

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn Témouchent



Institut des sciences
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du Diplôme de Master en sciences biologiques
Option : Biochimie
Thème

**Contribution à l'étude des activités antioxydante
et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des racines
de *Salvadora persica L.***

Présenté par :

Khalid Zaid

Encadrant :

Dr. ZERRIOUH. Meriem

Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Soutenu le 15 juin 2020

Devant le jury :

Président : Dr. BENYAMINA.S Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Examineur : Dr. BENTABET. N Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Encadrant : Dr. ZERRIOUH. M Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Année universitaire : 2019/ 2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

عن أبي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللهُ عَنْهُ، أَنَّ رَسُولَ اللهِ صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: " لَوْلَا أَنْ أَشُقَّ عَلَى أُمَّتِي - أَوْ عَلَى النَّاسِ - لِأَمْرَتِهِمْ بِالسِّوَاكِ مَعَ كُلِّ صَلَاةٍ " رواه البخاري ومسلم.

عن عائشة رَضِيَ اللهُ عَنْهَا، عن النبي صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ: " السِّوَاكُ مَطَهْرَةٌ لِلْفَمِ، مَرْضَاةٌ لِلرَّبِّ " رواه البخاري.



Remerciements

« الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ »

*Tout d'abord, je remercie celui qui doit être remercié et loué, le bon Dieu tout-puissant « **ALLAH** », pour toutes les bénédictions, et de m'avoir accordé la puissance, le courage et la volonté pour arriver à ce stade et de m'avoir donné la patience d'accomplir mes études et achever ce travail.*

*Avec tout le respect et l'appréciation, je remercie très chaleureusement mon encadreur **Dr. ZERRIOUH.M** pour accepter de m'encadrer et d'orienter mon travail, pour ses conseils précieux, sa gentillesse, sa compréhension et sa disponibilité durant toute ma période de préparation de mon projet. Je la remercie également pour la confiance et le soutien qu'elle m'a accordé, elle m'a donné l'exemple par ses comportements.*

*Mes remerciements s'adressent aussi aux membres de jury, **Dr. BENTABET.N** et **Dr. BENYAMINA.S**, c'est un grand honneur pour moi que vous ayez accepté l'évaluation de mon travail et de l'enrichir par vos propositions.*

*Je remercie également toute l'équipe pédagogique du centre universitaire CUBBAT et toutes les personnes administratives de la faculté des sciences de la nature et de la vie, surtout à la responsable de Master Biochimie **Mme Brixî Gormat N** en raison de son intérêt pour nos problèmes et nos préoccupations et son désir constant de servir l'intérêt de l'étudiant.*

Un grand merci à tous les enseignants du département des sciences de la nature et de la vie, qui ont contribué à ma formation durant mon parcours universitaire, merci pour vos conseils, vos amours, vos soutiens et vos efforts au cours de notre formation.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les techniciens du laboratoire pédagogique de biologie pour leur aide, avis et conseils durant toute ma pratique au niveau du laboratoire.

Je remercie infiniment mes très chers parents de me supporter, et pour leur soutien constant, leur amour et leurs encouragements.

Je tiens également à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements à ma sœur, mes frères, ma famille, mes connaissances et à mes camarades, pour leurs précieux conseils, leurs encouragements et leurs motivations tout au long de la réalisation de mon étude.

Enfin, un grand merci à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail, trouvent ici mes sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

:

*A mon encadreur **Dr. ZERRIOUH.M**, j'espère que ce travail sera à la hauteur de vos attentes.*

Aux membres du jury, à tous mes professeurs qui m'ont fait confiance tout au long de mon cursus universitaire, et qui m'ont fait acquérir des compétences et un savoir dont je serai éternellement reconnaissant.

A mes chers parents, pour leur extrême amour, leurs soutiens et leurs encouragements tout au long de mon parcours d'étude, et ses prières qui m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie et qui m'ont soutenu dans les bons et les mauvais moments de ma vie. Que le bon Dieu vous protège et leur prête bonne santé et longue vie, et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur et vous faire honneur. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et ma fierté, ce travail est le fruit de vos sacrifices pour mon éducation, avenir et formation.

*A la mémoire de mes chers grands-parents, qu'**ALLAH** ait leurs âmes dans son vaste paradis.*

A ma sœur, pour son aide si précieuse, et à mes frères.

A tous les membres de ma famille et à tous mes amis.

A tous ceux que j'aime, et à toutes les personnes qui m'aiment et croient en moi et en mes capacités.

A tous mes camarades de ma promo Biochimie à qui je souhaite un bon parcours professionnel, et à tous mes connaissances en CUBBAT.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Résumé

Cette étude a pour but de déterminer la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux, et la contribution à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des racines de *Salvadora persica* L, une espèce appartenant à la famille des Salvadoracées.

Les dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes effectués sur l'extrait brut aqueux ont été déterminés à partir des courbes d'étalonnage d'acide gallique et de catéchine respectivement. Les résultats montrent que notre extrait est relativement riche en polyphénols et en flavonoïdes.

L'activité antioxydante est testée par la méthode de piégeage du radical libre le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl), qui indique que l'extrait aqueux de *S. persica* a un pouvoir anti radicalaire très lent par rapport à celui de l'antioxydant standard (l'acide ascorbique).

D'autre part, l'activité anti-inflammatoire étudiée en utilisant la méthode de la stabilisation membranaire des érythrocytes par la solution hypotonique et par la chaleur a montré que notre extrait possède un pouvoir anti-inflammatoire intéressant à des concentrations importantes, il est semblable à celui de l'acide salicylique, qui est un anti-inflammatoire de référence.

Mots clés : *Salvadora persica* L, extrait aqueux, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Abstract

The purpose of this study is to determine the content of polyphenols and total flavonoids, and the contribution to the *in vitro* evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of the aqueous extract of the roots of *Salvadora persica* L, a species belonging to the Salvadoraceae family.

The dosages of total polyphenols and flavonoids carried out on the aqueous crude extract were determined from the calibration curves of gallic acid and catechin respectively. The results show that our extract is relatively rich in polyphenols and flavonoids.

The antioxidant activity is tested by the free radical trapping method DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), which indicates that the aqueous extract of *S. persica* has a very slow anti-radical power compared to that standard antioxidant (ascorbic acid).

On the other hand, the anti-inflammatory activity studied using the method of membrane stabilization of erythrocytes by hypotonic solution and by heat, has shown that our extract has an interesting anti-inflammatory power, and at significant concentrations, it is similar to that of salicylic acid, which is a benchmark anti-inflammatory.

Key words: *Salvadora persica* L, aqueous extract, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

المخلص:

الغرض من هذه الدراسة هو تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد الكلي، والمساهمة في التقييم المخبري لمضادات الأكسدة والنشاط المضاد للالتهابات للمستخلص المائي لجذور سلفادورابيرسيكا (*Salvadora persica* L)، وهو نوع ينتمي إلى عائلة Salvadoraceae.

تم تحديد جرعات البوليفينول والفلافونويد الكلية التي تم إجراؤها على المستخلص الخام المائي من منحنيات معايرة حمض الغاليك والكاتشين على التوالي. أظهرت النتائج أن مستخلصنا غني نسبياً بالبوليفينول والفلافونويد.

يتم اختبار النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة اصطياد الجذور الحرة DPPH (2,2 diphenyl-1-(picrylhydrazyl)، والتي تشير إلى أن المستخلص المائي لـ *S. persica* لديه قوة مضادة للجذور بطيئة جداً مقارنة بتلك مضادات الأكسدة القياسية (حمض الأسكوربيك).

من ناحية أخرى، أظهر النشاط المضاد للالتهاب الذي تم دراسته باستخدام طريقة تثبيت غشاء كرات الدم الحمراء عن طريق محلول انخفاض ضغط الدم والحرارة، أن مستخلصنا لديه قوة مضادة للالتهابات مثيرة للاهتمام، وبتركيزات عالية، وهو يشبه حمض الساليسيليك، وهو معيار مضاد للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Salvadora persica* L، مستخلص مائي، مركبات فينولية، مركبات الفلافونويد، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° 1 : Caractéristiques des principales espèces réactives de l'oxygène moléculaire ..	9
Tableau n°2 : Mode opératoire de dosage des polyphénols totaux de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i>	27
Tableau n°3 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i>	29
Tableau n°4 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de <i>S. Persica</i> et de l'acide ascorbique.....	31
Tableau n°5 : Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.....	33
Tableau n°6 : Mode opératoire du test d'hémolyse	34
Tableau n°7 : Activité antioxydante de l'extrait aqueux de <i>Salvadora persica L</i> , exprimée en pourcentage d'inhibition et en IC50	42
Tableau n°8 : Effet de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i> , contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite par la chaleur et par la solution hypotonique	44

LISTE DES FIGURES

Figure n°1: <i>Salvadora persica L</i>	2
Figure n°2: Distribution géographique de <i>Salvadora persica L</i>	3
Figure n°3 : Les structures chimiques des constituants principales des racines de <i>S. persica</i> .	4
Figure n°4 : Structures de base des principaux flavonoïdes	7
Figure n°5 : Origine des espèces réactives de l'oxygène.....	10
Figure n°6 : Montage à reflux utilisé pour l'extraction de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i>	26
Figure n°7 : Evaporateur rotatif utilisé pour l'évaporation à sec de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i>	26
Figure n°8 : Forme libre et réduite du DPPH	30
Figure n°9 : Gamme étalon d'acide gallique (0-50µg/ml) et l'extrait aqueux en C1, C2 et C3 (Réactions en tubes)	37
Figure n°10 : Courbe étalon de l'acide gallique	37
Figure n°11 : Gamme étalon de la catéchine (0-50µg/ml) et l'extrait aqueux en C1, C2 et C3 (Réactions en tubes)	39
Figure n°12 : La courbe étalon de catéchine.....	40
Figure n°13 : Piégeage du DPPH par l'extrait aqueux de <i>S. persica L</i>	41
Figure n°14 : Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique	41

LISTE DES ABREVIATIONS

% : pourcentage

°C : degré Celsius

µg : microgramme

µl : microlitre

DO : densité optique

DPPH : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAG : équivalent d'acide gallique

EQ : équivalent de quercétine

g : gramme

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de mass

h : heure

IC50 : concentration Inhibitrice à 50%

l : litre

min : minutes

ml : millilitre

nm : nanomètre

R : rendement

rpm : rotations par minute

S. persica : *Salvadora persica*

syn : synonyme

T° : température

UV/Vis : ultra-violet/ visible

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

Etude bibliographique

Chapitre 1 : *Salvadora persica L*

1. Description botanique et classification taxonomique de <i>Salvadora persica L</i>	2
2. Localisation géographique de <i>S. persica L</i>	2
3. Compositions chimiques des racines de <i>Salvadora persica L</i>	3
4. Activités biologiques de <i>Salvadora persica L</i>	5

Chapitre 2: les polyphénols

1. Les composés phénoliques.....	6
1.1. Définition.....	6
1.2. Structure chimique.....	6
1.3. Classification	6
1.3.1. Les flavonoïdes	7
1.4. Propriétés biologiques	7

Chapitre 3: Stress oxydatif et l'activité antioxydante

1. Stress oxydatif et les radicaux libres	8
1.1. Stress oxydatif	8
1.2. Les radicaux libres.....	8
1.2.1. Définition	8
1.2.2. L'origine.....	9
1.2.3. Les radicaux libres et la chaîne respiratoire	10
1.3. La relation entre le stress oxydatif et les radicaux libres.....	10
2. Activité antioxydante	11
2.1. Les antioxydants	11
2.1.1. Définition	11

2.1.2.	Les types des antioxydants	11
2.1.3.	Les types de système des antioxydants et leur mécanisme d'action	11

Chapitre 4: L'inflammation et l'activité antiinflammatoire

1.	L'inflammation	13
1.1.	Définition.....	13
1.2.	L'origine	13
1.3.	Les signes	13
2.	Les types de l'inflammation	13
2.1.	L'inflammation aiguë	13
2.2.	L'inflammation chronique	15
3.	Les inducteurs de l'inflammation	15
3.1.	Inducteurs exogènes de l'inflammation	15
3.2.	Inducteurs endogènes de l'inflammation	16
4.	Mécanisme d'action de l'inflammation.....	16
5.	Les antiinflammatoires	18
5.1.	Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) : glucocorticoïdes.....	18
5.2.	Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS)	19
5.3.	Les anti-inflammatoires enzymatiques	20

Partie expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1.	Matériel végétal	25
2.	Préparation de l'extrait aqueux.....	25
3.	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	26
3.1.	Dosage des polyphénols totaux	27
3.2.	Dosage des flavonoïdes totaux	28
4.	Etude de l'activité biologique de l'extrait aqueux de <i>S. persica</i>.	30
4.1.	Evaluation de l'activité antioxydante	30

4.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire	31
---	----

Chapitre 2: Résultats et discussion

1. Etude phytochimique de <i>S. persica L.</i>	36
1.1. Extrait aqueux de <i>S. persica L.</i>	36
1.2. Dosage des polyphénols totaux	36
1.3. Dosage des flavonoïdes totaux	39
2. Étude de l'activité biologique de l'extrait aqueux de <i>S. persica L.</i>	41
2.1. Activité antioxydante	41
2.2. L'activité antiinflammatoire	43
<input type="checkbox"/> CONCLUSION	47
<input type="checkbox"/> PERSPECTIVES	48
<input type="checkbox"/> REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	49

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées, à des fins thérapeutiques, depuis des siècles, elles ont été mentionnées dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindoue, grecque et romaine (N'Guessan *et al.*, 2009).

L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales qui constituent des ressources précieuses pour la grande majorité de la population rurale africaine, dont plus de 80% les utilisent à la médecine et à la pharmacologie traditionnelle pour assurer les soins de santé (Didier *et al.*, 2011). En effet, sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales (Salhi *et al.*, 2010).

L'Algérie est connue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, elle est également connue par l'utilisation populaire de ces plantes dans l'ensemble des terroirs du pays. La richesse et l'originalité de ces plantes font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de l'ethnobotanique et de la pharmacologie traditionnelle, mais également un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de la valorisation des substances naturelles (Bouziid *et al.*, 2017).

Salvadora persica L, est une plante halophyte médicinale importante qui appartient à la famille des Salvadoracées (Kumari *et al.*, 2017), connue sous le nom d'Arak. Elle est largement utilisée comme matériau de brosse à dents pour l'hygiène buccale (Kumari *et al.*, 2017; Mariod *et al.*, 2009). En effet, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a recommandé et encouragé l'utilisation de bâtonnets à mâcher (Siwak) de tige et/ou de racine de *S. persica* comme procédure efficace d'hygiène bucco-dentaire dans les zones où son utilisation est habituelle (WHO, 1987; Løe, 2000).

S. persica représente aussi d'autres propriétés médicinales (Kumari *et al.*, 2017; Mariod *et al.*, 2009) grâce aux composés bioactifs qu'elle renferme (Ibrahim *et al.*, 2015), notamment des effets antimicrobiens, antiinflammatoires, analgésiques (WHO, 1987) et antifongiques (Mohamed et Khan, 2013).

Le but de notre étude est de déterminer la teneur totale en phénols et flavonoïdes des racines *S. persica* originaire du Sahara Algérien, ainsi d'estimer leurs propriétés antioxydante et antiinflammatoire *in vitro*. Cela nous permet une contribution à la valorisation de la plante, en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques.

*Etude
bibliographique*

1. Description botanique et classification taxonomique de *Salvadora persica* L

Salvadora persica L., (syn. *Galenia asiatica* et *Salvadora indica*) (Chaurasia *et al.*, 2013), est une plante désertique appartenant à la famille des Salvadoraceae, elle est connue sous le nom vernaculaire de Shajar el Miswak ou Al-arak (Khan Marwa *et al.*, 2009), ou de Kharijal (Tiwari *et al.*, 2018). Morphologiquement, c'est un arbre ou un arbuste à tronc tordu, l'écorce des vieilles tiges est rugueuse, les branches sont nombreuses, retombantes, cylindriques et finement striées (Fig.1 A). Les feuilles sont petites et persistantes, arrondies à ovales, légèrement charnues, épaisses et succulentes avec une forte odeur de cresson ou de moutarde, les fleurs sont jaune verdâtres et les fruits rouges mûrs, sont sphériques et charnues (Fig.1 B), (Haque et Alsareii, 2015; Khatak *et al.*, 2010).

La classification taxonomique complète de *S. persica* est donnée ci-dessous (Haque et Alsareii, 2015; Khatak *et al.*, 2010).

Règne : Plantae

Branchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Brassicales

Famille : Salvadoraceae

Genre : *Salvadora*

Espèce : *Persica oleoides*



(A)

(B)

Figure n°1: *Salvadora persica* L.

(A) Le tronc et les branches (Mehdi, 2010), (B) les fruits et les feuilles (Rookhraj Paudhshala).

2. Localisation géographique de *S. persica* L

S. persica peut survivre dans des conditions extrêmes et peut tolérer des environnements très secs dans des sols très salins (Aumeeruddy *et al.*, 2018). On la trouve dans les régions arides et côtières, les terres salines, les plaines inondables du désert et les savanes herbeuses (Ishrak Khafagi *et al.*, 2006). *S. persica* est originaire d'Algérie, d'Égypte, d'Inde, du Nigéria, du Pakistan, d'Arabie saoudite, du Sri Lanka, d'Ouganda, du Kenya et du Zimbabwe (Heymann, 2008).

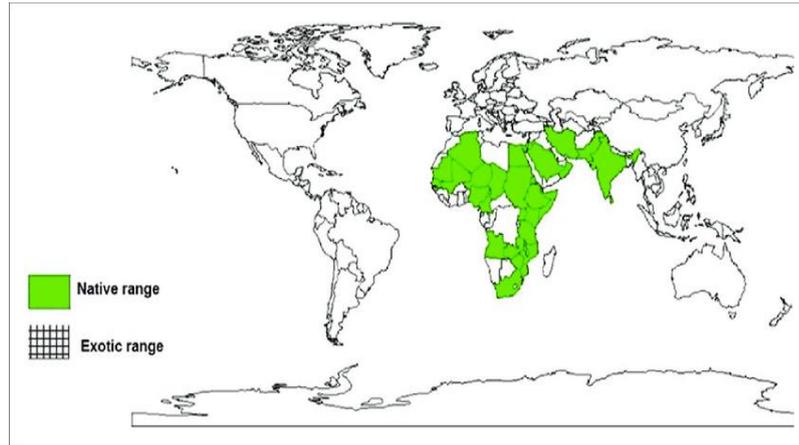


Figure n°2: Distribution géographique de *Salvadora persica* L (Sudhir *et al.*, 2018).

3. Compositions chimiques des racines de *Salvadora persica* L

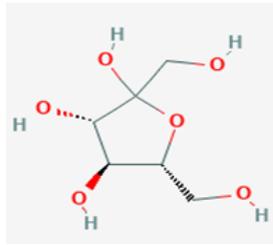
Toutes les parties de l'espèce *Salvadora persica* contiennent plusieurs constituants chimiques biologiquement actifs tels que les huiles volatiles, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les stéroïdes, les terpènes, les tanins, les saponines et les glucides (Swamy et Timothy, 2015).

Les racines de *S. persica* contiennent une très grande variété de métabolites secondaires, on distingue ainsi des alcaloïdes notamment la triméthylamine, des flavonoïdes, des sucres comme le D-fructofuranose, le D-allopyranose et le D-lyxose, des glycosides, des saponines et des terpènes. Les racines contiennent également du soufre gamma monoclinique élémentaire, du glucosinolate de benzyle, de la salvadourée (dérivé de l'urée), de l'acide m-anisique, des acides aminés (la L-alanine étant le principal), du sitostérol, du fluorure, de la silice, de l'acide tannique, des résines, des huiles volatiles, du soufre, de la vitamine C, du bicarbonate de sodium, du chlorure, du calcium, du benzylisothiocyanate, de l'acide salicylique, des stérols et de la N-benzylamine (Chaurasia *et al.*, 2013; Farag *et al.*, 2017; Swamy et Timothy, 2015).

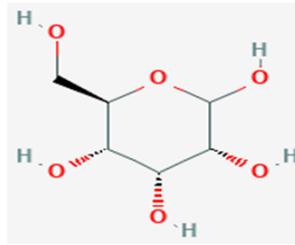
La figure n°3 donne les structures chimiques des principales molécules trouvées dans les racines de *S. persica*.



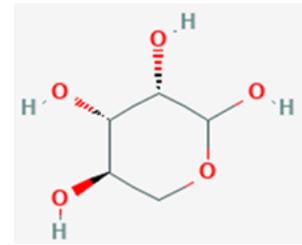
Triméthylamine



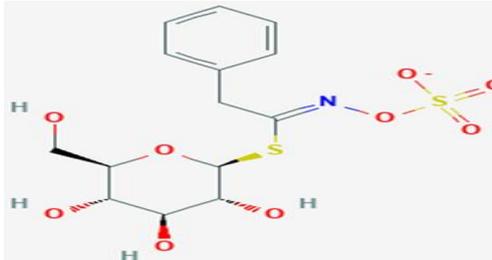
D-Fructofuranose



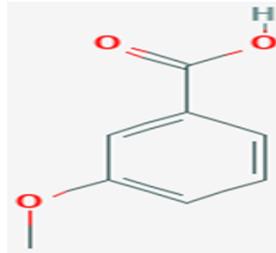
D-allopyranose



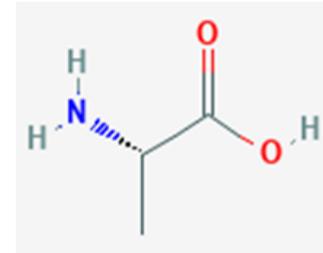
D-lyxose



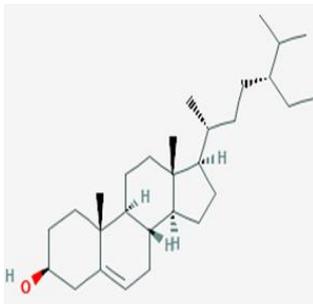
Glucosinolate de benzyle



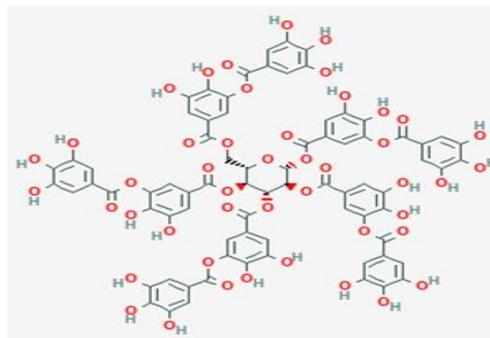
Acide m-anisique



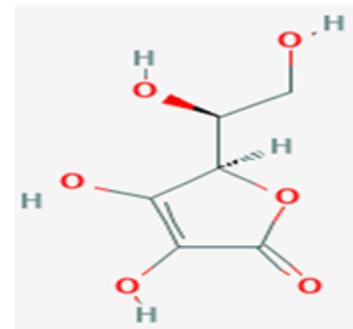
L-alanine



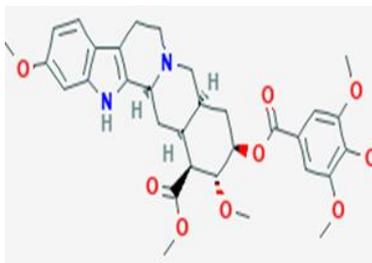
Beta-sitostérol



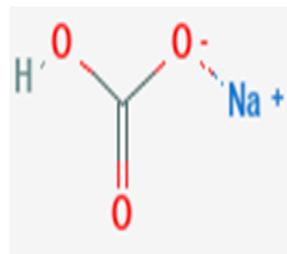
Acide tannique



Vitamine C



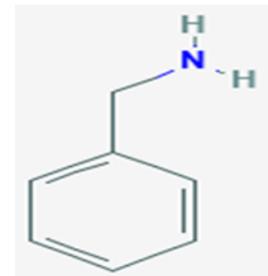
Résines



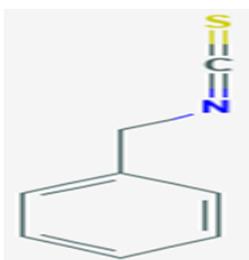
Bicarbonate de sodium



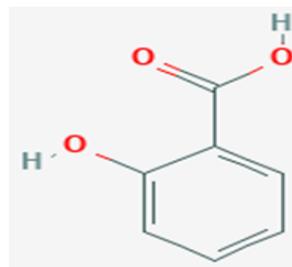
Fluorures



N-benzylamine



Benzylisothiocyanate



Acide salicylique

Figure n°3 : Les structures chimiques des constituants principales des racines de *S. persica* (PubChem)

4. Activités biologiques de *Salvadora persica* L

Le Siwak (*S. persica*) est une plante médicinale utilisée comme bâtonnet frotte-dents pour l'hygiène buccale au sein de la communauté musulmane mondiale. C'est cette plante que le prophète Mohammed recommande pour les ablutions (**Aumeeruddy et al., 2018; Manoj et al., 2011**). D'autre part, les différentes parties de la plante (la racine, l'écorce, la tige, les feuilles, les graines, les fleurs et les fruits) ont été traditionnellement utilisées dans une grande variété de préparations à usage interne et externe contre diverses affections et maladies des systèmes digestif, musculosquelettique, circulatoire, glandulaire et urinaire, tels que des rhumatismes, de la lèpre, de la gonorrhée, des ulcères, du scorbut, des tumeurs et des maladies dentaires ainsi que les mères allaitantes l'utilisent pour augmenter la quantité de lait pour le bébé (**Alali et Al-Lafi, 2003; Aumeeruddy et al., 2018; Swamy et Timothy, 2015**).

D'autre part plusieurs études expérimentales ont été réalisées sur *Salvadora persica*, afin de prouver ses activités biologiques et d'isoler les principes actifs. Il a été ainsi démontré que *S. persica* possède une activité antimicrobienne significative contre les bactéries aérobies et anaérobies collectées à partir des dents avec des gencives enflammées et des pulpes nécrotiques (**Ahmad et Rajagopal, 2014**). Cette activité antimicrobienne est surtout efficace avec des extraits alcooliques qu'avec des extraits aqueux de la plante (**Dutta et Shaikh, 2012**). De plus, il a été prouvé que *S. persica* possède une activité anti-plasmodia et elle était utilisée dans le cadre du traitement du paludisme (**Ali et al., 2002**), ainsi qu'une activité antifongique principalement contre les infections fongiques orales (**Ahmad et Rajagopal, 2014**). Plusieurs activités biologiques *S. persica* ont été aussi prouvées, notamment les activités analgésiques, anti-inflammatoires, antipyrétiques, astringentes et diurétiques (**Galletti et al., 1993**).

1. Les composés phénoliques

Les végétaux sont caractérisés par la production de métabolites secondaires, qui sont des substances chimiques de structures variées, non impliquées directement dans la croissance et le développement (Eguchi *et al.*, 2017). Parmi ces substances, on trouve les composés phénoliques (Bourgaud *et al.*, 2001).

1.1. Définition

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, ce sont des composés hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 Daltons (Chira *et al.*, 2008). Les polyphénols sont des phytomicronutriments présents dans les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles de tous les végétaux, ils interviennent dans la défense contre les agressions environnementales et jouent le rôle de pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et des fruits (jaune, orange, rouge) (Edeas, 2007).

1.2. Structure chimique

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques possédant au moins un noyau aromatique (un cycle benzénique à 6 carbones), portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (OH), en plus d'autres constituants. La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire, comme les acides phénols, jusqu'à des composés hautement polymérisés et complexes de très haut poids moléculaire (plus de 30 000 Daltons) comme les tanins (Chira *et al.*, 2008).

1.3. Classification

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en plusieurs classes chimiques (Edeas, 2007). Ils peuvent être classés selon le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (Chira *et al.*, 2008). Les représentants les plus nombreux (plus de 5 000 molécules isolées) et les plus connus sont les « flavonoïdes ». Néanmoins, de nombreuses autres structures existent, telles que les acides phénols (dérivés de l'acide cinnamique, par exemple), tanins hydrolysables, coumarines, lignanes, quinones et autres phloroglucinols (Hennebelle *et al.*, 2004).

1.3.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires à structure polyphénolique synthétisés dans les plantes, par la voie des phénylpropanoïdes (Morreel *et al.*, 2006), ils sont composés d'une structure de base comprenant 15 atomes de carbone et formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones (Chira *et al.*, 2008).

Les flavonoïdes sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation en 6 grandes classes, les flavanols (catéchine), les anthocyanidines (cyanidine, pélagonidine), les flavones (Apigénine, diosmine, lutéoline), les flavanones (Naringénine, naringine, hespérétine, hespérédine), les chalcones (Phlorétine, phloridzine), les flavonols (Quercétine, kaempférol, myricétine, fisétine, morine) (Edeas, 2007). Les structures de base des principaux flavonoïdes sont montrées dans la figure n°4.

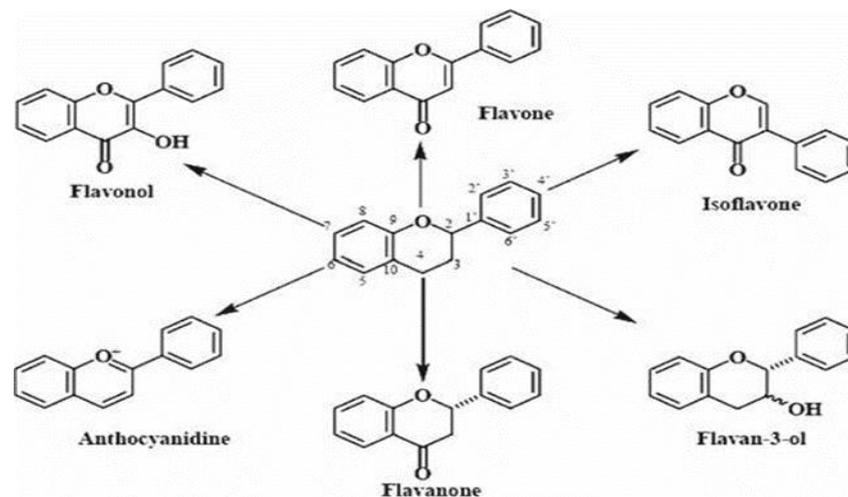


Figure n°4 : Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

1.4. Propriétés biologiques

Les polyphénols, possèdent un pouvoir antioxydant très intéressant pour la conservation des aliments que pour celle des produits cosmétiques, ils développent un effet protecteur vis-à-vis des rayons UV sur la peau et ils ont également un pouvoir antiinflammatoire (Edeas, 2007). Ils ont aussi un intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Chira *et al.*, 2008).

Les flavonoïdes, la classe majoritaire des polyphénols, ont été étudiés davantage, et ont prouvé diverses activités biologiques telles que les activités antioxydantes, antiallergiques, hépatoprotectrice, antithrombotique, antivirale et anticarcinogène (Edeas, 2007).

1. Stress oxydatif et les radicaux libres

1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants – antioxydants » (**Sergent et al., 2001**), c'est une perturbation endogène, de courte ou longue durée, due soit à une défense antioxydante défailante (une diminution des systèmes de défense antioxydants), soit à un état pro-oxydatif accru (une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène) (**Berger, 2006**).

Le stress oxydant provoque une altération des molécules biologiques (**Hugon et al., 1996**), telles que les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (**Sergent et al., 2001**). Par conséquent, ces perturbations peuvent être à l'origine du développement d'une série de maladies humaines (**Livingstone, 2003**), notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires, le déclin du système immunitaire, la cataracte et le dysfonctionnement cérébral ; ce processus est également impliqué dans la physiopathologie de la neurodégénérescence et pourrait être impliqué dans la pathogenèse de la maladie de Parkinson, de la sclérose latérale amyotrophique et de la maladie d'Alzheimer (**Hugon et al., 1996**).

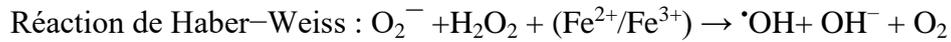
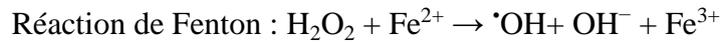
1.2. Les radicaux libres

1.2.1. Définition

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui contiennent un électron non apparié, ou célibataire, comme conséquence de la perte d'un électron de l'orbite externe (**Berger, 2006**), ils peuvent ainsi réagir avec les molécules environnantes pour appairer cet électron célibataire, ce qui leur confère une extrême réactivité et toxicité (**Sergent et al., 2001**), sur les structures biologiques (**Hugon et al., 1996**).

Les radicaux libres sont principalement représentés par l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$) (**Sergent et al., 2001**), ils sont appelés des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou des radicaux oxygénés libres (ROL) (**Jauniaux et Burton, 2016**). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) appartient aussi à cette famille, bien que c'est une molécule, mais il est lui-même toxique et donne naissance à l'espèce radicalaire la plus puissante, le radical hydroxyle, qui réagit instantanément et sans discrimination avec pratiquement toutes les molécules organiques (**Livingstone, 2003**).

Le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) est obtenu à partir du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss, en présence du fer (**Sergent *et al.*, 2001**) :



Le tableau n°1 représente les caractéristiques des principales espèces réactives de l'oxygène moléculaire.

Tableau n° 1 : Caractéristiques des principales espèces réactives de l'oxygène moléculaire (Tessier et Marconnet, 1995).

Espèce chimique		Caractéristiques
O_2	Oxygène Moléculaire	Bi-radical, stable, faible pouvoir oxydant
$\cdot\text{O}_2^-$	Radical anion Superoxyde	Radical peu réactif, mais toxique, oxyde les catécholamines, peut former $\text{HO}\cdot$
$^1\text{O}_2$	Oxygène singulet	Non radical, très réactif
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	Non radical, stable, faiblement toxique, diffusible, antiseptique, peut former $\text{HO}\cdot$
$\text{HO}\cdot$	Radical hydroxyle	Très réactif, peu diffusible, initiateur principal de la lipoperoxydation altère les protéines et l'ADN

1.2.2. L'origine

La production de radicaux libres peut être d'origine endogène accidentelle, ils proviennent de la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Berger, 2006**), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine-oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines etc.) (**Pincemail *et al.*, 2002**). D'autre part, le métabolisme de l'éthanol est fortement impliqué dans l'induction du stress oxydatif (**Sergent *et al.*, 2001**), ainsi que l'inflammation qui par exemple, induit la production de superoxyde pendant la phagocytose, et enfin l'hyperglycémie qui constitue également un stress oxydant (**Berger, 2006**).

Les radicaux libres peuvent être aussi d'origine exogène, ils sont produits par les radiations (rayons X et le rayonnement UV), les polluants de l'air (N , NO_2), les solvants organiques, les anesthésiques, les pesticides, les drogues, les xénobiotiques (**Tessier et Marconnet, 1995**), les métaux de transition (comme le Fe), les composés organiques cycliques comme les quinones,

l'autoxydation de certaines oxygénases (le cytochrome), et l'induction enzymatique (les flavoprotéines réductases) (Livingstone, 2003). Par ailleurs, certains de nos traitements engendrent aussi des radicaux libres tels que l'hyperoxie, la dialyse, la thérapie martiale par voie intraveineuse et la transfusion sanguine (Berger, 2006). De plus, une mauvaise alimentation, pauvre en antioxydants, contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (Pincemail *et al.*, 2002).

1.2.3. Les radicaux libres et la chaîne respiratoire

Le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire est une source importante des radicaux libres. Au cours de la respiration cellulaire, l'oxygène subit une réduction tétravalente en eau (reconverties en H₂O) (Livingstone, 2003), par l'action combinée des enzymes la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (Jauniaux et Burton, 2016). Toutefois, une réduction partielle de l'O₂ entraîne la formation d'espèces réactives de l'oxygène ; le radical anion superoxyde ([•]O₂⁻), le radical hydroxyle (OH[•]) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Livingstone, 2003). (Fig.5).

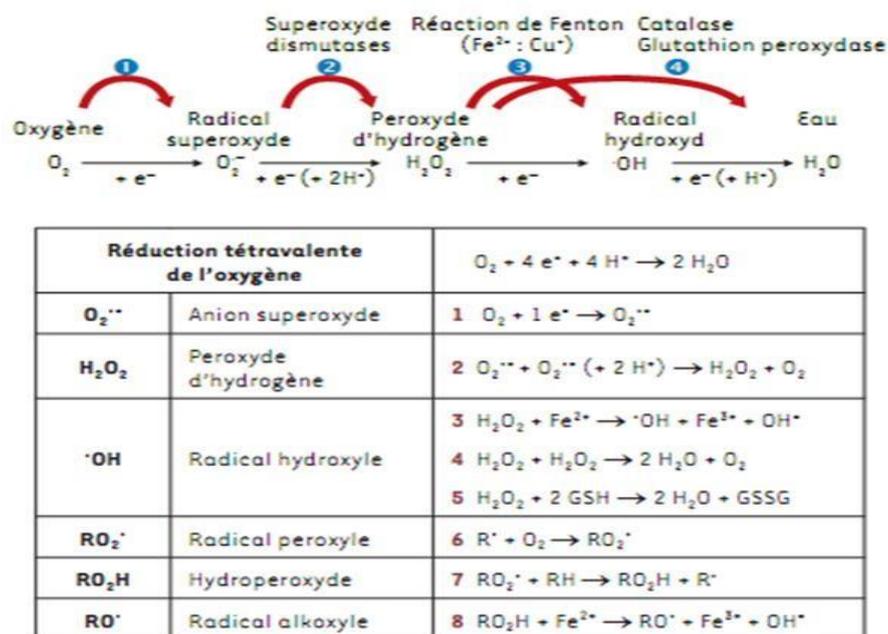


Figure n°5 : Origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011).

Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées. En plus des espèces réactives de l'oxygène primaires (le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle), il existe aussi des ERO, dits secondaires comme le radical peroxyde, l'hydroperoxyde et le radical alkoxyde (Migdal et Serres, 2011).

1.3. La relation entre le stress oxydatif et les radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en faibles concentrations ont un rôle

physiologique essentiel au niveau de l'homéostasie cellulaire et plus particulièrement dans l'activité de certaines enzymes intracellulaires (**Jauniaux et Burton, 2016**). Certaines contribuant d'ailleurs à la régulation de fonctions biologiques (oxyde nitrique), et participent à la réponse au stress, notamment d'origine infectieuse (hypochlorite, superoxyde, peroxyde) (**Hennebelle et al., 2004**). Cependant, lorsque la production de ERO est trop élevée et dépasse les capacités de défenses anti-oxydantes des tissus, ces molécules provoquent des altérations irréversibles des fonctions cellulaires de base, de l'intégrité de la membrane cellulaire, et de l'ADN conduisant rapidement à la mort cellulaire ou apoptose (**Jauniaux et Burton, 2016**) et contribuent au vieillissement (**Hennebelle et al., 2004**).

2. Activité antioxydante

Par définition, l'activité antioxydante est la capacité d'un composé (antioxydant) à inhiber l'oxydation, par exemple la peroxydation lipidique (**Roginsky et Lissi, 2005**).

2.1. Les antioxydants

2.1.1. Définition

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable (y compris les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN), retarde, inhibe ou empêche considérablement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell, 1996**).

2.1.2. Les types des antioxydants

Il existe deux types d'antioxydants :

- Les antioxydants primaires encore appelés radicalaires ou vrais, qui permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique : $AH + R\bullet \rightarrow A\bullet + RH$, si le radical formé $A\bullet$ est plus stable, la molécule AH est antioxydante. La stabilité du radical $A\bullet$ peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires (**Rolland, 2004**).
- Les antioxydants secondaires ou préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres et agissent sur les facteurs favorisant l'oxydation : ils chélatent des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, ils réduisent l'oxygène (acide ascorbique), ils désactivent l'oxygène singulet (les carotènes) (**Rolland, 2004**).

2.1.3. Les types de système des antioxydants et leur mécanisme d'action

Face à la production d'espèces activées de l'oxygène, l'organisme dispose de systèmes de défense antioxydants (**Sergent et al., 2001**) qui empêche la dégradation cellulaire induite par

les radicaux libres (**Hugon et al., 1996**). L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces pour tenter de prévenir le stress oxydatif, il existe deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (**Goudable et Favier, 1997**).

a. Systèmes enzymatiques

Les plus connus sont la superoxyde dismutase (SOD) qui convertit le $O_2^- \cdot$ en H_2O_2 , la catalase qui convertit H_2O_2 en eau et la glutathion peroxydase qui catalyse, en présence de glutathion réduit (**Schwingshackl et al., 2015**), la réduction de H_2O_2 ou des hydroperoxydes lipidiques (**Livingstone, 2003; Sergent et al., 2001**), et également le couple thiorédoxine/thiorédoxine réductase, hème oxygénase et peroxyrédoxine (**Pincemail et al., 2002**).

Il y a d'autre système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases qui empêche l'accumulation de lipides, d'ADN et de protéines oxydés dans la cellule et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Pincemail et al., 2002**).

b. Systèmes non enzymatiques

Les systèmes non enzymatiques sont des piègeurs de radicaux libres de faible poids moléculaire (**Livingstone, 2003**), on peut citer principalement des molécules solubles dans l'eau comme le glutathion réduit (**Schwingshackl et al., 2015**), caroténoïdes et l'acide ascorbique (vitamine C), et des molécules liposolubles comme la vitamine A et l' α -tocophérol (vitamine E) (**Livingstone, 2003; Sergent et al., 2001**). D'autres molécules appartiennent aussi à ces systèmes, tels que l'acide urique, la bilirubine, l'acide lipoïque, l'ubiquinone, des protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif pour la formation des radicaux oxygénés libres et certains oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le sélénium qui sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (**Pincemail et al., 2002**).

Ils existent plusieurs stratégies de lutte contre l'oxydation, par exemple, lors de la réaction de peroxydation lipidique, l' α -tocophérol piège les radicaux peroxydes d'acides gras bloquant ainsi la phase de propagation de la peroxydation lipidique, il forme ainsi des hydroperoxydes lipidiques qui sont ensuite éliminés par la glutathion peroxydase ; En plus de piéger des radicaux libres, la vitamine C et le glutathion interviennent dans le processus de régénération de l' α -tocophérol (**Sergent et al., 2001**).

1. L'inflammation

1.1. Définition

L'inflammation est un processus biologique universel de défense et de réparation tissulaire de l'organisme contre un agent agresseur (**Muster, 2005**), elle permet d'éliminer des agents pathogènes (**Cynober, 2000**) et assure l'équilibre homéostatique dans l'organisme entre les phénomènes pro-inflammatoires et les phénomènes anti-inflammatoires (**Cynober, 2000; Medzhitov, 2008**).

Généralement, une réponse inflammatoire est bénéfique, (par exemple, en fournissant une protection contre l'infection et permettant d'éliminer des agents pathogènes), lorsqu'elle est contrôlée et dure à court terme, mais elle peut devenir nuisible et inadaptée si elle est à long terme et/ou lorsqu'elle est excessive ou dérégulée, ce qui génère des effets délétères (**Cynober, 2000; Medzhitov, 2008**).

1.2. L'origine

L'origine de l'inflammation est très variée : bactérienne, virale, parasitaire, tumorale, traumatique (blessure, intervention chirurgicale), physique (brûlure, irradiation), nécrose tissulaire (infarctus), immunologique (maladie auto-immune, rejet de greffe) (**Engler, 1996**), toxicité chimique (**Dupuy et al., 2003**).

1.3. Les signes

L'inflammation est un processus physiopathologique utilisée par les systèmes immunitaires innés et adaptatifs, et caractérisée par des symptômes plus ou moins pénibles ; locaux tels que la rougeur, l'œdème, la chaleur, la douleur et la perte de fonction, généraux comme la fièvre, l'asthénie, l'anorexie et les myalgies, et parfois dangereux comme l'occlusion ou la rupture d'une artère au cours d'une vascularite (**Ait El Cadi et al., 2012; Muster, 2005**).

2. Les types de l'inflammation

2.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë systémique est une réaction immédiate et aspécifique de défense de l'organisme contre toute lésion tissulaire pouvant être de nature infectieuse (infection bactérienne par exemple), traumatique, immunologique, néoplasique, un choc hémorragique, une nécrose tissulaire ou un traumatisme chirurgical (**Humblet et Godeau, 2005; Salier et al., 1997**). Ce type de réponse permet une adaptation de l'organisme au stress provoqué par l'inflammation (**Engler, 1996**) et lutter contre l'agresseur ou le trauma en vue de restaurer l'homéostasie et de prévenir la croissance microbienne (**Humblet et Godeau, 2005**).

Les principaux signes de cette réponse sont la fièvre, l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien, l'activation de l'hématopoïèse, la modification de la biosynthèse des protéines hépatocytaires (**Engler, 1996**) ce qui se traduit par une augmentation sérique des protéines de l'inflammation appelées les protéines de la phase aiguë (Acute phase proteins ou APPs) (**Lioté, 2011**). Ces protéines sont des inhibiteurs de protéases, des protéines de la coagulation, des transporteurs, des protéines du complément et bien d'autres protéines aux fonctions encore inconnues et qui sont sécrétées par le foie sous l'action des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur nécrosant des tumeurs (TNF α), les interleukines (IL1 α et β , et IL6) libérées par les macrophages, les cellules endothéliales vasculaires et les fibroblastes (**Salier et al., 1997**). D'autre part, il y a une diminution de certaines protéines qui sont des marqueurs négatifs, minoritaires comme l'albumine et la transferrine (**Humblet et Godeau, 2005**).

L'inflammation aiguë est aussi accompagnée par une hyperleucocytose des polynucléaires neutrophiles (PNN) (**Lioté, 2011**), une augmentation de la sécrétion d'adrénocorticotrophine (ACTH) et de glucocorticoïdes, l'activation du complément, une diminution des taux sériques du fer, du zinc, du calcium et des vitamines A et E. Elle est caractérisée également au niveau du site de la lésion par l'agrégation plaquettaire, une dilatation et une augmentation de perméabilité des vaisseaux sanguins, mais également une accumulation des granulocytes et cellules mononucléaires qui libèrent des médiateurs de l'inflammation comme les cytokines qui agissent sur des récepteurs spécifiques situés au niveau des cellules cibles pour déclencher la réaction systémique (**Humblet et Godeau, 2005**).

L'inflammation aiguë se déroule en trois phases étroitement liées : la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de résolution.

- **La phase vasculaire** : qui est caractérisée par l'interaction des neutrophiles avec l'endothélium vasculaire activé qui permet aux neutrophiles de quitter le vaisseau et de pénétrer le tissu cible (c'est le processus d'extravasation) (**Afonso et Parent, 2013**), cette phase permet d'augmenter localement le flux sanguin et la perméabilité vasculaire (**Fablet et Madec, 2009**).
- **La phase cellulaire** : elle se superpose ou succède à la précédente et consiste à une migration de cellules essentiellement les neutrophiles (**Afonso et Parent, 2013**) et de messagers sanguins vers les territoires lésés (**Fablet et Madec, 2009**).
- **La phase de résolution** : elle est contrôlée par des facteurs endogènes de prérésolution

ou appelé également des signaux anti-inflammatoires endogènes, tels que la corticostérone, qui servent à tempérer la gravité et à limiter la durée de l'inflammation aiguë. Certains « signaux-stop », incluent les lipoxines, les résolvines et les prostaglandines (PG) de la série D, empêchent tout trafic de leucocytes dans les tissus et ouvrent la voie à la migration des monocytes et à leur différenciation en macrophages phagocytaires qui éliminent les cellules mortes puis quittent le site de l'inflammation **(Gilroy et Lawrence, 2008)**.

Les cellules stromales telles que les fibroblastes contribuent également à la résolution de l'inflammation par le retrait des signaux de survie et la normalisation des gradients de chimiokines, permettant ainsi aux leucocytes infiltrants de subir l'apoptose ou de quitter le tissu à travers les lymphatiques drainants **(Gilroy et Lawrence, 2008)**. Cet ensemble séquentiel de réponses conduit à une résolution complète et à la restauration du tissu enflammé à son fonctionnement physiologique antérieur.

2.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est une réponse associée à un processus nocif et dégénératif. Les défauts des voies anti-inflammatoires endogènes tels que l'échec de la phase de résolution de l'inflammation aiguë, prédisposent l'organisme au développement des maladies inflammatoires chroniques et à l'auto-immunité, telles que celles caractérisées par la polyarthrite rhumatoïde, la maladie inflammatoire de l'intestin, le lupus érythémateux disséminé, l'asthme **(Gilroy et Lawrence, 2008)**, la mucoviscidose et autres **(Delarue, 2001)**.

Le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires sont aussi des états inflammatoires chroniques qui ne semblent pas être causés par les instigateurs classiques de l'inflammation (infection et blessure), mais ils semblent être associés au dysfonctionnement des tissus, c'est-à-dire au déséquilibre homéostatique de l'un des nombreux systèmes physiologiques qui ne sont pas directement liés fonctionnellement à la défense de l'organisme ou à la réparation des tissus **(Medzhitov, 2008)**.

3. Les inducteurs de l'inflammation

Les inducteurs de l'inflammation peuvent être exogènes ou endogènes.

3.1. Inducteurs exogènes de l'inflammation

Les inducteurs exogènes peuvent être classés en deux groupes :

- **Microbiens** : sont les modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP ; est un ensemble défini et limité de modèles moléculaires conservés qui est porté par

tous les micro-organismes d'une classe donnée), et les facteurs de virulence comme les exotoxines produites par les bactéries et l'activité protéolytique des protéases produites par les helminthes (**Medzhitov, 2008**). Une autre façon de détecter l'activité de virulence est encore plus indirecte et non spécifique, en détectant les effets sur la nécrose ou la mort cellulaire et les dommages tissulaires. Dans ce cas, les véritables inducteurs de la réponse inflammatoire sont des produits endogènes de cellules et de tissus endommagés (**Medzhitov, 2008**).

- **Non microbiens** : comprennent les allergènes, les irritants, les corps étrangers et les composés toxiques (**Medzhitov, 2008**).

3.2. Inducteurs endogènes de l'inflammation

Les inducteurs endogènes de l'inflammation sont des signaux produits par les tissus stressés, endommagés ou défectueux, la nécrose cellulaire ou la rupture de la matrice extracellulaire (MEC) (**Medzhitov, 2008**).

4. Mécanisme d'action de l'inflammation

L'inflammation est un processus biologique de défense et d'adaptation de l'organisme à une agression déclenchée par des stimuli pathogènes (immuns, microcristaux, infections, corps étranger, traumatismes...) et des conditions nocives qui peuvent léser l'organisme (**Engler, 1996; Muster, 2005; Medzhitov, 2008**), ces instigateurs classiques de l'inflammation entraînent des modifications de l'hémodynamique et de la perméabilité vasculaire médiées par la sérotonine et les prostaglandines d'origine plaquettaire, l'histamine des mastocytes, la bradykinine, le système complément et le facteur XIIa de la coagulation (**Cynober, 2000**).

L'inflammation comprend des inducteurs, des capteurs, des médiateurs et des effecteurs qui déterminent le type de réponse inflammatoire (**Medzhitov, 2008**).

La réponse inflammatoire aiguë a été mieux caractérisée pour les infections microbiennes, en particulier les infections bactériennes, dans lesquelles elle est déclenchée par des récepteurs du système immunitaire inné, tels que les récepteurs Toll-like (TLR), cette reconnaissance initiale de l'infection est médiée par les macrophages tissulaires et les mastocytes, conduisant à la production d'une variété de médiateurs inflammatoires, y compris les chimiokines, les cytokines, les produits des cascades protéolytiques ...etc. (**Medzhitov, 2008**). La collaboration entre les cellules et les cytokines pro inflammatoires telles que IL1, le TNF et IL6, qui sont produites localement, sont responsables des effets systémiques de l'inflammation, ces cytokines agissent sur le système nerveux central pour déclencher la réponse inflammatoire, en stimulant

la sécrétion de l'ACTH et les glucocorticoïdes sur l'axe hypothalamo- hypophysaire, et favorise l'hématopoïèse au niveau de la moelle osseuse, et au niveau hépatique, les cytokines modifient l'expression des protéines de la phase aiguë (APPs) (**Dupuy *et al.*, 2003**).

Lorsque l'endothélium devient perméable, les cellules du système immunitaire (monocytes-macrophages, les leucocytes principalement les polynucléaires neutrophiles [PNN]) et les protéines plasmatiques, qui sont limités aux vaisseaux sanguins, migrent vers les tissus extravasculaires du site d'infection (ou blessure) (**Cynober, 2000; Medzhitov, 2008**) afin d'isoler et d'éliminer le corps étranger (**Muster, 2005**). Le passage des neutrophiles de l'endothélium au foyer inflammatoire est sélectif pour empêcher la sortie des érythrocytes, cette sélectivité est assurée par la ligature inductible des sélectines des cellules endothéliales avec les intégrines et les récepteurs des chimiokines sur les leucocytes (**Medzhitov, 2008**).

Lorsque les neutrophiles atteignent le site tissulaire infecté, ils sont activés, soit par contact direct avec des agents pathogènes ou bien par l'action de cytokines sécrétées par des cellules résidentes dans les tissus, puis ils essayent de tuer les agents envahisseurs en libérant le contenu toxique de leurs granules, qui comprennent les espèces réactives de l'oxygène (ROS), les espèces réactives de l'azote, la protéinase, la cathepsine G et l'élastase, ces effecteurs très puissants ne font pas de distinction entre les cibles microbiennes et celles de l'hôte, de sorte que les dommages collatéraux aux tissus de l'hôte sont inévitables (**Medzhitov, 2008**). Enfin, intervient la phase de réparation et de résolution impliquant en particulier les macrophages et les fibroblastes (**Cynober, 2000; Medzhitov, 2008**).

Si la réponse inflammatoire aiguë ne parvient pas à éliminer l'agent pathogène, le processus inflammatoire persiste et acquiert de nouvelles caractéristiques et un état inflammatoire chronique s'ensuit. Ce dernier peut résulter d'autres causes de lésions tissulaires telles que les réponses auto-immunes (en raison de la persistance d'auto-antigènes), ou de corps étrangers non dégradables, et elle peut conduire à la formation de granulomes, dans lesquels les intrus sont entourés de couches de macrophages, dans une dernière tentative pour protéger l'hôte (**Medzhitov, 2008**).

5. Les anti-inflammatoires

La thérapeutique anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Muster, 2005). Ces médicaments traitent des désordres inflammatoires aigus, mais n'ont pas été couronnés de succès pour guérir des désordres inflammatoires chroniques comme la polyarthrite chronique évolutive (Ait El Cadi *et al.*, 2012).

Il y a trois types d'anti-inflammatoire qui diffèrent par leurs mécanismes d'action :

5.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) : glucocorticoïdes

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) sont des analogues structuraux dérivés du cortisol qui constituent une vaste famille de médicaments (Faure, 2009), le cortisol est une hormone sécrétée par la corticosurrénale, sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Faure, 2009), il a une activité hormonale sur les régulations métaboliques (glucidique, protéique et lipidique) et il possède de nombreuses propriétés pharmacologiques (Muster, 2005).

Les corticoïdes, les glucocorticoïdes ou les AIS se caractérisent par trois propriétés imbriquées, anti-inflammatoires, antiallergiques et immunosuppressives (Bannwarth *et al.*, 2016), et ils sont utilisés depuis plusieurs dizaines d'années dans la prise en charge de nombreuses pathologies présentant une composante inflammatoire (Faure, 2009).

Les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire, leurs mécanismes d'action sont opérationnels essentiellement au niveau génomique (transcriptionnels), et sont caractérisés par l'activation (transactivation) ou l'inhibition (transrépression) de nombreux gènes cibles (Muster, 2005). Ces actions ont un effet antiprolifératif qui s'exercent dans de nombreuses cellules impliquées dans l'immunité innée (monocytes, macrophages, polynucléaires neutrophiles, mastocytes), dans l'immunité adaptative (lymphocytes) mais aussi dans d'autres cellules (fibroblastes, cellules épithéliales et endothéliales) (Muster, 2005).

L'efficacité anti-inflammatoire s'explique par l'inhibition des phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation, inhibition la synthèse et la neutralisation de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, stimulation des cytokines anti-inflammatoires, diminution de la présentation de l'antigène aux lymphocytes T, de l'expression des molécules HLA (human leukocyte antigen), de la prolifération des lymphocytes induits par l'antigène, l'inhibition de la synthèse des enzymes et des médiateurs de l'inflammation, diminution des phénomènes vasculaires de l'inflammation (Muster, 2005), réduction de la perméabilité capillaire ou la

phagocytose et blocage de la libération de sérotonine, d'histamine et de bradykinine (**Faure, 2009**). À très fortes doses, les glucocorticoïdes ont un effet lymphocytolytique permettant une inhibition de l'immunité à médiation cellulaire et une diminution de la synthèse des anticorps humoraux (**Muster, 2005**), et répriment également l'expression de molécules d'adhésion (**Faure, 2009**).

Les glucocorticoïdes ont, comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines (**Orliaguet et al., 2013**). La fixation du corticoïde sur leur récepteur pourra induire une synthèse de protéines qui inhibe la phospholipase A2 (**Faure, 2009**) et bloque la libération de l'acide arachidonique à partir des phospholipides de la membrane cellulaire (**Souaga et al., 1998**). L'acide arachidonique à l'origine de la production des prostaglandines responsables de nombreux effets biologiques comme l'inflammation (**Faure, 2009**). Les glucocorticoïdes diminuent également l'expression des cyclooxygénases (COX), en particulier de COX2, dans les cellules inflammatoires, abaissant ainsi la production des prostaglandines (**Faure, 2009**).

5.2. Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde (**Blain et al., 2000**). Ils regroupent différentes classes chimiques de synthèse de structure non stéroïdienne (**Muster, 2005**), ils forment un groupe hétérogène de molécules comportant une structure cyclique aromatique (**Derrier et Mercatello, 1997**). Ces molécules présentant différentes propriétés et activités pharmacologiques de type anti-inflammatoires, antipyrétiques, analgésiques (**Orliaguet et al., 2013**), et antiplaquettaires (**Chiolero et al., 2000**), ces propriétés donnent une efficacité thérapeutique dans de multiples indications, en particulier en rhumatologie, en gynécologie, en stomatologie-ORL, en traumatologie...etc. (**Merle et al., 2004**). Mais ils ont des effets secondaires gastro-intestinaux et rénaux (**Chiolero et al., 2000**), ils favorisent la survenue d'hémorragie (en inhibant l'agrégation plaquettaire), et ils exposent à des risques de manifestations immuno-allergiques, principalement cutanées, de gravité variable (**Souaga et al., 1998**).

Les AINS ont une action réduite par rapport à celle des AIS, ils n'agissent que sur une partie de la composante inflammatoire (**Souaga et al., 1998**), ils inhibent surtout la composante vasculaire de la réaction inflammatoire tout en exerçant une activité antipyrétique et antalgique à large spectre (**Bannwarth et al., 2016**).

Les AINS inhibent la production des prostaglandines en bloquant l'activité cyclooxygénase

de deux isoenzymes: la prostaglandine endoperoxyde H synthase-1 (aussi nommée cyclooxygénase 1, COX 1) et la prostaglandine endoperoxyde H synthase 2 ou cyclooxygénase 2 (COX 2) (**Chiolero et al., 2000**), qui va empêcher la dégradation de l'acide arachidonique (**Ulinski et Bensman, 2004**) et inhibent la stimulation de la phagocytose des polynucléaires neutrophiles apoptotiques par les macrophages et les monocytes (**Voiriot et al., 2018**). Ils agissent également sur la composante cellulaire de l'inflammation en bloquant la mobilité de cellules notamment les macrophages (**Souaga et al., 1998**), et ils répriment les fonctions des polynucléaires neutrophiles, ils inhibent l'adhérence, la dégranulation et la production de radicaux libres de l'oxygène, et inhibent le recrutement au site de l'inflammation (**Voiriot et al., 2018**).

Les AINS traditionnels ou classiques non sélectifs inhibent les deux iso formes de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) (**Orliaguet et al., 2013; Ziltener et al., 2010**), ce qui réduit effectivement la réponse inflammatoire, mais également réduit la protection gastrique et interfère avec la fonction rénale (**Ziltener et al., 2010**). Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens sélectifs de la COX 2 qui sont supposés avoir moins d'effets secondaires, ils possèdent une efficacité antalgique comparable aux anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques, mais avec l'avantage d'une moindre toxicité, notamment gastrique et n'auraient pas d'influence sur l'agrégation plaquettaire (**Orliaguet et al., 2013**).

5.3. Les anti-inflammatoires enzymatiques

Les enzymes sont des anti-inflammatoires d'efficacité modeste (**Muster, 2005**). Ils ont un mode d'action totalement différent des précédents. Ils ont une action purement protéolytique en dégradant les éléments cellulaires et circulants (**Souaga et al., 1998**).

Partie pratique

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est *Salvadora persica L.*, un arbuste originaire du Sahara Algérien. Nous avons travaillé sur les racines de cette plante, qui sont connues sous le nom du « Siwak » et qui sont commercialisées à l'état sec au niveau de la wilaya d'Ain Témouchent.

2. Préparation de l'extrait aqueux

a. Principe

La décoction convient pour l'extraction de matières végétales dures ou très dures : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique) ; elle consiste à faire immerger les plantes fraîches ou sèches dans de l'eau froide et porter à ébullition un temps plus ou moins long (**Baba Aissa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**).

b. Mode opératoire

50 g des racines de la plante, coupées en petits morceaux, sont introduites dans un erlenmeyer rodé de 500 ml, et additionnées de 300 ml d'eau distillée. Le mélange préparé est porté à une température d'ébullition ($T^{\circ} = 100^{\circ}\text{C}$) pendant 3 heures (**Fig.6**). Après refroidissement à une température ambiante, le mélange est filtré sur un papier filtre Wathman, et le filtrat obtenu a été évaporé à sec sous vide à 50°C par un évaporateur rotatif (**Fig.7**).

c. Détermination du rendement

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage de matière sèche est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse de l'extrait sec (en g)}}{\text{Masse de la matière végétal (en g)}} \times 100$$

R : rendement exprimé en pourcentage % (g/g).

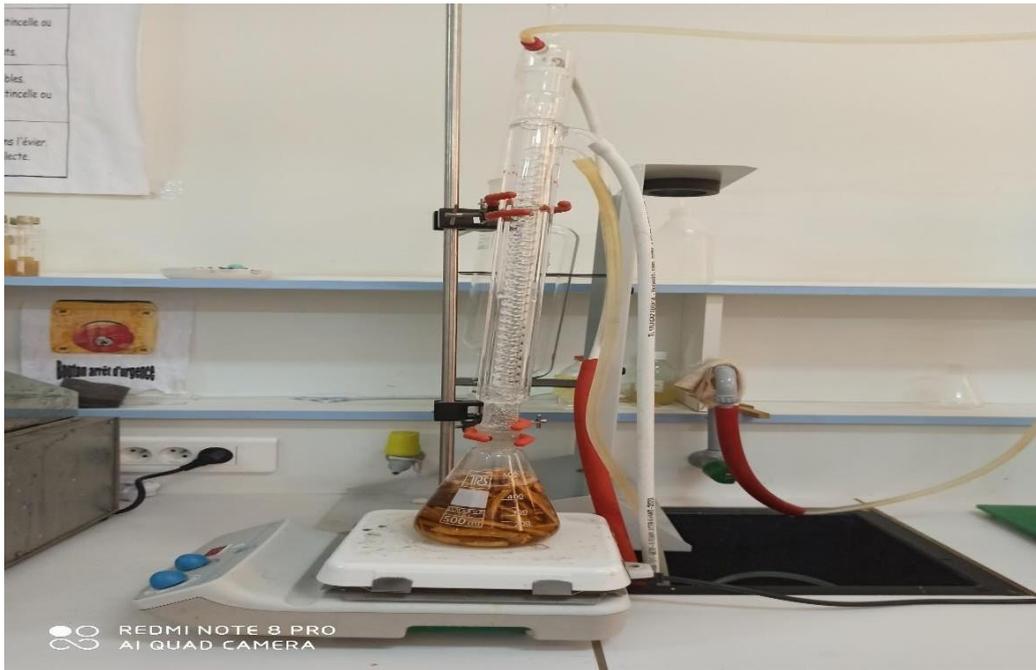


Figure n°6 : Montage à reflux utilisé pour l'extraction de l'extrait aqueux de *S. persica*.



Figure n°7 : Evaporateur rotatif utilisé pour l'évaporation à sec de l'extrait aqueux de *S. persica*.

3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

Dans le but d'évaluer quantitativement le contenu en composés phénoliques de l'extrait aqueux de *Salvadora persica L.*, nous avons procédé aux dosages des polyphénols et des flavonoïdes totaux.

3.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune, lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue (absorption maximum entre 725 et 760 nm), est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (Singleton *et al.*, 1999).

➤ Procédure

1 ml de l'extrait aqueux de *S. persica* dilué 10 fois a été mélangé avec 5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange a été maintenu à une température ambiante pendant 4 minutes puis on a ajouté 4 ml du carbonate de sodium ($NaCO_3$) à 7.5 %. Après 2 heures d'incubation à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY) à 750 nm, contre le blanc.

Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations croissantes (10, 20, 30, 40 et 50 $\mu g/ml$). Le tableau n°2 résume le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour le dosage des polyphénols totaux de l'extrait aqueux de *S. persica*.

Tableau n°2 : Mode opératoire de dosage des polyphénols totaux de l'extrait aqueux de *S. persica*.

Concentration de l'acide gallique ($\mu g/ml$)	0	10	20	30	40	50	-
Extrait aqueux ($\mu g/ml$)	-	-	-	-	-	-	5000
Volume (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Folin-Ciocalteu (ml)	5	5	5	5	5	5	5
Incubation pendant 4 min à une température ambiante							
Carbonate de sodium ($NaCO_3$) à 7.5 % (ml)	4	4	4	4	4	4	4
Incubation pendant 2 h à une température ambiante et à l'obscurité							
Mesure de la DO à 750 nm							

➤ Expression des résultats

Le taux des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de *S. persica*, exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de plante (mg EAG/ g de plante) est calculé selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a.f / C$$

a : concentration des polyphénols ($\mu\text{g/ml}$) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : la masse de la plante initiale.

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et le nitrite de sodium (NaNO_2) (**Zhishen et al., 1999**). Le principe de la méthode est basé sur la formation d'un complexe entre Al(III) , et les groupements carbonyles et hydroxyles des flavonoïdes dans un milieu alcalin, après une nitrosation antérieure des flavonoïdes par l'acide nitrique. Le complexe formé de couleur rouge absorbe dans le visible à 510 nm (**Zhishen et al., 1999**).

➤ Procédure

300 μl de l'extrait aqueux de *S. persica* dilué 10 fois ont été mélangés avec 300 μl de nitrite de sodium (NaNO_2) à 6 g/l. Le mélange a été maintenu à une température ambiante pendant 5 minutes, puis on ajoute 300 μl de trichlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 22 g/l et après 6 min de repos on ajoute 300 μl de NaOH (0.8M). Après 10 minutes d'incubation à une température ambiante l'absorbance est lue à 510 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY).

Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations croissantes (10, 20, 30, 40 et 50 $\mu\text{g/ml}$).

Le tableau n°3 résume le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour le dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux de *S. persica*.

Tableau n°3 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux de *S. persica*.

Concentration de catéchine (µg/ml)	0	100	200	300	400	500	-
Extrait aqueux (µg/ml)	-	-	-	-	-	-	5000
Volume (µl)	300	300	300	300	300	300	300
Nitrite de sodium (NaNO₂) à 6 g/l (µl)	300	300	300	300	300	300	300
Incubation pendant 5 min à une température ambiante							
Trichlorure d'aluminium (AlCl₃.6H₂O) à 22g/l (µl)	300	300	300	300	300	300	300
Incubation pendant 6 min à une température ambiante							
NaOH 0.8 M (µl)	300	300	300	300	300	300	300
Incubation pendant 10 min à une température ambiante							
Lecture de la DO à 510 nm							

➤ **Expression des résultats**

La teneur des flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux de *S. persica*, exprimé en milligramme équivalent de catéchine par gramme de plante (mg EC/ g de plante) est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a.f / C$$

a : concentration des flavonoïdes (µg/ml) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : la masse de la plante initiale.

4. Etude de l'activité biologique de l'extrait aqueux de *S. persica*.

4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

➤ Principe

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *S. persica*, est testée en utilisant sa capacité à céder des protons et/ou des électrons, selon la méthode de **Molyneux (2004)**. Lorsqu'une solution de 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]), un radical stable de couleur violet foncé, est mélangée avec une espèce antioxydante (AH), elle change de couleur du violet au jaune, suite à la réduction du DPPH[•] (**Fig.8**). L'intensité de la coloration est mesurée à 520 nm (**Molyneux, 2004**).

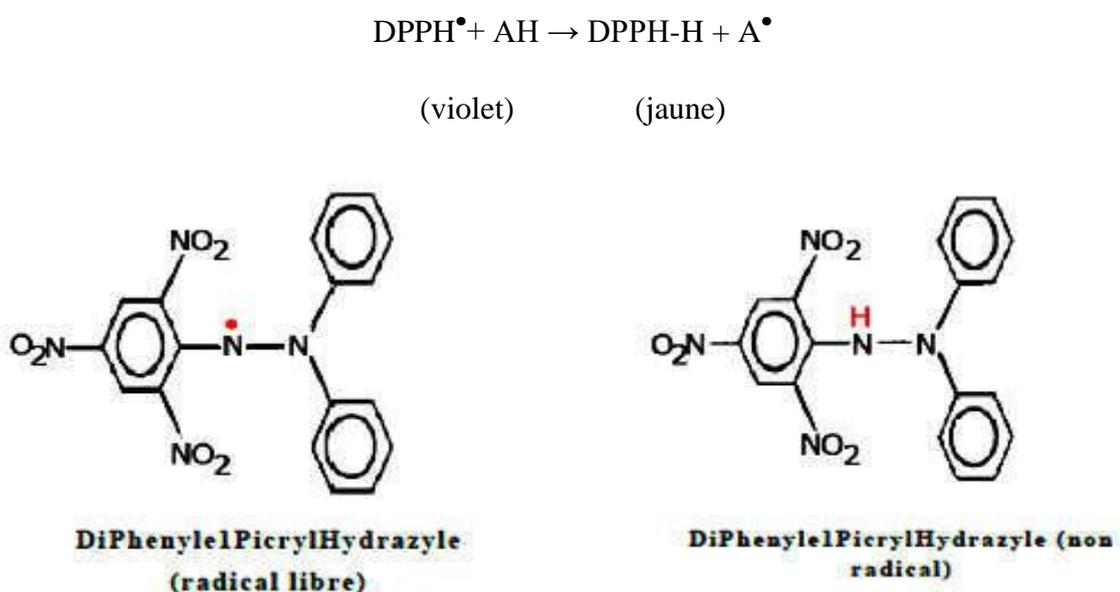


Figure n°8 : Forme libre et réduite du DPPH (**Molyneux, 2004**).

➤ Mode opératoire

2 ml de l'extrait aqueux de *S. persica* ou de l'acide ascorbique préparés à différentes concentrations, sont additionnés de 2 ml d'une solution éthanolique de DPPH à 2.5 %. Le mélange est bien agité, et laisser incuber à température ambiante pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est réalisée à 520 nm, dans un spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY). Dans ce test l'acide ascorbique est utilisé comme un antioxydant de référence.

Le tableaux n°4 résume le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour la détermination de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et de l'acide ascorbique.

Tableau n°4 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *S. Persica* et de l'acide ascorbique.

[Acide ascorbique] (µg/ml)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	-	-	-	-	-
[Extrait aqueux] (µg/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1000	2000	3000	4000	5000
Volume (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume de DPPH 2.5 % (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 30 min à la température ambiante et à l'obscurité.																
Lecture de la densité optique au spectrophotomètre à 520 nm.																

➤ Expression des résultats

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH^{*}, elle est calculée selon la formule suivante (Molyneux, 2004) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs du contrôle} - \text{Abs de l'échantillon}}{\text{Abs du contrôle}} \times 100$$

(Abs : absorbance).

La concentration Inhibitrice à 50 % (**IC50**) est définie comme la concentration qui provoque la réduction de 50% du DPPH, elle est déterminée sur les graphes tracés pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations des espèces testées (Molyneux, 2004).

4.2. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

➤ Principe

L'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux de *S. persica* est étudiée *in vitro* par l'utilisation des membranes des érythrocytes, qui représentent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires principalement les lysosomes. L'effet sur la stabilisation de la membrane érythrocytaire pourrait nous indiquer à la stabilisation de la membrane lysosomale en présence d'agent hémolytique (Shobana et Vidhya, 2016).

Deux tests ont été utilisés, un test de stabilité par la chaleur et un test d'hémolyse, en se basant sur la méthode utilisée par Shinde et ses collaborateurs (1999).

➤ **Mode opératoire**

a. Préparation de la suspension érythrocytaire

La prise du sang a été effectuée, sur un volontaire sain n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires durant les deux dernières semaines. Le sang frais a été récupéré dans un tube hépariné pour prévenir sa coagulation.

L'échantillon de sang récupéré a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant est par la suite éliminé, le culot est lavé trois fois avec du sérum physiologique (une solution saline de NaCl à 0,9 %), et reconstitué dans une solution tampon iso-saline (pH 7.4), à 40 % (v/v).

b. Test de la stabilisation membranaire par la chaleur

Deux séries de tubes ont été utilisés pour le test de la stabilisation membranaire par la chaleur, une est incubée dans un bain-marie à 54 °C et l'autre dans un bain de glace à 0-5 °C, pendant 20 min. Chaque tube contient 4.5 ml d'une solution tampon phosphate isotonique (pH 7.4), additionnée de 0.5 ml de l'extrait aqueux de *S. persica* à 500,1000 et 2500 µg/ml et de 30 µl de la suspension érythrocytaire à 40 %. Après incubation des tubes, le mélange réactionnel a été centrifugé pendant 3 min à 1300 rpm. L'absorbance (DO) des surnageants récupérés est mesurée à 540 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY).

En parallèle, l'acide salicylique (200 µg/ml) a été utilisé comme un standard de référence (contrôle positif). Le tableau n°5, résume les différentes étapes utilisées dans le test de stabilisation membranaire par la chaleur.

Tableau n°5 : Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.

Concentrations de l'extrait aqueux (µg/ ml)	-	500	1000	2500	-
Concentration de l'acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	200
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
H₂O (ml)	0.5	-	-	-	-
Volume de la solution tampon phosphate isotonique (pH 7.4) (ml)	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Volume de la suspension érythrocytaire 40 % (µl)	30	30	30	30	30
Chaque tube est préparé en deux exemplaires ; un est incubé à 54 °C dans un bain Marie et l'autre dans un bain de glace à 0-5 °C, pendant 20min.					
Centrifugation 3 min à 1300 rpm					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à 540 nm					

➤ **Calcul de pourcentage d'inhibition de l'hémolyse**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé selon l'équation suivante (**Shinde et al., 1999**) :

$$\text{Pourcentage inhibition de l'hémolyse} = \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right) \times 100$$

DO1 : Echantillon à 0 °C

DO2 : Echantillon à 54 °c.

DO1' : Contrôle négative à 0 °c.

DO2' : Contrôle négatif à 54 °c.

c. Test d'hémolyse

Deux séries de tubes ont été utilisées pour le test d'hémolyse, une est traitée par une solution tampon phosphate isotonique (pH 7.4) et l'autre par une solution tampon phosphate hypotonique (pH 7.4). Chaque tube contient 4.5 ml d'une solution tampon phosphate isotonique ou hypotonique (pH 7.4) additionnée avec 0.5 ml de l'extrait aqueux de *S. persica*

à 500,1000 et 2500 µg/ml et 30µl de la suspension érythrocytaire à 40 %. Après incubation des tubes à une température ambiante pendant 10 min, le mélange réactionnel a été centrifugé pendant 3 min à 1300 rpm. L'absorbance (DO) des surnageants récupérés est mesurée à 540 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY).

En parallèle, l'acide salicylique (200 µg/ml) a été utilisé comme un standard de référence (contrôle positif). Le tableau n°6, résume le mode opératoire utilisé dans le test d'hémolyse.

Tableau n°6 : Mode opératoire du test d'hémolyse.

Concentrations de l'extrait aqueux (µg/ml)	-	500	1000	2500	-
Concentrations de l'Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	200
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
H₂O (ml)	0.5	-	-	-	-
Chaque tube est préparé en deux séries, une est additionnée d'une solution tampon phosphate hypotonique (pH 7,4) et l'autre d'une solution tampon phosphate isotonique (pH 7.4)					
Volume de la suspension érythrocytaire 40 % (µl)	30	30	30	30	30
Incubation à la température ambiante pendant 10 min					
Centrifugation 3 min à 1300 rpm					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à 540 nm.					

➤ **Calcul du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante (**Shinde et al., 1999**) :

$$\text{Pourcentage inhibition de l'hémolyse} = \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right) \times 100$$

DO1 : Echantillon traité par la solution isotonique.

DO2 : Echantillon traité par la solution hypotonique.

DO1' : Contrôle négative traité par la solution isotonique.

DO2' : Contrôle négatif traité par la solution hypotonique.

d. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes (m) accompagnées de leur indice de dispersion qui est l'erreur standard à la moyenne (ESM) : $m \pm \text{ESM}$.

$$\text{Moyenne (m)} \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

$$\text{Ecart type } (\sigma) \quad \sigma = \sqrt{\text{variance}}$$

$$\text{Erreur standard de la moyenne (ESM)} \quad \text{ESM} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Pour comparer deux échantillons indépendants, on applique le test de Student à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

La différence entre deux moyennes est significative à $P \leq 0,05$ (*).

1. Etude phytochimique de *S. persica* L.

1.1. Extrait aqueux de *S. persica* L.

L'extrait aqueux de *S. persica*, a été obtenu par une décoction des racines durant 3 h, le rendement exprimé en pourcentage de matière sèche est de 5,43 % (g/g). Ce dernier est trouvé inférieur par rapport aux rendements obtenus à partir de la même plante de l'extrait aqueux (13,75±0,25 %), de l'extrait méthanolique (14±0,00 %) (Niboue et Lemoussekh, 2018), et de l'extrait éthanolique (6,603 %) (Swamy et Timothy, 2015).

En revanche une autre étude réalisée au niveau de l'université King Abdulaziz, d'Arabie saoudite sur la même espèce a montré des rendements plus faibles, 1,02 ± 0,054 % (g/g) pour l'extrait méthanolique (80 %), 0,62 ± 0,015 % (g/g) pour l'extrait éthanolique (80 %), 0,702 ± 0,028 % (g/g) pour l'extrait acétone (80 %) et 0,56 ± 0,008 % (g/g) pour l'extrait aqueux (Mohamed et Khan, 2013).

Les rendements des extraits obtenus à partir du même organe et de la même espèce peuvent être influencés par plusieurs facteurs comme la méthode d'extraction et les conditions appliquées tels la durée du séchage du matériel végétal, la quantité de la plante à extraire, le temps, la vitesse d'agitation, la température et la polarité du solvant (Koné *et al.*, 2017). De plus, la zone géographique ainsi que les conditions climatiques jouent un rôle très important dans la composition en métabolites secondaires de la plante (Koné *et al.*, 2017).

1.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu. À partir d'une courbe étalon d'acide gallique (Fig.9 et 10), la teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux de *S. persica* a été déterminée, et a été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de plante (mg EAG/ g plante).

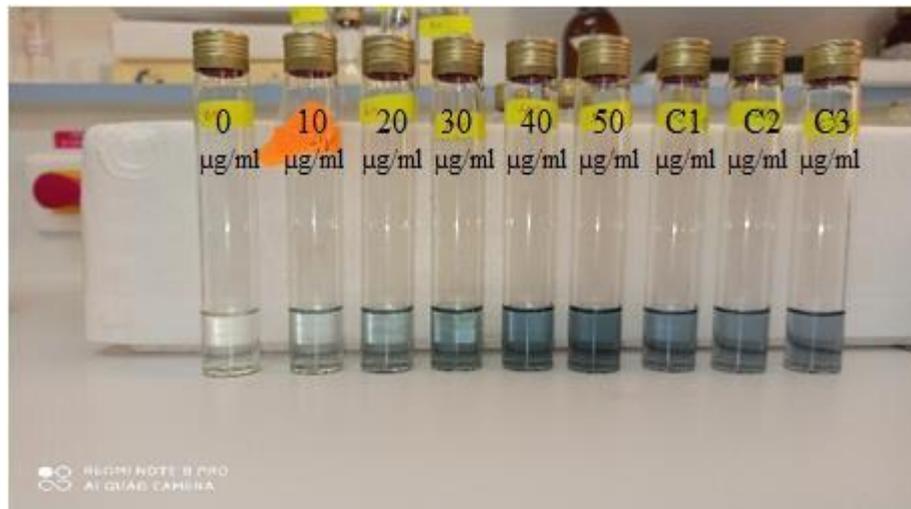


Figure n°9 : Gamme étalon d'acide gallique (0-50 $\mu\text{g/ml}$) et l'extrait aqueux en C1, C2 et C3. (Réactions en tubes).

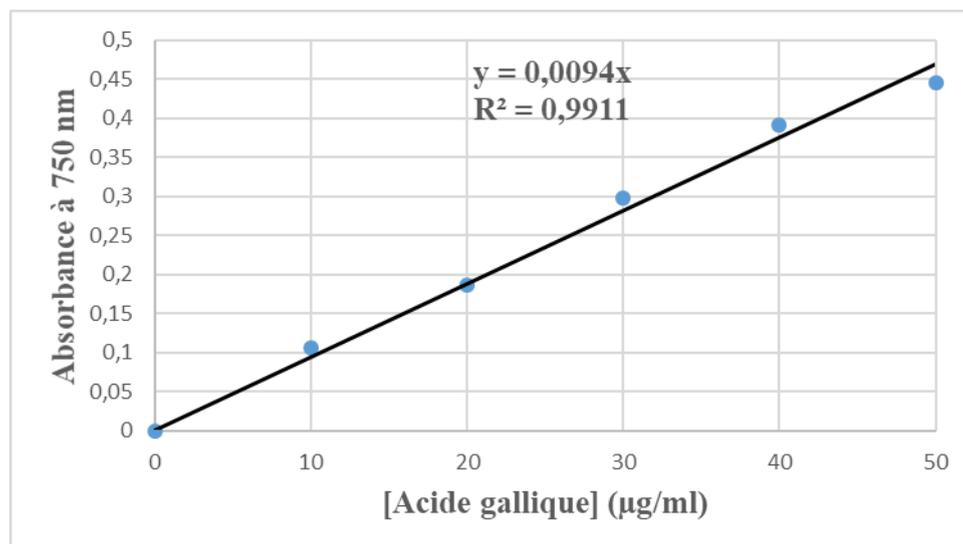


Figure n°10 : Courbe étalon de l'acide gallique ($\lambda=750$ nm).

L'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisée dans la gamme d'étalonnage avec un R^2 de 0,9911.

Le taux relatif des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux des racines de *S. persica* est de 1,395 mg équivalent d'acide gallique par gramme de plante (1,395 mg EAG/ g de plante).

Le taux des polyphénols totaux de notre échantillon est largement supérieur par rapport à celui de l'extrait aqueux (0,0004235 mg EAG/g d'extrait) et l'extrait méthanolique (0,000207mg EAG/g d'extrait) des racines de *S. persica* étudiée dans la wilaya de El OUED (Niboue et Lemoussekh, 2018). D'autre part ce taux phénolique est inférieure à celui décrit

par une étude réalisée sur les racines collectées au niveau de deux sites, le premier provenant des montagnes d'Asir (7,946 mg en équivalent D-catéchine / g de Siwak) et l'autre de la région centrale près de Riyad (5,697 mg de D-catéchine équivalente / g de Siwak) en Royaume d'Arabie saoudite (**Ibrahim et al., 2015**).

De plus, le taux des polyphénols de notre échantillon est inférieur à celui de l'extrait méthanolique des feuilles de *S. persica* en Pakistan (58.23 EAG/g de poids sec) (**M. Qasim et al., 2017**), et à celui de l'extrait brut méthanolique des fruits de *S. persica* en Inde (5,3961 mg/g) (**Kumari et al., 2017**).

La teneur en phénols totaux varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs.

Différentes études ont montré que les facteurs exogènes comme les facteurs géographiques, climatiques (**Evenamede et al., 2017; Khouchlaa et al., 2017**), environnementaux (température, la sécheresse, sol, altitude et ensoleillement), le stress biotique et abiotique (**Dallali et al., 2018**), et l'attaque microbienne (**Selma et al., 2017**) peuvent jouer un rôle important dans la formation de métabolites secondaires, y compris les acides phénoliques.

D'autre part les facteurs endogènes tels que la différenciation tissulaire, le stade de développement de la plante, la concurrence, l'état nutritionnel (**Selma et al., 2017**), les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont aussi une forte influence sur la teneur en polyphénols (**Evenamede et al., 2017; Khouchlaa et al., 2017**).

La teneur en phénols totaux peut être due à d'autres facteurs notamment le site et la période de collecte des échantillons (**Dallali et al., 2018**). La concentration la plus élevée des phénols totaux a été acquise dans les plantes récoltées en hiver, suivie par celles d'automne et d'été, ce qui suggère que l'accumulation de composés phénoliques peut être liée à l'activation des voies phénylpropanoïdes par les basses températures (**Selma et al., 2017**).

D'autres facteurs d'ordre techniques en particulier la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Dallali et al., 2018**).

Le rendement en polyphénols dépend aussi du type et de la polarité des solvants d'extraction, des caractéristiques physiques des échantillons de plantes (**Muhammad Qasim et al., 2016**), et de la polarité des composés phénolique lors de leurs extractions (**Selma et al., 2017**).

Le bon choix de solvant permet une extraction optimale des composés souhaités sans modifier leur nature chimique. Une extraction optimale des polyphénols est généralement obtenue dans des solvants polaires, comme l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétone et le chloroforme, plutôt que non polaires (Muhammad Qasim *et al.*, 2016).

1.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont des molécules qui représentent l'un des groupes les plus importants des phénols. Ces métabolites secondaires ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et du nitrite de sodium (NaNO_2), en utilisant la catéchine comme référence (Fig.11 et 12). La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme de plante (mg EC /g de plante).

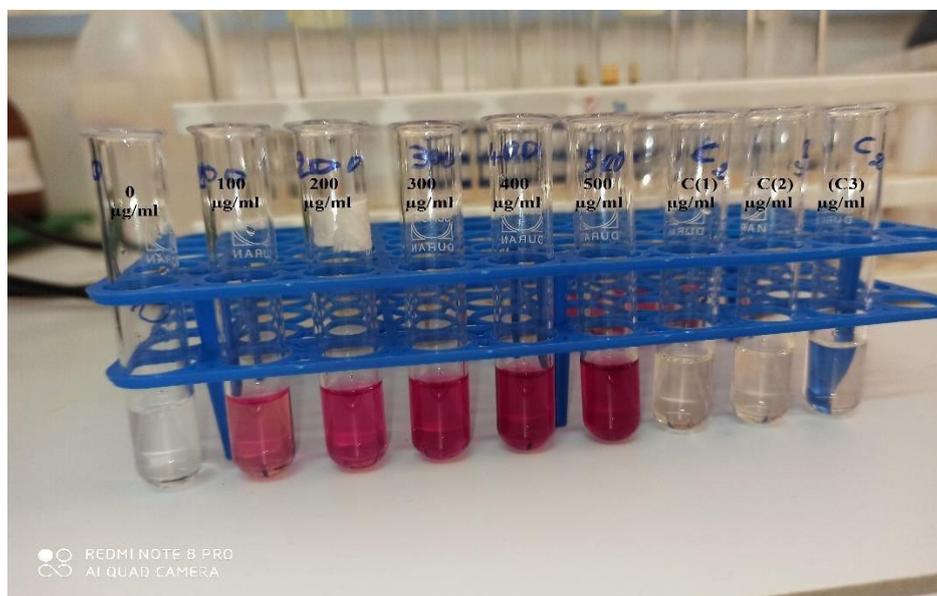


Figure n°11 : Gamme étalon de la catéchine (0-50 $\mu\text{g/ml}$) et l'extrait aqueux en C1, C2 et C3. (Réactions en tubes).

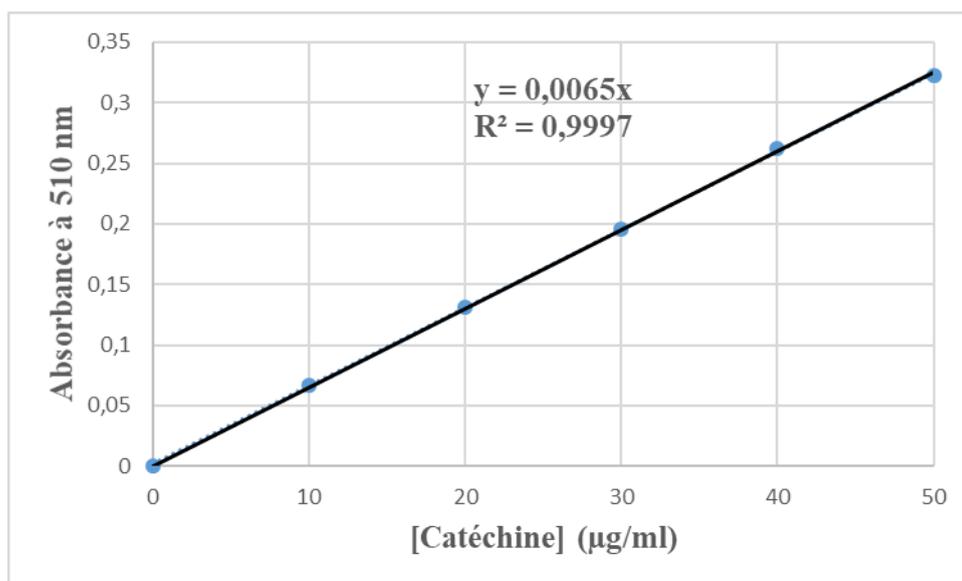


Figure n°12 : La courbe étalon de catéchine.

Le taux relatif des flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux des racines de *S. persica* obtenu à partir de la courbe étalon est de 0,174 milligramme équivalent de catéchine par gramme de plante (0,174 mg EC/ g de plante). Ce taux est largement supérieur à celui de l'extrait aqueux ($2,385 \cdot 10^{-5}$ mg EQ/g d'extrait) et de l'extrait méthanolique ($1,346 \cdot 10^{-5}$ mg EQ/ g d'extrait) des racines de *S. persica* de la wilaya de El OUED (Niboue et Lemoussekh, 2018).

Par ailleurs, (Ibrahim *et al.*, 2015) rapportent dans leur étude réalisée en Royaume d'Arabie saoudite, que les teneurs en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des racines de *S.persica* sont de l'ordre de 5,038 mg EQ / g de plante dans la région sud (des montagnes d'Asir) et de l'ordre de 3,87 mg EQ / g de plante dans la région centrale près de Riyad, ce qui est largement supérieur à la teneur en flavonoïdes de notre échantillon.

D'autre part, notre taux des flavonoïdes totaux est largement inférieur par rapport à celui trouvé dans l'extrait méthanolique des feuilles de *S.persica* en Pakistan (33.65 mg EQ/ g) (M. Qasim *et al.*, 2017), et dans l'extrait brut méthanolique des fruits de *S persica* en Inde qui était estimée à 3,1748 mg/ g (Kumari *et al.*, 2017).

La teneur en contenu des flavonoïdes totaux est influencée presque par les mêmes facteurs qui affectent la teneur en contenu phénolique total, en raison que les flavonoïdes sont une classe de composés polyphénoliques. Parmi ces facteurs on peut citer la méthode d'extraction et de quantification (Dallali *et al.*, 2018), l'organe utilisé (Evenamede *et al.*, 2017), ainsi que les facteurs climatiques et environnementaux (Dallali *et al.*, 2018).

2. Étude de l'activité biologique de l'extrait aqueux de *S. persica L.*

2.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de *S. persica* a été évalué par la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), un radical libre relativement stable. L'acide ascorbique a été utilisé comme un antioxydant de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 13 et 14.

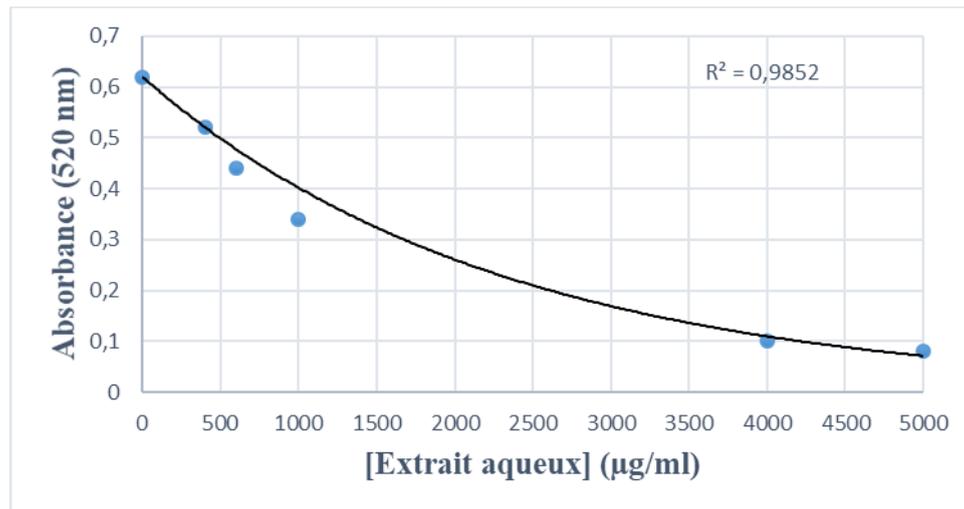


Figure n°13 : Piégeage du DPPH par l'extrait aqueux de *S. persica L.*

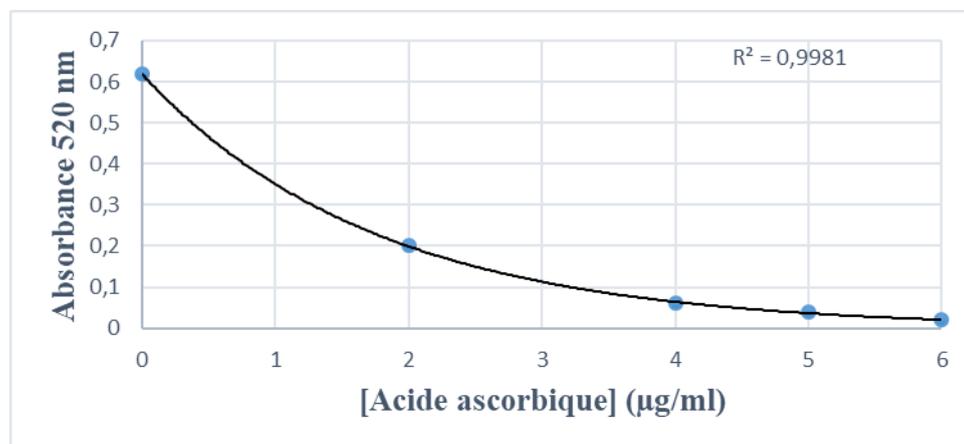


Figure n°14 : Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique.

Un paramètre qui a été introduit pour l'interprétation des résultats de la méthode du DPPH est la « concentration efficace » ou la valeur CE_{50} (autrement appelée valeur IC_{50}). Ceci est défini comme la concentration de substrat qui provoque une perte de 50 % de l'activité du DPPH. Plus la valeur de ce paramètre (IC_{50}) est faible, plus l'activité antioxydante est élevée (Molyneux, 2004).

Les résultats de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Salvadora persica L.*, et de l'acide ascorbique, exprimés en pourcentage d'inhibition ainsi que les valeurs d'IC₅₀ sont calculées, et sont présentés dans le tableau 7.

Tableau n°7 : Activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Salvadora persica L.*, exprimée en pourcentage d'inhibition et en IC₅₀.

	La concentration µg/ml	L'activité antioxydante (% d'inhibition)	IC ₅₀ (µg/ml)
Acide ascorbique	2	67,74	1,25
	4	90,32	
	5	93,54	
	6	96,77	
	10	100	
L'extrait aqueux de <i>Salvadora persica L.</i>	400	16,12	1400
	600	29,03	
	1000	45,16	
	4000	83,87	
	5000	87,09	

Les résultats obtenus illustrent l'efficacité de l'extrait aqueux de *S. persica* à piéger le radical DPPH. D'après les données du tableau n°7, l'activité anti radicalaire augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait aqueux de Siwak dans le milieu réactionnel. La concentration inhibitrice à 50% est de 1400 µg/ml, elle est largement supérieure à celle de l'antioxydant naturel (l'acide ascorbique), utilisé comme contrôle positif, qui est de 1,25 µg/ml. Cette étude montre que l'acide ascorbique (composé standard) a une activité antioxydante significative et plus puissante par rapport à celle de l'extrait aqueux des racines de *S. persica*.

L'extrait aqueux des racines de *S. persica* de notre échantillon a donné une grande concentration inhibitrice par rapport aux études faites sur l'extrait brut méthanolique de la racine de *S. persica* (IC₅₀ = 4,8 µg / ml) (Mohamed et Khan, 2013), sur l'extrait éthanolique (IC₅₀ = 235.66 ± 1.52 µg/mL), l'extrait chloroforme (IC₅₀ = 187.33 ± 0.57 µg/mL) des tiges de *S. persica*, et également sur l'extrait éthanolique (IC₅₀ = 197.00 ± 1.73 µg/mL) et l'extrait chloroforme (IC₅₀ = 181.33 ± 1.15 µg/mL) des rameaux (Brindille) de *S. persica* (Gupta et al., 2015).

Des études réalisées sur l'extrait méthanolique à 80 % ($IC_{50}=20.92 \pm 1.52 \mu\text{g/ml}$), aqueux ($IC_{50}=30.11 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$), éthanolique à 80 % ($22.35 \pm 1.76 \mu\text{g/ml}$), acétone ($IC_{50}=187.65 \pm 4.32 \mu\text{g/ml}$), et chloroforme ($IC_{50}=754.32 \pm 31.23$) des feuilles de *S. persica* en Pakistan (**Muhammad Qasim et al., 2016**), et sur l'extrait méthanol ($IC_{50}=0.30706 \pm 0.049 \mu\text{g/ml}$) des fruits de *S. persica* en Inde (**Kumari et al., 2017**), montrent également des IC_{50} moins importantes que celle calculée dans notre étude.

La faible activité antioxydante de notre échantillon par rapport aux autres études peut être dues à une réaction réversible de DPPH avec des phénols comme l'eugénol et ses dérivés, ou à cause de la vitesse de la réaction lente entre les molécules de substrat et le DPPH (**Kumari et al., 2017**). De plus la capacité antioxydante d'une même plante peut être influencée par plusieurs facteurs notamment les facteurs environnementaux (**M. Qasim et al., 2017; Sharma et Ramawat, 2013**), les conditions d'extraction (**Muhammad Qasim et al., 2016**), et la composition en différentes molécules antioxydantes qui peuvent agir en synergie (**Mohamed et Khan, 2013**).

Il est bien connu que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes (**Dallali et al., 2018; M. Qasim et al., 2017**). Ces composés phénoliques jouent un rôle important pour protéger les plantes contre les dommages oxydatifs (**Mariod et al., 2009**). Leurs structures chimiques possèdent généralement un ou plusieurs cycles phényles et groupes hydroxyles, qui sont capables de détoxifier les oxydants nocifs, en permettant la délocalisation des électrons, la neutralisation des radicaux libres ou la chélation des ions métalliques (**M. Qasim et al., 2017**). La capacité antioxydante du Siwak a également été attribuée à la présence d'enzymes antioxydantes comme la peroxydase, la catalase et la polyphénol oxydase (**Haque et Alsareii, 2015; Mohamed et Khan, 2013**).

2.2. L'activité anti-inflammatoire

Dans le présent travail, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux brut de *S. persica* est évaluée par deux procédés, la chaleur et une solution hypotonique, qui provoquent l'hémolyse des globules rouges. L'acide salicylique ($200\mu\text{g/ml}$) est utilisé comme un anti-inflammatoire standard de référence. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau n°8.

Tableau n°8 : Effet de l'extrait aqueux de *S. persica*, contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite par la chaleur et par la solution hypotonique.

Traitement	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (%)	
		Par la chaleur	Par solution hypotonique
L'extrait aqueux de <i>Salvadora persica L</i>	500	21,97 \pm 0,76	5,37 \pm 1,53*
	1000	15,66 \pm 1,82*	31,41 \pm 4,68
	2500	31,82 \pm 4,35	20,07 \pm 7,35
Acide salicylique	200	27,27 \pm 3,03	37,81 \pm 2,81

* $P \leq 0.05$. (Par rapport à l'acide salicylique).

Les résultats du test de l'activité anti-inflammatoire qui utilise l'hémolyse des globules rouge par la chaleur en présence de l'extrait aqueux des racines de *S. persica* ont montré que le plus grand pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est égal à 31,82 \pm 4,35 % à une concentration de 2500 $\mu\text{g/ml}$, et qui est légèrement supérieur à celui de l'acide salicylique utilisé dans les mêmes conditions, et qui était de 27,27 \pm 3,03 % à une concentration de 200 $\mu\text{g/ml}$. D'autre part ce pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est de 21,97 \pm 0,76 % et 15,66 \pm 1,82 % aux concentrations de 500 et 1000 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

Pour l'hémolyse des érythrocytes induite par une solution hypotonique, les pourcentages d'inhibition d'hémolyse étaient de 5,37 \pm 1,53 %, 31,41 \pm 4,68 % et 20,07 \pm 7,35 % aux concentrations 500, 1000 et 2500 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ils sont tous inférieurs par rapport à celui de l'acide salicylique (37,81 \pm 2,81 % à 200 $\mu\text{g/ml}$).

L'exposition des globules rouges à des conditions nocives telles que la chaleur et le milieu hypotonique entraîne la lyse de la membrane accompagnée d'une hémolyse et d'une oxydation de l'hémoglobine (Anosike *et al.*, 2012).

D'après ces résultats, on observe que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est proportionnellement lié à la concentration de l'extrait aqueux (dose dépendant). Mais dans le cas de l'hémolyse provoquée par la solution hypotonique, une lyse membranaire est observée à des concentrations élevées, cela peut être expliqué par un effet biphasique (Seeman et Weinstein, 1966).

On a démontré dans cette expérience que l'extrait aqueux inhibe l'hémolyse des érythrocytes induite par la chaleur et l'hypotonicité. Cela indique qu'il possède des propriétés de stabilisation biologique de la membrane empêchant la destruction induite par le stress de la membrane plasmique.

La sélection de l'érythrocyte comme modèle d'étude du mécanisme de stabilisation membranaire est à cause de leurs constituants membranaires, qui sont similaires aux composants de la membrane lysosomale (**Anosike et al., 2012**). L'effet des médicaments ou des extraits sur la stabilisation des membranes des globules rouges peut être extrapolé à la stabilisation des membranes lysosomales (**Omale et Okafor, 2008**). La stabilisation de ces dernières est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux (tels que les enzymes bactéricides et les protéases) des neutrophiles activés (**Manukumar et Umesha, 2015**).

Les plantes sont connues pour contenir des composés naturels qui peuvent stabiliser la membrane des globules rouges et d'exercer une activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire (**Oyedapo et Famurewa, 1995**). Diverses études phytochimiques sur *S. persica* ont signalé la présence de flavonoïdes qui sont responsables de l'activité antimicrobienne, antiallergique, antioxydante, anti-inflammatoire et antiproliférative (**Ramadan et al., 2016**). Des rapports antérieurs ont aussi confirmé que les flavonoïdes et autres composés phénoliques sont dotés de propriétés de stabilisation membranaire (**Islam et al., 2015**). D'autres composés bioactifs tels que les alcools, les acides gras, les stéroïdes et les vitamines liposolubles contribuent également à la protection et la stabilisation de la membrane érythrocytaire (**Seeman et Weinstein, 1966**).

Plusieurs mécanismes d'action peuvent expliquer l'effet anti-hémolytique des extraits des plantes.

Les flavonoïdes et autres composés phénoliques agiraient comme des pièges efficaces des radicaux libres, tels que les peroxydes lipidiques et les superoxydes, qui sont responsables de la déstabilisation de la membrane cellulaire (**Ranasinghe et al., 2012**). Leurs activités anti-inflammatoires sont probablement dues à leur effet inhibiteur sur les enzymes impliquées dans la production des médiateurs chimiques de l'inflammation et du métabolisme de l'acide arachidonique (**Anosike et al., 2012**). Ces composés assurent aussi la prévention de la libération de phospholipases et l'inhibition de l'activité de la prostaglandine cyclooxygénase qui déclenchent la formation de médiateurs inflammatoires (**Islam et al., 2015**).

L'effet cytoprotecteur sur la membrane érythrocytaire peut être dû également à la capacité de l'extrait d'essai de modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes, qui est responsable de la déformabilité et le volume cellulaire des érythrocytes (**Chopade *et al.*, 2012**), et à la capacité de l'extrait à réduire la dénaturation thermique des protéines, qui est peut-être un facteur contribuant à son activité anti-inflammatoire (**Chopade *et al.*, 2012**).

*Conclusion et
perspectives*

- **CONCLUSION**

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. La découverte des ressources naturelles du règne végétal reste encore nécessaire pour développer de nouveaux remèdes thérapeutiques. En fait, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques de substances et de composés naturels bioactifs.

Salvadora persica L., est une plante à effet thérapeutique de la racine à la tige, des feuilles aux fleurs, prometteuse pour ses activités biologiques, qui lui confèrent toutes les propriétés pharmacologiques.

Notre étude a pour objectif d'obtenir l'extrait aqueux des racines de *S. persica* et l'étude quantitative de leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes, et l'évaluation de leur activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*.

Les racines de cette plante ont été soumises à une extraction par décoction pour obtenir l'extrait brut aqueux. L'extraction a fourni un rendement important de l'ordre de 5,43 % (g/g). Les résultats obtenus pour l'analyse quantitative confirment que cette espèce est relativement riche en composés phénoliques (1,395 mg EAG/ g de plante) et en flavonoïdes (0,174 mg EC/ g de plante).

D'autre part, l'étude du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des racines de *S. persica* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré une activité antioxydante lente, avec une IC50 de l'ordre de 1400 µg/ml.

Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire de *S. persica* a été évaluée par une étude *in vitro* par deux procédés, la chaleur et une solution hypotonique, qui provoquent l'hémolyse des globules rouges. Les résultats de notre travail ont révélé que l'extrait aqueux de *S. persica* possède une activité anti-inflammatoire importante.

Le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire de notre échantillon est probablement dû à l'association de plusieurs composés bioactifs notamment les polyphénols et les flavonoïdes, la plante pourrait représenter une nouvelle source potentielle des molécules bioactives.

- **PERSPECTIVES**

Dans les perspectives souhaitées, il serait nécessaire d'utiliser d'autres techniques d'extraction, en utilisant différents solvants (méthanol, éthanol, acétone ...etc.) afin d'optimiser le rendement ainsi que la teneur en composés bioactives naturelles.

Il serait intéressant de réaliser des études complémentaires d'une manière plus approfondie concernant les principaux composés biologiquement actifs contenus dans les extraits de *S. persica*, en particulier les composés polyphénoliques et flavonoïdes par l'utilisation de méthodes plus performantes comme les techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et GC-MS ou d'autres techniques pour l'élucidation structurale.

Il est intéressant aussi de réaliser d'autres études par d'autres procédures pour évaluer le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire et même les autres propriétés *in vitro* et *in vivo*.

Enfin, une étude technique et économique de faisabilité doit être envisagée en vue de suivre les possibilités de mettre sur le marché national et international des bains de bouche et des dentifrices à base d'extraits des racines de *S. persica* pour l'hygiène bucco-dentaire.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de *S. persica* comme plante médicinale traditionnelle très largement utilisée par les populations musulmanes et arabes.

*Références
bibliographique*

• **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE**

- Afonso, P. V., & Parent, C. A. (2013). Le leucotriène B₄—Un lipide au cœur de l'inflammation. *médecine/sciences*, 29(12), 1083-1085. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132912007>
- Ahmad, H., & Rajagopal, K. (2014). *Salvadora persica* L. (Meswak) in dental hygiene. *The Saudi Journal for Dental Research*, 5(2), 130-134. <https://doi.org/10.1016/j.sjdr.2014.02.002>
- Ait El Cadi, M., Makram, S., Ansar, M., Khabbal, Y., Alaoui, K., Faouzi, M. A., Cherrah, Y., & Taoufik, J. (2012). Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 70(2), 113-116. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2011.11.004>
- Alali, F., & Al-Lafi, T. (2003). GC-MS Analysis and Bioactivity Testing of the Volatile Oil from the Leaves of the Toothbrush Tree *Salvadora persica* L. *Natural Product Research*, 17(3), 189-194. <https://doi.org/10.1080/1057563021000040790>
- Ali, H., König, G. M., Khalid, S. A., Wright, A. D., & Kaminsky, R. (2002). Evaluation of selected Sudanese medicinal plants for their *in vitro* activity against hemoflagellates, selected bacteria, HIV-1-RT and tyrosine kinase inhibitory, and for cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(3), 219-228. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00245-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00245-3)
- Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 76.
- Aumeeruddy, M. Z., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2018). A review of the traditional and modern uses of *Salvadora persica* L. (Miswak): Toothbrush tree of Prophet Muhammad. *Journal of Ethnopharmacology*, 213, 409-444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.030>
- Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Édas, librairie moderne*.
- Bannwarth, B., Truchetet, M.-E., & Kostine, M. (2016). Tube digestif et traitements anti-inflammatoires (AINS, corticoïdes). *Revue du Rhumatisme Monographies*, 83(4), 245-248. <https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2016.03.007>
- Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : État des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(1), 48-53.

- <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2005.12.005>
- Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P., & Jeandel, C. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *La revue de médecine interne*, 21(11), 978–988.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839-851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3)
- Bouzid, A., Chadli, R., & Bouzid, K. (2017). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 15(6), 373–378.
- Chaurasia, A., Patil, R., & Nagar, A. (2013). Miswak in oral cavity – An update. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 3(2), 98-101. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2012.09.004>
- Chiolero, A., Würzner, G., & Burnier, M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: Moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques? *Néphrologie*, 21(8), 425–430.
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3>
- Chopade, A. R., Somade, P. M., & Sayyad, F. J. (2012). Membrane stabilizing activity and protein denaturation: A possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Phyllanthus amarus*. *J Krishna Inst Med Sci Univ*, 1, 67–72.
- Cynober, L. (2000). Médiateurs de l'inflammation: Contrôle par les nutriments azotés. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 14(3), 194-200. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(00\)80022-9](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(00)80022-9)
- Dallali, S., Aloui, F., Selmi, H., & Sebei, H. (2018). Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghouan (Tunisia). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRIS* (21), 3429–3438.
- Delarue, J. (2001). Acides gras polyinsaturés et inflammation. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 15(3), 172-176. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(01\)00074-7](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(01)00074-7)
- Derrier, M., & Mercatello, A. (1997). Place des anti-inflammatoires non stéroïdiens en période périopératoire. Intérêt et limites. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*, 16(5), 498–520.
- Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J. (2011).

- Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37, 2496–2507.
- Dupuy, A. M., Terrier, N., Sénécal, L., Morena, M., Leray, H., Canaud, B., & Cristol, J. P. (2003). La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation? *Néphrologie*, 24(7), 337–342.
- Dutta, S., & Shaikh, A. (2012). *The Active Chemical Constituent And Biological Activity of Salvadora persica (Miswak)*. 14.
- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0268-9>
- Eguchi, R., Ono, N., Horai, H., Amin, M. A.-U., Hirai, A. M., Kawahara, J., Kasahara, S., Endo, T., & Kanaya, S. (2017). [Dedicated to Prof. T. Okada and Prof. T. Nishioka : Data science in chemistry]Classification of Alkaloid Compounds Based on Subring Skeleton (SRS) Profiling: On Finding Relationship of Compounds with Metabolic Pathways. *Journal of Computer Aided Chemistry*, 18, 58-75. <https://doi.org/10.2751/jcac.18.58>
- Engler, R. (1996). Concept moderne de la réponse systémique de la phase aiguë de l'inflammation. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 36(8), 903-913. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(96\)80111-0](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(96)80111-0)
- Evenamede, K. S., Kpegba, K., Simalou, O., Boyode, P., Agbonon, A., & Gbeassor, M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(6), 2924–2935.
- Fablet, C., & Madec, F. (2009). Proteines de la phase aigue de l'inflammation chez le porc : Interet en sante animale et en sante publique veterinaire. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160(1), 28.
- Farag, M. A., Fahmy, S., Choucry, M. A., Wahdan, M. O., & Elsebai, M. F. (2017). Metabolites profiling reveals for antimicrobial compositional differences and action mechanism in the toothbrushing stick “miswak” *Salvadora persica*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 133, 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.11.018>
- Faure, S. (2009). Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 48(487), 51-56. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(09\)70493-8](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(09)70493-8)
- Galletti, G. C., Chiavari, G., & Kahie, Y. D. (1993). Pyrolysis/gas chromatography/ion-trap mass spectrometry of the ‘tooth brush’ tree (*Salvadora persica L.*). *Rapid*

- Communications in Mass Spectrometry*, 7(7), 651-655.
<https://doi.org/10.1002/rcm.1290070719>
- Gilroy, D., & Lawrence, T. (2008). The resolution of acute inflammation : A ‘tipping point’ in the development of chronic inflammatory diseases. In A. G. Rossi & D. A. Sawatzky (Éds.), *The Resolution of Inflammation* (p. 1-18). Birkhäuser.
https://doi.org/10.1007/978-3-7643-7506-5_1
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(97\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(97)80058-1)
- Gupta, A., Verma, S., Kushwaha, P., Srivastava, S., & Rawat, A. (2015). Phytochemical and antioxidant studies of *Salvadora persica* L. stem and twig. *Indian J Pharm Educ Res*, 49(1), 71–5.
- Halliwell, B. (1996). Commentary : Vitamin C: Antioxidant or Pro-Oxidant *In Vivo*? *Free Radical Research*, 25(5), 439-454. <https://doi.org/10.3109/10715769609149066>
- Haque, M. M., & Alsareii, S. A. (2015). A review of the therapeutic effects of using miswak (*Salvadora Persica*) on oral health. *Saudi Medical Journal*, 36(5), 530-543. <https://doi.org/10.15537/smj.2015.5.10785>
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Heymann, D. L. (2008). Control of communicable diseases manual. *Control of Communicable Diseases Manual.*, Ed.19. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103167361>
- Hugon, J., Hugon, F., Esclaire, F., Lesort, M., & Diop, A. G. (1996). The presence of calbindin in rat cortical neurons protects *in vitro* from oxydative stress. *Brain Research*, 707(2), 288-292. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01393-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01393-8)
- Humblet, M.-F., & Godeau, J.-M. (2005). L’haptoglobine, marqueur protéique de l’inflammation aiguë, dans l’espèce bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 149(1). <https://orbi.uliege.be/handle/2268/7561>
- Ibrahim, M. M., Sahli, A. A. A. A., Alaraidh, I. A., Al-Homaidan, A. A., Mostafa, E. M., & El-Gaaly, G. A. (2015). Assessment of antioxidant activities in roots of Miswak (*Salvadora persica*) plants grown at two different locations in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 168–175.
- Ishrak Khafagi, I. K., . A. Z., . A. D., & . K. E.-Z. (2006). A Voyage in the World of Plants as

- Mentioned in the Holy Quran. *International Journal of Botany*, 2(3), 242-251. <https://doi.org/10.3923/ijb.2006.242.251>
- Islam, T., Das, A., Shill, K. B., Karmakar, P., Islam, S., & Sattar, M. M. (2015). Evaluation of membrane stabilizing, anthelmintic, antioxidant activity with phytochemical screening of methanolic extract of *Neolamarckia cadamba* fruits. *J Med Plants Res*, 9(5), 151–8.
- Jauniaux, E., & Burton, G. J. (2016). Le rôle du stress oxydant dans les pathologies placentaires de la grossesse. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 45(8), 775-785. <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2016.02.012>
- Khan Marwa, S., Ajab Khan, M., Aslam Khan, M., -ur-Rehman, F., Ahmad, M., Zafar, M., & Sultana, S. (2009). *Salvadora persica*, *Tamarix aphylla* and *Zizyphus mauritiana*- Three Woody Plant Species Mentioned in Holy Quran and Ahadith and Their Ethnobotanical Uses in North Western Part (D.I. Khan) of Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 542-547. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.542.547>
- Khatak, M., Khatak, S., Siddqui, A. A., Vasudeva, N., Aggarwal, A., & Aggarwal, P. (2010). *Salvadora persica*. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 209-214. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70920>
- Khouchlaa, A., Talbaoui, A., El Idrissi, A. E. Y., Bouyahya, A., Lahsen, S. A., Kahouadji, A., & Tijane, M. (2017). Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique *in vitro* sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 1–6.
- Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* linn (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44, 15–22.
- Kraft, K., & Hobbs, C. (2004). *Pocket guide to herbal medicine*. Georg Thieme Verlag.
- Kumari, A., Parida, A. K., Rangani, J., & Panda, A. (2017). Antioxidant activities, metabolic profiling, proximate analysis, mineral nutrient composition of *Salvadora persica* fruit unravel a potential functional food and a natural source of pharmaceuticals. *Frontiers in pharmacology*, 8, 61.
- Lioté, F. (2011). Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du Rhumatisme*, 78, S122-S128. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(11\)70024-2](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(11)70024-2)
- Livingstone, D. R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire*, 154(6), 427–430.
- Löe, H. (2000). Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. *International*

- Dental Journal*, 50(3), 129-139. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2000.tb00553.x>
- Manoj, G., D. Sasmal, & B.P. Nagori. (2011). *Salvadora persica (Meswak) : Chewing Stick for Complete Oral Care - SciAlert Responsive Version*. <https://doi.org/10.3923/ijp.2011.440.445>
- Manukumar, H. M. G., & Umesha, S. (2015). Assessment of membrane stabilizing activity from honey. An *in-vitro* approach. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(1), 85–90.
- Mariod, A. A., Matthäus, B., & Hussein, I. H. (2009). Chemical characterization of the seed and antioxidant activity of various parts of *Salvadora persica*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 857–865.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Mehdi, Q. (2010). *Salvadora persica or Peelo tree* [Photo]. <https://www.flickr.com/photos/sqmehdi/6890516323/>
- Merle, V., Thiéfin, G., & Czernichow, P. (2004). Épidémiologie des complications gastro-duodénales associées aux anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 28, 27–36.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405–412.
- Mohamed, S. A., & Khan, J. A. (2013). Antioxidant capacity of chewing stick miswak *Salvadora persica*. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 40.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol*, 26(2), 211–219.
- Morreel, K., Goeminne, G., Storme, V., Sterck, L., Ralph, J., Coppieters, W., Breyne, P., Steenackers, M., Georges, M., Messens, E., & Boerjan, W. (2006). Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus* : A case study. *The Plant Journal*, 47(2), 224-237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02786.x>
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC - Stomatologie*, 1(1), 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.emcsto.2005.01.005>
- N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).
- Niboue, C., & Lemoussekh, S. (2018). Effet biologique et étude chimique d'une plante médicinale du Sahra central *Salvadora persica*.

- Omale, J., & Okafor, P. N. (2008). Comparative antioxidant capacity, membrane stabilization, polyphenol composition and cytotoxicity of the leaf and stem of *Cissus multistriata*. *African Journal of Biotechnology*, 7(17).
- Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F. (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, 17(5), 228-237. <https://doi.org/10.1016/j.pratan.2013.08.002>
- Oyedapo, O. O., & Famurewa, A. J. (1995). Antiprotease and membrane stabilizing activities of extracts of *Fagara zanthoxyloides*, *Olax subscorpioides* and *Tetrapleura tetraptera*. *International journal of Pharmacognosy*, 33(1), 65–69.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233-239. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8)
- PubChem. (s. d.-a). *3-Methoxybenzoic acid*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11461>
- PubChem. (s. d.-b). *Ascorbic acid*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067>
- PubChem. (s. d.-c). *Benzyl glucosinolate*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/21600402>
- PubChem. (s. d.-d). *Benzyl isothiocyanate*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2346>
- PubChem. (s. d.-e). *Benzylamine*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7504>
- PubChem. (s. d.-f). *Beta-Sitosterol*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/222284>
- PubChem. (s. d.-g). *D-Allose*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/439507>
- PubChem. (s. d.-h). *D-Fructofuranose*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/439163>
- PubChem. (s. d.-i). *D-Lyxose*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/439240>
- PubChem. (s. d.-j). *Fluorine*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24524>
- PubChem. (s. d.-k). *Gallotannic acid*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16133892>

- PubChem. (s. d.-l). *L-Alanine*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5950>
- PubChem. (s. d.-m). *Reserpine*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5770>
- PubChem. (s. d.-n). *Salicylic acid*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/338>
- PubChem. (s. d.-o). *Sodium bicarbonate*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/516892>
- PubChem. (s. d.-p). *Trimethylamine*. Consulté 5 avril 2020, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1146>
- Qasim, M., Abideen, Z., Adnan, M. Y., Gulzar, S., Gul, B., Rasheed, M., & Khan, M. A. (2017). Antioxidant properties, phenolic composition, bioactive compounds and nutritive value of medicinal halophytes commonly used as herbal teas. *South African Journal of Botany*, 110, 240–250.
- Qasim, Muhammad, Aziz, I., Rasheed, M., Gul, B., & Khan, M. A. (2016). Effect of extraction solvents on polyphenols and antioxidant activity of medicinal halophytes. *Pak J Bot*, 48(2), 621–627.
- Ramadan, K. S., Farid, H. E., & Almarashi, R. M. (2016). Antidepressant-like effects of aqueous extract of *Salvadora persica* in rat model of depression. *Journal of Diabetes and Metabolism*, 7(8), 697.
- Ranasinghe, P., Ranasinghe, P., Abeysekera, W. K. M., Premakumara, G. S., Perera, Y. S., Gurugama, P., & Gunatilake, S. B. (2012). *In vitro* erythrocyte membrane stabilization properties of *Carica papaya L.* leaf extracts. *Pharmacognosy research*, 4(4), 196.
- Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92(2), 235-254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004>
- Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424. <https://doi.org/10.1051/ocl.2004.0419>
- Rookhraj Paudhshala Peelu Live Plant, *Salvadora persica* : Amazon.in : Garden & Outdoors. (s. d.). Consulté 4 avril 2020, à l'adresse <https://www.amazon.in/ROOKHRAJ-PAUDHSHALA-Peelu-Salvadora-persica/dp/B07R69YJC1>
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31, 133.
- Salier, J. P., Rouet, P., Banine, F., & Claeysens, S. (1997). Transcription des gènes de

- protéines plasmatiques dans le foie au cours de l'inflammation aigüe systémique. *M/S. Médecine sciences [revue papier, ISSN : 0767-0974], 1997, Vol. 13, N° 3; p.335-44.*
<https://doi.org/10.4267/10608/369>
- Schwingshackl, L., Missbach, B., König, J., & Hoffmann, G. (2015). Adherence to a Mediterranean diet and risk of diabetes : A systematic review and meta-analysis. *Public health nutrition, 18*(7), 1292–1299.
- Seeman, P., & Weinstein, J. (1966). I. Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines. *Biochemical Pharmacology, 15*(11), 1737–1752.
- Selma, D., Salem, D. A. E., Malek, B. A. E., & Ahmed, S. (2017). VARIATION PHÉNOLOGIQUE DU CONTENU PHYTOCHIMIQUE ET DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DE *CYTISUS TRIFLORUS L'HER.* 13.
- Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie, 49*(9), 689-695. [https://doi.org/10.1016/S0369-8114\(01\)00244-9](https://doi.org/10.1016/S0369-8114(01)00244-9)
- Sharma, V., & Ramawat, K. G. (2013). Salinity-induced modulation of growth and antioxidant activity in the callus cultures of miswak (*Salvadora persica*). *3 Biotech, 3*(1), 11–17.
- Shinde, U. A., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., & Saraf, M. N. (1999). Membrane stabilizing activity—A possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia, 70*(3), 251–257.
- Shobana, S., & Vidhya, R. (2016). Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of *Abutilon indicum* (linn.). *World J Pharm Pharm Sci, 5*(5), 1182–96.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, p. 152–178). Elsevier.
- Souaga, K., Adou, A., Amantchi, D., & Angoh, Y. (1998). Plaidoyer pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires en odonto-stomatologie. *Odontostomatol Trop, 21*, 16–21.
- Sudhir, R. V., Husam Sherif, Ahmed Serafi, Salim Abu Fanas, Vijay Desai, & Eiyas Abuhijleh. (2018). The Antiplaque Efficacy of Two Herbal-Based Toothpastes : A *Clinical Intervention*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5853038/>
- Swamy, T. A., & Timothy, L. T. (2015). Phytochemical and antibacterial evaluation of ethanolic extract of *Salvadora persica* root extract against selected microorganisms. <https://doi.org/10.21746/ijbio.2015.12.0017>
- Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice.

- Science & Sports*, 10(1), 1-13. [https://doi.org/10.1016/0765-1597\(96\)89350-6](https://doi.org/10.1016/0765-1597(96)89350-6)
- Tiwari, V., Singh, A., & Tiwari, A. (s. d.). *Phytopharmacological Overview on Controversial Drug : Murva*. 2, 53.
- Ulinski, T., & Bensman, A. (2004). Complications rénales des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Archives de pédiatrie*, 11(7), 885–888.
- Voiriot, G., Chalumeau, M., Messika, J., Basille, D., Philippe, B., Ricard, J.-D., Andrejak, C., Jounieaux, V., Sanchez, O., & Fartoukh, M. (2018). Risques associés à la prise d’anti-inflammatoires non stéroïdiens au cours de la pneumonie. *Revue des Maladies Respiratoires*, 35(4), 430–440.
- WHO. (1987). *Prevention of oral diseases*.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555–559.
- Ziltener, J.-L., Leal, S., & Fournier, P.-E. (2010). Non-steroidal anti-inflammatory drugs for athletes : An update. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, 53(4), 278–288.