measured *in vitro* by 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH) assay [11]. The AA of the extracts was expressed as inhibitory concentration (IC₅₀) in (μ g/ml) and quercetin was used as reference standard. To assess lipid peroxidation activity of the samples, β -carotene bleaching assay was carried out according to the method described by Kartal *et al.* [12] After the incubation period, the absorbance was measured at 490 nm at 0, 1, 2, 4, 6, 24, 26, 28, and 48 hrs. All determinations were performed in triplicate. The total AA was calculated.

Young male adult Wistar albino rats (150-200 g) were used in these experiments. They were housed in plastic cage at temperature of (25 \pm 2) $^{\circ}$ C with a 12 light/dark cycle, respectively, before and during the experiment, and had free access to drinking water. Animals were fed with a standard diet. The oral acute toxicity test was performed using ten healthy rats that were allocated in two groups. From 12 hrs before to 4 hrs after the oral administration, the animals were fasted (animals had water but not food) and weighed. The assay was followed as Organization for Economic Co-operation and Development Guideline 425 [13]. The control group received normal saline 10 ml/kg body weight by gavage, whereas the exposed groups (Groups 1) received 2000 mg/kg n-butanol extracts of *P. capitata*. Animals were observed during the first 30 minutes, 2, 4, and 6 hrs after treatment, and daily

thereafter for a total of 14 days in terms of weight loss, mortality, changes in behavior, skin, eyes, and fur.

The anti-inflammatory effect was assessed in acute inflammation method already described by Anosike *et al.* [14] Initially, normal paw thickness of each rat was noted. Inflammation was produced by injection of 0.1 ml of undiluted fresh egg albumin into the sub planter surface of the right hand paw of each rat 1 hr after oral administration of *P. capitata* butanol extract (PCBU 250, 500 mg/kg body weight), or diclofenac (Phamalliance, Ouled-Fayet, Algiers- Algeria) (DICLO; 30 mg/kg body weight). The control group was received 10 ml/kg of normal saline. The paw thickness was measured before injecting egg albumin and after 30, 60, 120, 180, 240, and 300 minutes using Vernier caliper (Shanghai Shenhan China).

Before the start of the antipyretic activity experiment, the animals were divided into four groups, each of five rats. The rectal temperature of each one was recorded using digital thermometer (VEDO Lente- Artsana, Italy) and then pyrexia was induced by subcutaneous injection of 20 % w/v of brewer's yeast (10 ml/kg) in normal saline [15]. All groups were fasted overnight, after 18 hrs rectal temperature of each rat was recorded. Group I received normal saline (10 ml/kg) as a negative control, Group II received paracetamol (Winthrop Pharma Saidal. Oued-Smar. Algeria) (PARA 150 mg/kg) as a standard drug [16] while the remaining Groups III and IV received 250, 500 mg/kg PCBU, respectively. After drug administration, the rectal temperature was then recorded over 5 hrs.

The data of the *in vivo* activities were analyzed using one-way analysis variance (ANOVA) followed by Dunnett's test for individual comparison

of groups with control. All values were expressed as mean±standard error of the mean (n=5). Values were considered statistically significant when $p < 0.01$. The *in vitro* data were reported as mean ± standard deviation of three replicates (n=3). The data were analyzed using one-way ANOVA and Newman-Keuls *post-test*.

The amount of total phenolics varied in different extracts and ranged from 05.140 to 32.238 µg GAE/mg of dry extract. The results indicated that PCBU (32.238±1.404 µg GAE/mg) has the highest phenolic content, and the *P. capitata* ethyl acetate extract (05.140±0.132 µg GAE/mg) has the lowest phenolic contents. However, the highest flavonoid contents (6.077±0.443 µg QE/mg of dry extract) was found in *P. capitata* aqueous extract among the various extracts of *P. capitata* as shown in Table 1.

The extracts of *P. capitata* were screened for their possible AA by two complementary test systems; the DPPH free radical scavenging and the β-carotene/linoleic acid system. For the DPPH radical scavenging activity, all the sample extracts exhibited significant dose-dependent activity. Moreover, the results indicated in Table 1 show that the butanol fraction PCBU has the lowest IC50 (8.667±0.577 µg/ml) among extracts of *P. capitata* which is comparable to the one of standard quercetins. On the other hand, the comparable β-carotene bleaching rates of the positive control butylated hydroxytoluene (BHT) and *P. capitata* different extracts (Table 1). The butanol fraction PCBU shows the maximum inhibition (84.92%) which is close to the positive control BHT.

Acute oral toxicity; during the 14 days treatment, no significant difference ($p > 0.01$) was recorded between the experimental and control group. The safety of the extract is evidenced by the high LD50

Table 1: Total phenolic and flavonoid contents, effects of *P. capitata* L. various extracts and positive control (quercetin, BHT) on the *in vitro* free radical (DPPH) scavenging and in β-carotene/linoleic acid system

| EXTRACTS | TOTAL PHENOLIC ^a | TOTAL FLAVONOID ^b | IC50 (µg/ml) | ANTIOXIDANT ACTIVITY (%) |
|-----------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| PCBU | 32.238±1.404 ^a | 3.481±0.185 ^a | 08.667±0.577 ^a | 84.916±2.401 ^a |
| PCAC | 05.140±0.132 ^c | 2.648±0.754 ^a | 11.333±0.577 ^b | 74.082±1.470 ^b |
| PCEP | 29.062±0.884 ^c | 3.113±0.581 ^a | 24.046±1.000 ^c | 66.540±5.182 ^b |
| PCAQ | 10.199±2.24 ^b | 6.077±0.443 ^b | 16.000±0.000 ^d | 42.852±2.779 ^c |
| QUERCETIN | / | / | 1.149±0.0004 | / |
| BHT | / | / | / | 99.167±1.056 |

Mean±SD (n=3). ^aExpressed as microgram of gallic acid per milligram dry extract, ^bExpressed as microgram of quercetin per milligram dry extract. Means in the same column sharing different letters are significantly different $P < 0.05$, BHT: Butylated hydroxytoluene, DPPH: 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl, SD: Standard deviation, IC50: Inhibitory concentration, *P. capitata*: *Paronychia capitata*, PCEP: *P. capitata* ether extract, PCAC: *P. capitata* ethyl acetate extract, PCAQ: *P. capitata* aqueous extract

Table 2: Anti-inflammatory effect of diclofenac and the n-butanol extract of *P. capitata* against egg albumin-induced paw oedema in rats

| PAW THICKNESS±SEM (mm) | | | | | | | |
|------------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| TREATMENT | DOSE (mg/kg) | 30 minutes | 1 hr | 2 hrs | 3 hrs | 4 hrs | 5 hrs |
| Control | 10 ml/kg | 9.340±0.145 | 7.678±0.134 | 6.534±0.151 | 6.196±0.109 | 4.936±0.158 | 4.070±0.077 |
| DICLO | 30 | 6.418±0.157*** | 5.340±0.121*** | 4.492±0.193*** | 3.402±0.097*** | 3.120±0.138*** | 2.710±0.187*** |
| PCBU | 500 | 7.314±0.185*** | 6.074±0.106*** | 4.714±0.237*** | 3.958±0.181*** | 2.996±0.214*** | 3.358±0.197** |
| PCBU | 250 | 7.604±0.036*** | 6.198±0.066*** | 4.712±0.210*** | 3.904±0.095*** | 3.352±0.182*** | 3.366±0.228* |

All values were expressed as mean±SEM (n=5). *Significantly different from the control at the corresponding time $P < 0.01$, *P. capitata*: *Paronychia capitata*, SEM: Standard error of the mean, PCBU: *P. capitata* butanol extract, ** moderately significant compared with the control $P < 0.01$, *** highly significant compared with the control $P < 0.001$.

Table 3: Antipyretic activity of n-butanol extract of *P. capitata* and paracetamol on yeast induced pyrexia in rats

| RECTAL TEMPERATURE (°C) BEFORE AND AFTER TREATMENT | | | | | | | | |
|--|-------------|-------------|----------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| TREATMENT | 0 hr | 18 hrs | 18 hrs 30 minutes | 19 hrs | 20 hrs | 21 hrs | 22 hrs | 23 hrs |
| Control | 36.70±0.341 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.10±0.161 | 38.00±0.162 | 38.00±0.171 | 38.00±0.171 | 37.90±0.172 |
| Paracetamol | 36.54±0.258 | 37.88±0.222 | 37.74±0.224 ns | 37.50±0.164 *** | 37.20±0.176*** | 36.92±0.196*** | 36.76±0.206*** | 36.60±0.230*** |
| PCBU500 mg/kg | 36.26±0.304 | 37.95±0.189 | 37.84±0.112 ns | 37.60±0.148** | 37.20±0.189*** | 37.00±0.216*** | 36.68±0.228*** | 36.44±0.290*** |
| PCBU250 mg/kg | 36.24±0.299 | 37.60±0.158 | 37.64±0.156 ns | 37.44±0.160 ns | 37.18±0.168* | 37.02±0.180** | 36.82±0.228** | 36.70±0.225** |

All values were expressed as mean±SEM (n=5). *Significantly different from the control at the corresponding time $P < 0.01$, SEM: Standard error of the mean, *P. capitata*: *Paronychia capitata*, PCBU: *P. capitata* butanol extract, ** moderately significant compared with the control $P < 0.01$, *** highly significant compared with the control $P < 0.001$.

value of the butanol extract (>2000 mg/kg). The investigation of the anti-inflammatory activity of n-butanol extract of *P. capitata* L. was assessed using egg albumin induced paw edema method. The study showed that the extract had a significant effect on inflammation and reduced clearly the swelling. As shown in Table 2, the n-butanol fraction evoked a non-dose related anti-inflammatory activity and inhibited significantly the increase of paw edema from 30 minutes to 5 hrs. The maximum inhibitory effect (96.63%) was recorded at the dose 500 mg/kg of the n-butanol extract after 5 hrs. The effect of the n-butanol fraction on yeast-induced pyrexia is presented in Table 3. Treatment with n-butanol extract of *P. capitata* revealed a significant decrease ($p < 0.01$) in rectal temperature between 2 and 5 hrs after administration, in a dose-dependent manner when compared to the control. The antipyretic effect was observed from the first hour at the dose of 500 mg/kg and paracetamol (150 mg/kg), which was further maintained for 5 hrs. However, at the 250 mg/kg dose of n-butanol extract of *P. capitata* showed a moderate antipyretic activity after 2 hrs.

The results of this study proved the antioxidant anti-inflammatory and antipyretic activities of *P. capitata* extracts. Moreover, this study indicates that this plant may be useful in the protection against inflammatory diseases. However, phytochemical study is necessary to identify the active principles and exact mechanisms of action.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the DGRSDT of the Algerian Minister of Higher Education and Scientific Research for providing a research grant.

REFERENCES

1. Core EL. The North American species of paronychia. *Am Midl Nat* 1941;263:69-7.
2. Quezel P, Santa S. Nouvelle Flore de l'Algérie et Des Régions Désertiques Méridionales. Vol. 1-2. Paris: CNRS; 1963.
3. González-Tejero MR, Molero-Mesa J, Casares-Porcel M, Martínez Lirola MJ. New contributions to the ethnopharmacology of Spain. *J Ethnopharmacol* 1995;45(3):157-65.
4. Alcazar MD, Garcia C, Rivera D, Obon C. Lesser-known herbal remedies as sold in the market at Murcia and Cartagena Spain. *J Ethnopharmacol* 1990;28(2):243-7.
5. Nunez D, Obon DE, Castro C. Ethnopharmacology of Murcia (SE Spain), Médicaments et Aliments: L'Approche Ethnopharmacologique Actes du 2^e Colloque Eurogen d'Ethnopharmacologie et de la 11^e Conférence Internationale d'Ethnomédecine 1993. p. 215-39.
6. Novaretti R, Lemordant D. Plants in the traditional medicine of the Ubaye Valley. *J Ethnopharmacol* 1990;30(1):1-34.
7. Sait S, Hamri-Zeghichi S, Boulekbache-Makhlouf L, Madan K, Rigou P, Brighenti V, et al. HPLC-UV/DAD and ESI-MS(n) analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *J Pharm Biomed Anal* 2015;111:231-40.
8. Bouanani S, Henchiri C, Migianu-Griffoni E, Aouf N, Lecouvey M. Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *J Ethnopharmacol* 2010;129(1):38-45.
9. Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem* 2007;102:771-6.
10. Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, et al. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung* 1996;46(11):1086-9.
11. Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem* 2005;89:411-20.
12. Kartal N, Sokmen M, Bektas T, Dimitra D, Moschos P, Atalay S. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. Using a suitable extraction procedure. *Food Chem* 2007;100(2):584-9.
13. Kumar VK, Lalitha KG. Acute oral toxicity studies of *Anacyclus pyrethrum* de root in albino rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013;5(4):675-8.
14. Anosike CA, Obidoa O, Ezeanyika LU. The anti-inflammatory activity of garden egg (*Solanum aethiopicum*) on egg albumin-induced oedema and granuloma tissue formation in rats. *Asian Pac J Trop Med* 2012;5(1):62-6.
15. Junaid N, Vikas G, Prithviraj C, Pawan K. Anti-inflammatory and antipyretic activity of *Aleurites moluccausa* leaves. *AJPCR* 2010;3:35-7.
16. Benhouda A, Yahia M. Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from hyoscyamusalbus' leaves in albinos rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6(3):121-7.

Résumé

L'objectif principal de cette thèse était la valorisation de la flore médicinale d'Algérie, afin de promouvoir l'utilisation durable des ressources en plantes médicinales. Cette thèse visait essentiellement à évaluer le potentiel de deux plantes *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) utilisées comme remède populaire dans le monde entier pour le traitement de divers troubles et *Paronychia capitata* L. (Caryophyllaceae) dans le traitement des maladies liées au stress oxydatif, les microbes et l'inflammation. En outre, cette étude a été réalisée pour évaluer et comparer les activités antioxydantes et antimicrobiennes *in vitro* d'extraits obtenus à partir des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* et de divers extraits de *Paronychia capitata* L. par ailleurs, pour évaluer la toxicité orale aiguë *in vivo* antipyrétique et les activités anti-inflammatoires de l'extrait de *n*-butanol des racines et des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et l'extrait de *n*-butanol de *Paronychia capitata* L.

Les extraits de racines et de parties aériennes d'*E. campestre* ont été obtenus en utilisant plusieurs solvants : acétate d'éthyle, *n*-butanol et l'eau, les rendements étaient : [**ECRAC** 0.82%, **ECAAC** 0.71%] [**ECRBU** 4.08%, **ECABU** 3.05%]) et [**ECRAQ** 1.68%, **ECAAQ** 1.55%] respectivement. Les teneurs en composés phénoliques totales ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu : 22.30, 27.77, 7.18, 21.52 et 18.21, 21.50 µg EAG/mg d'extrait sec pour les extraits acétate d'éthyle, le *n*-butanol et l'extrait aqueux (racines et parties aériennes) respectivement. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode AlCl₃ et se sont révélés être 3.58, 6.46, 3.21, 3.26, 9.46 et 7.54 µg EQ/mg d'extrait sec pour les extraits acétate d'éthyle, le *n*-butanol et l'extrait aqueux (racines et parties aériennes) respectivement. D'une part, les extraits organiques de *P. capitata* ont été obtenus avec trois solvants : l'éther de pétrole puis l'acétate d'éthyle, le *n*-butanol. Les rendements ont été de 0.41%, 0.78% et 3% respectivement. Alors que l'extrait aqueux avait un rendement de 0.69%. De plus, l'extrait butanolique de *P. capitata* **PCBU** a haute teneur en polyphénols totaux (32.23 µg EAG/mg d'extrait) et l'extrait aqueux **PCAQ** est le plus riche en flavonoïdes (6.08 µg EQ/mg d'extrait).

Les propriétés antioxydantes ont été évaluées en utilisant quatre méthodes différentes (CAT / FRAP / β-carotène / DPPH) de divers extraits de racines, parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. et de *P. capitata* L. Selon les résultats de notre étude, l'extrait butanolique de parties aériennes **ECABU** avait une activité antioxydante considérablement plus élevée dans les essais (CAT, FRAP et DPPH) (263.40 µg/mg d'extrait, EC₅₀ = 263.37 µg/ml et IC₅₀ de 16.14 µg/ml) tandis que l'extrait aqueux de racines **ECRAQ** a montré l'inhibition la plus élevée de l'oxydation avec (89.78%). De plus, les résultats indiquent que l'extrait *n*-butanol de *P. capitata* a montré une activité antioxydante supérieure aux autres extraits de *P. capitata* dans les essais (CAT, DPPH et β-carotène) (259.70 µg / mg extrait, IC₅₀ = 08.667 µg/ml et 84.92%). Le criblage *in vitro* de l'activité antimicrobienne a été réalisé en utilisant huit souches bactériennes (GRAM + et GRAM-) et sept souches fongiques, selon le test de diffusion des disques ; les extraits de deux plantes ont montré un effet inhibiteur modeste contre les microorganismes testés.

La toxicité orale aiguë des extraits butanoliques d'*E. Campestre* (racines, parties aériennes) et de *P. capitata* a été évaluée chez des rats femelles Wistar albinos. Les extraits à une dose unique de 2000 mg / kg n'ont produit aucun signe de toxicité ou de mortalité lié au traitement chez aucun des animaux testés pendant la période d'observation de 14 jours ; par conséquent, la DL₅₀ des deux plantes a été estimée au-dessus de 2000 mg/kg. Les résultats obtenus n'ont révélé aucune différence significative ($p > 0.05$) dans tous les paramètres hématologiques, les paramètres biochimiques sériques des rats par rapport au groupe témoin. En outre, les activités anti-inflammatoires et antipyrétiques des deux plantes ont été étudiées chez des rats Albinos Wistar à des doses de 250 et 500 mg/kg de poids corporel, en utilisant l'œdème induit par l'albumine d'œuf et la pyrexie induite par la levure de bière respectivement. Les extraits butanoliques d'*E. Campestre* ont montré une bonne activité anti-inflammatoire comparable au diclofénac et l'extrait butanol des racines **ECRBU** a montré le meilleur effet antipyrétique (à la dose de 250 mg/kg et 500 mg/kg) que l'extrait butanol des parties aériennes. En ce qui concerne la deuxième plante *P. capitata*, la fraction *n*-butanol a provoqué une activité anti-inflammatoire non liée à la dose et a inhibé significativement l'augmentation du volume d'œdème de la patte de 30 minutes à 5 heures. L'effet inhibiteur maximal (96.63%) a été enregistré à la dose de 500 mg/kg de l'extrait butanolique après 5 heures. Le traitement avec l'extrait butanol de *P. capitata* a révélé une diminution significative ($p < 0.01$) de la température rectale entre 2 et 5 heures après l'administration, d'une manière dose-dépendante par rapport au témoin.

Mots-clés : *Eryngium campestre* L., *Paronychia capitata* L., activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, Caryophyllaceae, Apiaceae.