



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS



Département d'Agronomie
Laboratoire des Produits Naturels « LAPRONA »
Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Nutrition et Diététique

Présenté par :

GHALMI Mohammed et BERKANI Yamna Nour El Houda

Thème :

**Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* de
l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum***

Soutenu le 30/06/2025, devant le jury composé de :

Présidente : M_{me} SOUALEM-MAMI Zoubida MCA Université de Tlemcen **Examinatrice**

:M_{me} BENAMAR-DIB Hanane MCA Université de Tlemcen

Encadrante : M_{me} BEKKARA-SELADJI Meryem MCA Université de Tlemcen

Année universitaire : 2024/2025

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre plus sincère gratitude à notre directrice de mémoire, Madame **SELADJI-BEKKARA Meryem**, pour son accompagnement attentif, sa disponibilité et la confiance qu'elle nous a accordé tout au long de ce travail. Ses conseils avisés, son expertise et sa rigueur scientifique ont grandement contribué à l'aboutissement de ce de ce mémoire.

Nous remercions également Madame **SOUALEM-MAMI Zoubida**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de soutenance, ainsi que Madame **DIB-BENAMAR Hanane**, pour son regard constructif et ses remarques pertinentes, qui ont enrichi ce travail.

Notre reconnaissance s'étend à l'ensemble de l'équipe du **Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)** pour leur accueil et les moyens mis à notre disposition. Nous tenons à remercier tout particulièrement Madame **AMICHE Fatima**, ingénieure du laboratoire, pour son soutien technique et sa disponibilité constante.

On n'oublie pas les **doctorants Bouklikha Selma, Diche Asma, et les étudiants du laboratoire Benyamina Loubna, Krim Fatima Zohra, BOUADJELA Zahra** dont la collaboration, les conseils et l'entraide ont été précieux durant les différentes étapes de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien sans faille tout au long de mon parcours.

À mes oncles et ma tante Khadija pour leur présence rassurante et leurs encouragements dans les moments de doute.

À mes enseignants et encadrants, pour leur bienveillance, leur rigueur et leurs conseils précieux qui ont guidé mes pas.

À mes amies proches Sara, Ferial, Rania qui ont su m'apporter écoute, motivation et sourires, même dans les périodes les plus intenses.

Et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

-Nor El -Houda-

Dédicace

Je souhaite dédier ce travail à mes parents pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien tout au long de mon parcours.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers mon frère à Paris et toute ma famille pour leur présence rassurante et leurs encouragements constants.

Mes remerciements vont également à mes enseignants et encadrants pour leur bienveillance, leur rigueur et leurs conseils précieux qui ont orienté mes actions.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers mes amis proches Hamza, Housseem et Sid Ahmed pour leur écoute, leur motivation et leurs sourires durant les périodes les plus difficiles.

Enfin, je souhaite remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

-Mohammed-

Résumé

Devant les effets indésirables parfois sévères associés aux anti-inflammatoires conventionnels, l'exploration de solutions thérapeutiques d'origine végétale suscite un intérêt croissant. C'est dans cette perspective qu'*Echium confusum*, appartenant à la famille des Boraginaceae, a été retenu pour une investigation approfondie de ses propriétés pharmacologiques. Cette étude vise à évaluer, à travers une double approche *in vitro* et *in vivo*, l'activité anti-inflammatoire et anti-œdémateuse de l'extrait terpénique des racines de cette plante, en s'appuyant sur des analyses biochimiques rigoureuses et des modèles expérimentaux validés.

Des dosages spectrophotométriques ont été réalisés sur les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et terpénoïdes) contenus dans l'extrait hydro-acéto-méthanolique des racines et de la partie aérienne d'*Echium confusum*. Les résultats ont mis en évidence une richesse notable en composés phénoliques dans les racines, avec des concentrations importantes en polyphénols (29,19 mg EAG/g MS), flavonoïdes (85,21 mg EC/g MS), tanins condensés (0,055 mg EC/g MS) et terpénoïdes (59,333 mg EL/g MS). La partie aérienne présentait également des teneurs élevées en polyphénols (30 mg EAG/g MS) et en flavonoïdes (87,84 mg EC/g MS), mais des quantités plus faibles de tanins condensés et de terpénoïdes.

Par ailleurs, le test de cytotoxicité a révélé un effet inhibiteur maximal de l'hémolyse avec l'extrait phénolique des racines, 68% d'inhibition à une concentration de 0,0156 mg/ml, avec un effet minimal de 1,71% à une concentration faible de 0,25mg/ml.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été conduite *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines, Selon les données recueillies et présentées dans le tableau 6, il est observé que l'IC50 de l'extrait de l' *E. confusum* est de 0,72 mg/ml, ce qui est significativement plus élevé que celui du Diclofénac qui est de 0,10 mg/ml. Il peut être conclu que l'extrait terpénique utilisé présente une faible activité anti-inflammatoire par rapport au Diclofénac

Puis *in vivo* à l'aide du modèle d'œdème plantaire induit par la carraghénane chez les rats Wistar. Les résultats *in vivo* ont confirmé l'efficacité anti-inflammatoire des terpénoïdes extraits des racines, avec une réduction de 37,20 % du volume des pattes œdémateuses à une dose de 100 mg/kg.

En conclusion, les résultats de cette étude mettent en évidence l'effet anti-inflammatoire notable des racines d'*Echium confusum*, principalement lié à la présence de terpénoïdes, des composés naturels identifiés parmi ses métabolites secondaires. Ces résultats confirment l'intérêt des plantes médicinales comme alternative prometteuse aux traitements classiques pour soulager les maladies inflammatoires.

Mots clés : *Echium confusum*, Terpénoïdes, Anti-inflammatoire, Rats Wistar, carragénine, inflammation.

Abstract

Given the sometimes-severe side effects associated with conventional anti-inflammatory drugs, the exploration of plant-based therapeutic alternatives has garnered increasing scientific interest. In this context, *Echium confusum*, a member of the Boraginaceae family, was selected for an in-depth investigation of its pharmacological properties. This study aims to evaluate, through a dual *in vitro* and *in vivo* approach, the anti-inflammatory and anti-edematous activity of its root extract, relying on rigorous biochemical analyses and validated experimental models.

Spectrophotometric assays were carried out to quantify phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, condensed tannins, and terpenoids) present in the hydroacétométhanolique extract of *Echium confusum* roots and aerial parts. The results revealed a noteworthy abundance of phenolic compounds in the roots, with significant concentrations of polyphenols (29.19 mg GAE/g DM), flavonoids (85.21 mg QE/g DM), condensed tannins (0.055 mg CE/g DM), and terpenoids (59.333 mg LE/g DM). The aerial parts also showed high levels of polyphenols (30 mg GAE/g DM) and flavonoids (87.84 mg QE/g DM), but lower amounts of condensed tannins and terpenoids.

In addition, the cytotoxicity study demonstrated that the phenolic extract obtained from the roots exhibited a significant inhibitory effect on hemolysis, reaching a maximum inhibition of 68% at a concentration of 0.0156 mg/ml. Conversely, the extract showed minimal effect at a lower concentration of 0.25 mg/ml, with only 1.71% inhibition observed.

The anti-inflammatory activity was assessed *in vitro* by inhibiting thermal protein denaturation, based on the data collected and presented in Table 6, it is observed that the IC₅₀ of the *E. confusum* extract is 0.72 mg/ml, which is significantly higher than that of Diclofenac, at 0.10 mg/ml. It can be concluded that the terpenic extract used exhibits a lower anti-inflammatory activity compared to Diclofenac and *in vivo* using the carrageenan-induced paw edema model in Wistar rats. The *in vivo* results confirmed the anti-inflammatory efficacy of root-derived terpenoids, with a 37.20% reduction in paw edema volume at a dose of 100 mg/kg.

In conclusion, the findings of this study highlight the notable anti-inflammatory effect of *Echium confusum* roots, mainly attributed to the presence of terpenoids natural compounds identified among its secondary metabolites. These results support the therapeutic potential of medicinal plants as promising alternatives to conventional treatments for managing inflammatory diseases.

Keywords: *Echium confusum*, Terpenoids, Anti-inflammatory, Wistar rats, Carrageenan, Inflammation.

ملخص

نظرا إلى الآثار الجانبية الشديدة التي تسببها الأدوية مثل المضادة للالتهابات، فقد حظي استكشاف البدائل العلاجية الفينولي المستخرج من الجذور أظهر تأثيرًا مثبتًا كبيرًا لعملية التحلل الدموي، حيث بلغ الحد الأقصى من التثبيط 68% عند تركيز قدره 0.0156 ملغ/مل. وعلى العكس من ذلك، أظهر المستخلص تأثيرًا طفيفًا عند تركيز أقل يبلغ 0.25 النباتات باهتمام علمي متزايد. وفي هذا السياق، تم اختيار نبات *Echium confusum*، وهو من فصيلة Boraginaceae، لإجراء دراسة معمقة حول خصائصه الدوائية. وتهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للالتهاب والمضاد للوذمة لمستخلص الجذور، وذلك من خلال مقارنة مزدوجة تعتمد على التجارب المخبرية *in vitro* والحية *in vivo*، مستندة إلى تحليلات بيوكيميائية دقيقة ونماذج تجريبية معتمدة.

أجريت اختبارات لقياس مركبات الفينولية (polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et) (terpénoïdes)

الموجودة في المستخلص hydro-acéto-méthanolique للجذور والجزء العلوي لنبات *Echium confusum*.

وقد أظهرت النتائج وجود نسبة ملحوظة من المركبات الفينولية في الجذور، مع تراكيز كبيرة من

polyphénols (29.19 mg GAE/g DM) ، flavonoïdes (85.21 mg QE/g DM) ، tanins condensés (0.055 mg CE/g DM) ، و terpénoïdes (59.333 mg LE/g DM).

كما اظهر الجزء العلوي أيضًا مستويات مرتفعة من polyphénols (30 mg GAE/g DM) و flavonoïde (87.84 mg QE/g DM)، ولكن بكميات أقل من tanins condensés و terpénoïdes .

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة السمية الخلوية أن المستخلص ملغ/مل، حيث لوحظ تثبيط بنسبة لا تتجاوز بالمئة 1.7.

تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب للمستخلص الفينولي عبر اختبار تثبيط تمسخ البروتين الناتج عن الحرارة بنسبة . بلغ 0.72 ملغ/مل، وفقًا لما هو موضح في (IC50) 1.7% وقد تبين أن التركيز المطلوب لتحقيق تثبيط بنسبة 50 تبلغ 0.10 IC50 الجدول 6. تُظهر هذه القيمة أن فعالية المستخلص أقل بكثير من فعالية الديكلوفيناك، الذي سجل قيمة ملغ/مل. وعليه، يمكن الاستنتاج أن المستخلص التريباتي المدروس يتمتع بنشاط مضاد للالتهاب ضعيف مقارنةً بالمضاد الالتهاب المرجعي ديكلوفيناك وفي الجسم الحي فئران، تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب باستخدام نموذج وذمة القدم المستحثة بمادة الكاراجينان في فئران الوستار. وقد أكدت نتائج هذه التجارب فعالية التريبيويدات المستخلصة من الجذور، حيث سجلت انخفاضًا بنسبة 37.20% في حجم وذمة القدم عند جرعة قدرها 100 ملغ/كغ

ويُعزى ذلك *Echium confusum* وفي الختام، تُبرز نتائج هذه الدراسة التأثير المضاد للالتهاب المتميز لجذور نبتة بشكل رئيسي إلى وجود مركبات التربينويدات الطبيعية، التي تم تحديدها ضمن نواتجها الثانوية. وتدعم هذه النتائج الإمكانات العلاجية للنباتات الطبية بوصفها بدائل واعدة للعلاجات التقليدية في إدارة الأمراض الالتهاب.

الكلمات المفتاحية: *Echium confusum*, التربينويدات، مضاد للالتهاب، فنران الوستار، الكاراجينان، الالتهاب.

Liste des abréviations

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

BSA : albumine sérique bovine

DMSO : diméthylsulfoxyde

DO : densité optique

GRh : Globules Rouges humain

HE : l'huile essentielle

HCl : acide chlorhydrique

H₂SO₄ : acide sulfurique

IC50 : concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH

IL : Les interleukines

Mg. EL/g. m s : milligrammes d'équivalent linalol par gramme de matière sèche

Mg EC/g MS : milligramme équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche

Mg EAG/g ms : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

NaNO₂ : nitrite de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PBS : solution tampon phosphate salinée.

R.m.p : tours par minute

Solution iso-saline : solution de chlorure de sodium (NaCl)

Tris HCl : Tris (hydroxy méthyl) aminométhane chlorhydrate

TTC : Teneur Totale en Composé

Tube EDTA : éthylènediaminetétraacétate (anticoagulant)

Liste des tableaux

Numéro	Titre des tableaux	Page
1	Médiateurs inflammatoires	8_9
2	Médiateurs cellulaire	10
3	Classification d' <i>Echium confusum</i>	21
4	Les rendements de l'extraction des terpénoïdes par Soxhlet et macération	45
5	Résultats des dosages des polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et terpénoïdes	43
6	Valeurs des IC50 de l'extrait des racines d' <i>Echium confusum</i>	49
7	Mesure (mm) de l'œdème inflammatoire de la patte arrière gauche des rats.	51

Liste des figures

Numéro	Titre des figures	Page
1	Classification et structure de quelques métabolites secondaires	14
2	Structure de base des flavonoïdes	15
3	Exemples de différentes classes des terpénoïdes	16
4	Types, caractéristiques et sources des terpénoïdes issus des plantes médicinales	18
5	Zone géographique de récolte d' <i>Echium confusum</i>	25
6	Protocole d'extraction des polyphénols	28
7	Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux(A), et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (B-C)	42
8	Test de cytotoxicité de l'extrait phénolique des racines d' <i>Echium confusum</i> .	46
9	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA des racines d' <i>E. confusum</i> .	48
10	Effet de la carragénine sur La progression de l'œdème.	50
11	Pourcentage d'augmentation des œdèmes de la patte des rats traités et non traités.	53
12	Pourcentage d'inhibition des œdèmes de la patte des rats traités par le Diclofénac et l'extrait phénoliques des racines d' <i>Echium confusum</i> .	54

Liste des photos

Numéro	Titre des photos	Page
1	<i>Echium confusum</i>	25
2	Les racines séchées d' <i>Echium confusum</i>	26
3	Poudre des racines d' <i>Echium confusum</i>	26
4	Partie aérienne d' <i>Echium confusum</i>	26
5	Poudre de la partie aérienne d' <i>Echium confusum</i>	26
6	Etape d'agitation	28
7	Extraits phénoliques des parties aériennes et racinaires d' <i>Echium confusum</i>	29
8	Extraction des racines par Soxhlet	32
9	Induction de l'inflammation expérimentale par la carraghénane	38

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumés	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des abréviations	
Introduction général.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : inflammation.....	4
1. L'inflammation.....	5
1.1 Définition de l'inflammation.....	5
1.2 Les types d'inflammation (aiguë et chronique)	6
1.3 Les phases de l'inflammation aiguë.....	6
1.4 Inflammation chronique	7
3. Les médiateurs cellulaires et solubles de l'inflammation	7
3.1 Médiateurs soluble.....	8
3.2. Médiateurs cellulaire	10
4. Anti-Inflammatoire	10
4.1. Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS).....	10

4.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	11
4.3. Les anti-Inflammatoires d'origines végétales	12
Chapitre02 : Les métabolites secondaires des plantes	13
1. Définition et fonctions essentielles des composés secondaires chez les plante	14
2. Les composés phénoliques	14
2.1. Les flavonoïdes.....	14
2.2. Les tanins	15
2.3. Les terpénoïdes.....	15
3.L'effet des métabolites secondaires sur l'obésité	17
Chapitre03 : Présentation de la plante étudiée.....	19
1. La famille des borraginacées.....	20
2. Classification de l' <i>Echium confusum</i>	20
2.1Description	21
3.Distribution géographique de l' <i>Echium confusum</i>	22
4. La toxicité de certaines plantes médicinales	22
Partie 2 : Partie expérimentale	24
Matériel et méthodes	25
Origine et préparation du matériel végétal	26
1.Extraction des polyphénols des feuilles et des racines d' <i>Echium confusum</i>	28
2.Dosage des composés phénoliques.....	29
2.1 Dosage des polyphénols.....	29
2.2 Dosage des Flavonoïdes.....	29
2.3 Dosage des tanins condensés.....	30
2.4.Détermination de la teneur totale en terpénoïdes.....	31
3. Mode d'extraction appliqué aux racines de la plante <i>Echium confusum</i>	32

4. Evaluation activité hémolytique	33
5. Evaluation de l'activité anti-hémolytique	33
6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA)	34
Expérience <i>In vivo</i>	36
1. Préparation de la carragénine	36
2. les rats utilisée	36
3. Induction d'inflammation	37
4. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait Œdème de la patte provoqué par la carraghénane	38
Partie 03 : Résultats et discussion	40
1. Rendement de l'extrait brut (parties racine et aérienne)	41
2. Teneurs en composés phénoliques	41
3. Rendement de l'extraction des terpénoïdes	45
4. Activité hémolitique	33
5. Activité anti-hémolitique	33
6. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	35
7. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	36
Conclusion et perspectives	56
Références bibliographiques	59

Introduction générale

Les affections inflammatoires figurent parmi les principales préoccupations de santé publique à l'échelle mondiale, engendrant une charge croissante sur les systèmes de soins et des coûts sanitaires significatifs **(Prakash., 2017)**.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique largement prescrite pour leurs propriétés analgésiques, antipyrétiques et antiinflammatoires, notamment dans le traitement des affections rhumatismales **(Geffroy et Friocourt., 2018)**.

Toutefois, leur usage prolongé est associé à une incidence accrue d'effets indésirables, parmi lesquels figurent les complications gastro-intestinales (ulcères, hémorragies), les atteintes hépatiques, l'insuffisance rénale, ainsi qu'un risque majoré d'événements cardiovasculaires **(Ouédraogo et al., 2012)**.

Cette problématique est particulièrement préoccupante chez les sujets âgés, chez qui la prévalence des affections douloureuses chroniques justifie un recours fréquent aux AINS, que ce soit par prescription médicale ou dans le cadre de l'automédication **(Geffroy et Friocourt., 2018)**.

Dans ce contexte, l'exploration des ressources naturelles, en particulier des plantes médicinales, s'impose comme une stratégie alternative prometteuse en vue de développer des agents anti-inflammatoires efficaces, tout en minimisant les effets indésirables associés aux traitements conventionnels **(Chebaibi et al., 2011)**.

Depuis des siècles, les plantes médicinales sont employées comme remèdes dans le traitement des affections humaines, en raison de leurs propriétés thérapeutiques reconnues. Riches en composés bioactifs, elles offrent un potentiel considérable pour la prise en charge de diverses pathologies et peuvent, dans certains cas, constituer une alternative crédible aux médicaments de synthèse **(Rguez et al., 2023)**.

L'intérêt scientifique s'est ainsi porté sur les constituants phytochimiques majeurs tels que les alcaloïdes, les composés phénoliques, les glycosides, les tanins et les terpénoïdes, en raison de leurs multiples effets pharmacologiques potentiels **(Vikrant, et Arya., 2011)**.

Parmi eux, les terpénoïdes se distinguent par la diversité et la richesse de leurs propriétés biologiques. Présents en abondance dans les plantes médicinales, ils

comptent parmi les métabolites secondaires les plus étudiés en raison de leur implication dans de nombreuses approches thérapeutiques. Au fil du temps, les recherches se sont orientées plus spécifiquement vers l'exploration de leur potentiel anti-inflammatoire **(Del Prado-Audelo et al., 2021)**.

Ces travaux ont permis de mettre en évidence leur capacité à moduler plusieurs mécanismes biologiques impliqués dans la cascade inflammatoire, démontrant ainsi leur efficacité dans la régulation de cette réponse complexe **(Devi et al., 2024)**.

La famille des Boraginaceae, grâce à sa variété d'applications traditionnelles dans différents domaines comme l'alimentation, les boissons, les composants aromatiques, les parfums, ainsi que les produits de beauté et médicaux, a suscité l'intérêt depuis longtemps. Ce large éventail d'applications a progressivement capté l'intérêt de la communauté scientifique, surtout en raison de l'existence de composés bioactifs spécifiques ayant des vertus thérapeutiques encourageantes **(Chrzanowska et al., 2024)**.

La présente recherche s'inscrit dans ce contexte, avec pour but principal l'évaluation des activités biologiques d'*Echium confusum*, une plante médicinale de cette famille. Peu explorée jusqu'à présent, elle offre néanmoins un potentiel intéressant sur les plans pharmacologique et thérapeutique. Ainsi, nous avons procédé comme suit:

- ✓ Dosage des métabolites secondaires présents dans l'extrait brut hydro-acéto-méthanolique, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les terpénoïdes.
- ✓ Poursuite du travail par l'extraction spécifique des terpénoïdes.
- ✓ Enfin, évaluation des propriétés biologiques de l'extrait terpénique d'*Echium confusum*, à travers l'étude de son activité anti-inflammatoire (*in vitro* et *in vivo*), ainsi que de son activité anti-hémolytique.

Chapitre 01: L'inflammation

1. L'inflammation:

1.1 Définition de l'inflammation:

L'inflammation est une réaction essentielle du système immunitaire inné de l'organisme en réponse à des facteurs infectieux ou non infectieux. Ce processus se déclenche rapidement et fonctionne de manière globale, sans distinction spécifique des agents pathogènes **(Hannoodee et Nasuruddin., 2024)**.

Les réactions inflammatoires découlent d'une série complexe d'interactions entre des agents pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Ce mécanisme est essentiel pour préserver l'équilibre homéostatique des systèmes immunitaire et tissulaire **(Megha et al., 2021)**.

Divers facteurs peuvent initier une réponse inflammatoire, notamment les infections bactériennes, virales ou fongiques, ainsi que les altérations tissulaires et les dysfonctionnements immunitaires liés aux maladies auto-immunes. Une fois déclenchée, cette réponse immunitaire provoque une série de manifestations physiologiques caractéristiques **(Hannoodee et Nasuruddin., 2024)**.

Tout d'abord, l'accroissement du débit sanguin provoque une dilatation des vaisseaux, ce qui entraîne des rougeurs et une élévation de la température locale. Puis, l'augmentation de la perméabilité vasculaire favorise l'exsudation plasmatique, ce qui entraîne une accumulation de liquide et, par conséquent, un gonflement des tissus touchés. En même temps, la libération de substances chimiques stimulantes active les terminaisons nerveuses, entraînant une sensation douloureuse et la perte de fonction résulte de l'interaction de plusieurs facteurs. Ces signes peuvent être détectés lors d'une inflammation aiguë à la surface, mais ils ne sont pas tous nécessairement visibles lors d'une inflammation profonde, surtout au sein des organes internes **(Hannoodee et Nasuruddin., 2024)**.

Par la suite, en fonction du temps de réaction à l'agression, on identifie trois types d'inflammation :

- A. **L'inflammation aiguë**, qui se manifeste instantanément après une blessure et tend à s'estomper en principe en quelques jours.
- B. **La phase subaiguë de l'inflammation**, qui se trouve entre les phases aiguës et chroniques, peut durer de 2 à 6 semaines.
- C. **L'inflammation chronique**, qui peut persister pendant des mois, voire des années, lorsque l'inflammation aiguë ne parvient pas à se résorber (**Pahwa et al., 2023**).

1.2 Les types d'inflammation (aiguë et chronique) :

1.2.1. Inflammation aigue :

L'inflammation aiguë est une réponse immédiate à un agent hostile, de courte durée et généralement violente, caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Elle se manifeste principalement par quatre symptômes : l'œdème, la douleur, la chaleur et l'érythème. En général, les inflammations aiguës ont tendance à guérir d'elles-mêmes ou avec un traitement approprié, mais peuvent parfois entraîner une défaillance fonctionnelle locale en fonction de la gravité de la lésion (**Serhan et al., 2010 ; Mallem et Gognyé., 2014**).

L'inflammation aiguë progresse à travers trois phases consécutives et interlignées :

a. La phase vasculaire:

Elle débute par une brève vasoconstriction déclenchée par le système sympathique, et est rapidement ressentie comme douloureuse. Cette douleur est attribuée à la libération d'histamine, de sérotonine, de prostaglandines et de quinine. Cela entraîne une excitabilité accrue des terminaisons nerveuses qui accentue la douleur (**Bony., 2010**).

La vasoconstriction initiale cède place à une vasodilatation des vaisseaux sanguins, ce qui provoque une augmentation de la viscosité et une élévation de la perméabilité vasculaire, facilitant ainsi l'afflux des cellules vers le site inflammatoire. Suit ensuite

la diapédèse qui se produit après que les cellules se sont fixées à la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins (Hajjaj., 2017).

b. La phase cellulaire:

Elle se réfère à l'arrivée des leucocytes au site de l'inflammation. Elle commence avec les polynucléaires neutrophiles, qui sont progressivement substitués par des cellules mononuclées, principalement des macrophages. La libération des enzymes hydrolytiques par les polynucléaires et la capacité des macrophages à phagocyter contribuent à l'élimination de l'agent infectieux (Hajjaj., 2017).

c. La phase de résolution:

Il s'agit de la phase d'élimination du pathogène, des neutrophiles morts et des produits de dégradation tissulaire, contribuant ainsi au rétablissement de l'équilibre homéostatique. Les macrophages sécrètent alors des cytokines (IL-4 et IL-10), des fibroblastes et des médiateurs qui stimulent la cicatrisation et la régénération tissulaire, processus souvent associés à la douleur (Carip., 2010 ; Mebirouk., 2017).

1.2.2. Inflammation chronique :

Si un facteur inflammatoire persiste en raison de sa résistance à la destruction métabolique ou d'une défaillance du système immunitaire qui devient incapable d'éliminer le microbe, la réaction inflammatoire évolue vers une pathologie chronique. L'inflammation persistante peut durer de plusieurs semaines ou mois, voire tout au long de la vie de l'individu (Fauve et Hevin 1998 ; Delves *et al.*, 2008).

2. Les médiateurs cellulaires et solubles de l'inflammation :

Le processus inflammatoire déclenche une variété de molécules connues sous le nom de médiateurs inflammatoires.

2.1. Médiateurs solubles :

- **Les cytokines:** Les cytokines sont des molécules protéiques de faible masse moléculaire qui font partie des messagers solubles. Plusieurs cellules du système

immunitaire, notamment les macrophages et les mastocytes, sont responsables de leur production en réponse à différents stimuli (**Diallo., 2019**). Elles englobent plusieurs types de molécules, comme les interleukines pro et anti-inflammatoire, les chimiokines et les facteurs de croissance exemple : TGF- β ...etc. Qui sont classées en superfamilles en fonction de leur structure plutôt que de leur provenance génétique (**Kany et al., 2019**).

Le tableau suivant montre les différents rôles des médiateurs inflammatoires :

Tableau 1. Les différents rôles des médiateurs inflammatoires

Médiateurs	Définition	Rôles principaux
TNF-α (Tumor Necrosis Factor alpha)	Le TNF- α (Tumor Necrosis Factor alpha) est une protéine soluble non glycosylée, synthétisée par différentes sortes de cellules immunitaires. (Youssef et Hadiji.,2016).	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation de l'inflammation • Défense immunitaire • Régulation métabolique • Remodelage osseux (Descamps-Latscha, et Witko-Sarsat., 1996).
IL-1 (Interleukine-1)	Cytokine pro-inflammatoire majeure, produite principalement par les monocytes, les fibroblastes et les macrophages des tissus. (Megha et al., 2021).	<ul style="list-style-type: none"> • Recrutement des cellules immunitaires • Induction de la fièvre • Amplification de la réponse inflammatoire (Megha et al., 2021).

IL-6 (Interleukine-6)	Cytokine clé régulant l'inflammation et la réponse immunitaire, produite par les cellules immunitaires et stromales (Noack et Kolopp-Sarda.,2018).	<ul style="list-style-type: none"> • Différenciation des lymphocytes T • Régulation de la production de cytokines • Contribution à l'efficacité immunitaire (Noack et Kolopp-Sarda., 2018).
IL-10 (Cytokine Synthesis-Inhibitory Factor)	Est une cytokine anti-inflammatoire clé, produite par plusieurs cellules immunitaires. Elle régule l'inflammation aiguë et chronique, limitant les réactions excessives pour préserver l'équilibre immunitaire (Hutchins <i>et al.</i> , 2013).	<ul style="list-style-type: none"> • Restriction de la sécrétion des cytokines pro inflammatoires. • Régulation de l'activité des cellules mon macrophagiques. • Réduction de la cytotoxicité • Diminution la libération de médiateurs inflammatoires (Ponvert., 1997).
La bradykinine	Peptide vasoactif naturel formé lors des processus inflammatoires (Turcotte <i>et Lougheed.</i> , 2011).	<ul style="list-style-type: none"> • Augmente la perméabilité vasculaire. • Provoque une vasodilatation dans certaines artères et veines. • Régule la contraction et la relaxation musculaire (Golias <i>et al.</i>, 2007).
Chimiokines	Petites protéines appartenant à la famille des cytokines	<ul style="list-style-type: none"> • Participent à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. • Facilitent le déplacement des cellules souches vers les tissus nécessitant une réparation. • Participent à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (Rostène., 2011).

2.2. Médiateurs cellulaires : Les différents médiateurs cellulaires sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2. Les différents médiateurs cellulaires.

Cellules	Définition	Rôles principaux
Les lymphocytes T	Cellules immunitaires dérivées du thymus, impliquées dans l'immunité cellulaire.	<ul style="list-style-type: none"> • Reconnaissance des antigènes assurant l'identification et la distinction des corps étrangers. • Neutralisation des cellules cancéreuses et élimination des greffons non compatibles (Danowski., 1991).
Macrophages	Cellules immunitaires dérivées des monocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Production des médiateurs des prostaglandines et des composants du complément. • Produisent des superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et hydroxydes (OH^{\cdot}) Phagocytose (Danowski., 1991).
Neutrophiles	Les neutrophiles, ou granulocytes polymorphonucléaires (PMNs), sont les globules blancs les plus abondants dans la circulation sanguine (Shafqat et al., 2023).	<ul style="list-style-type: none"> • Libération de cytokines pro-inflammatoires. • Destruction des micro-radicaux libres (ROS) organismes par la production (Selders et al., 2017).

3. Les anti-inflammatoires:

3.1. Les anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS) :

Les glucocorticoïdes, ou AIS, sont des composés synthétiques dérivés des hormones naturelles telles que la cortisone et le cortisol. Ces médicaments sont de puissants anti-inflammatoires dotés également de qualités immunosuppressives et antiallergiques.

Leur effet anti-inflammatoire découle principalement de leur capacité à modérer la surexpression des gènes pro-inflammatoires qui codent pour les cytokines, les chimiokines, les molécules d'adhésion cellulaire, les enzymes inflammatoires et les récepteurs, contribuant ainsi à atténuer le processus inflammatoire et à restaurer l'homéostasie (**Cruz-Topete et Cidlowski., 2015**).

Ces corticoïdes constituent la thérapie la plus performante employée pour les pathologies inflammatoires chroniques comme l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (**Payne et Adcock., 2001**).

Des études examinant des alternatives aux stéroïdes conventionnels pour diminuer les effets indésirables. Par exemple, les « **nitro-stéroïdes** », qui libèrent de l'oxyde nitrique (NO), ont démontré une activité anti-inflammatoire augmentée et une diminution de la toxicité dans des modèles animaux (**Doggrell., 2005**).

En outre, des recherches concernant les esters de stéroïdes-21-oate ont mis en évidence une importante activité anti-inflammatoire locale dans des modèles d'inflammation aiguë (**Heiman *et al.*, 1989**).

3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) empêchent une enzyme membranaire, la cyclo-oxygénase (COX), responsable de la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (PG) (**Nicolas *et al.*, 2001 ; Ding, 2002 ; Lioté, 2011**).

Chez l'homme, on distingue deux types de COX : la COX1 et la COX2. Ces deux enzymes sont inhibées simultanément par les anti-inflammatoires, entraînant d'une part une réduction de l'inflammation, mais d'une autre part des effets secondaires au niveau gastro-intestinal (comme l'irritation ou l'ulcération de la muqueuse gastrointestinale). Cela aboutit à l'élaboration de molécules présentant moins d'effets secondaires, en ne bloquant que la COX-2 liée à l'inflammation et en préservant la production des PG protecteurs de l'estomac par la COX-1. On retrouve principalement le célécoxib et le rofécoxib parmi ces inhibiteurs sélectifs de la COX2, appelés coxibs (**Ding, 2002 ; Muster, 2005**).

3.3 Les anti-inflammatoires d'origine végétale :

Les produits naturels et leurs dérivés présentent une diversité structurale remarquable, largement supérieure à celle des composés synthétiques. Ainsi, parmi les 1 184 nouvelles substances chimiques découvertes entre 1981 et 2006, près de 60 % sont issues directement ou indirectement de ressources naturelles, mettant en évidence leur importance cruciale dans l'ouverture de nouvelles voies thérapeutiques. Les plantes ont toujours été au cœur de nombreuses traditions médicales. Par exemple, l'écorce de saule, employée depuis l'Antiquité pour ses vertus anti douleurs et antipyrétiques, a mené à l'invention de l'aspirine, remède anti-inflammatoire novateur lancé en 1899. Actuellement, cette abondance naturelle demeure une source d'inspiration pour la recherche en pharmacie, particulièrement dans le champ des maladies inflammatoires. Autrefois utilisées comme traitements directs tels que teintures, tisanes, cataplasmes, les préparations traditionnelles servent maintenant de fondement essentiel pour la découverte et l'amélioration de composés bioactifs. Des recherches récentes de grande envergure ont pour objectif d'examiner des aspects spécifiques de l'inflammation, en se concentrant sur des composants tels que les enzymes lipoxgénases, la voie de L'acide arachidonique, l'oxyde nitrique, ainsi que des médiateurs comme NF-KB, TNF- α , les cytokines et les chimiokines. Ils étudient même des catégories particulières de molécules telles que les polyphénols. Cette stratégie spécifique cherche à élaborer des options thérapeutiques performantes et plus acceptables que quelques traitements traditionnels (**Gautam, amp et Jachak, 2009**).

Chapitre 02 : Les métabolites Secondaires

Les plantes synthétisent une grande diversité de composés secondaires exploités dans divers domaines scientifiques et industriels. En plus de leur rôle fondamental dans la pharmacologie moderne, ces substances présentent des propriétés biologiques précieuses qui favorisent la santé humaine. Leur utilisation s'étend également aux secteurs du parfum, de l'agrochimie et des cosmétiques, où elles sont valorisées pour leurs caractéristiques spécifiques (Yanqun *et al.*, 2020). De plus Leur classification repose sur leur voie de biosynthèse, regroupant notamment les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Figure1) (Crozier *et al.*, 2006).

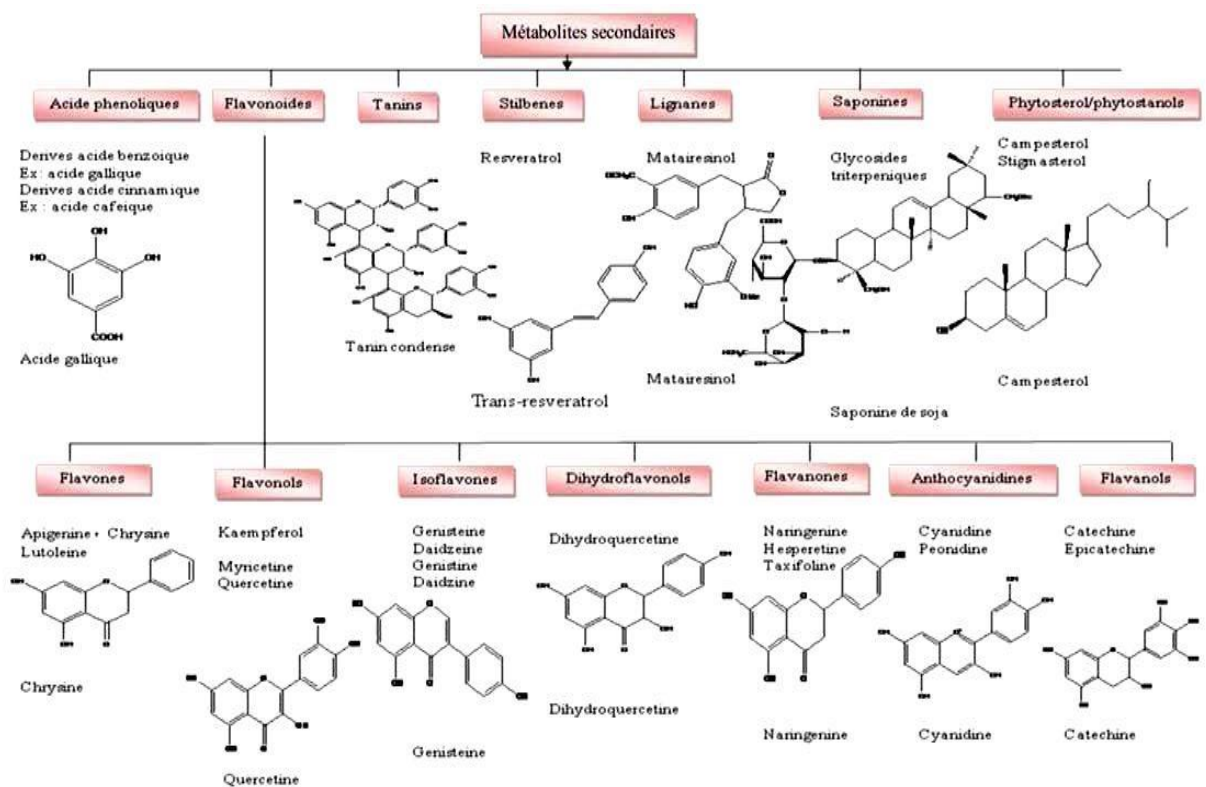


Figure 1 : Classification et structure de quelques métabolites secondaires (Muanda.,2010).

1. Les Composés phénoliques:

Les polyphénols constituent un groupe de micro-nutriments que l'on retrouve dans notre régime alimentaire, principalement issus du règne végétal. Ces composés se distinguent par leur structure chimique, qui possède un noyau aromatique substitué par une ou plusieurs hydroxyles (-OH), ce qui leur confère des propriétés bioactives

importantes, notamment des effets antioxydants et protecteurs pour la santé. (Bennetau-Pelissero, 2014). Parmi ces composés on retrouve:

1.1. **Les flavonoïdes** : Les flavonoïdes forment une vaste classe de composés phénoliques d'origine naturelle, regroupant plus de 4500 représentants identifiés à ce jour. Ils sont répartis dans divers tissus végétaux et sont souvent stockés dans les vacuoles (Tiwari et Rana., 2015).

Leur structure se compose de 15 atomes de carbone, organisés en deux cycles aromatiques reliés par une chaîne de trois atomes, leur conférant une grande diversité fonctionnelle et biologique (Figure 2) (Ahmed *et al.*, 2017).

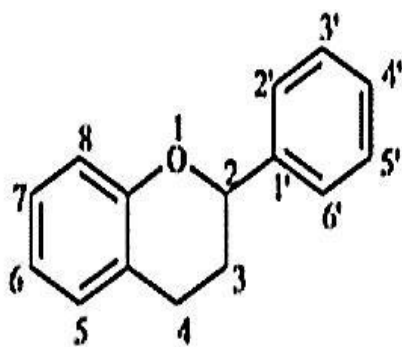


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Medi-Saric *et al.*, 2004).

1.2. Les tanins:

Les tanins constituent un groupe hétérogène de polymères polyphénoliques aux structures et poids moléculaires variables. Ils sont synthétisés par les plantes à la fois pour assurer des fonctions physiologiques essentielles (Piluzza *et al.*, 2014).

À l'origine, le terme « tanin » faisait référence aux extraits végétaux connus pour leur astringence, avant que leur structure chimique ne soit précisément caractérisée. Ces composés se distinguent par leur capacité à interagir avec diverses molécules, telles que les protéines, les pigments et les ions métalliques, tout en exerçant une action antioxydante essentielle (Okuda *et Ito.*, 2011).

1.3. Les terpénoïdes :

Les plantes produisent des hydrocarbures volatils biogéniques, appelés terpénoïdes ou isoprénoïdes. Ces composés peuvent adopter une structure cyclique ou acyclique et sont principalement constitués de carbone et d'hydrogène, avec parfois la présence d'oxygène. Selon leur organisation moléculaire, ils se répartissent en trois catégories : les hémiterpénoïdes (5 atomes de carbone, tels que l'isoprène), les monoterpénoïdes (10 atomes de carbone, comme le limonène) et les sesquiterpénoïdes (15 atomes de carbone, à l'exemple du β -caryophyllène) (Figure 3). La diversité chimique des terpénoïdes joue un rôle fondamental dans la réponse des plantes aux stress environnementaux ainsi que dans leurs interactions écologiques (Ormeño et Fernandez., 2012).

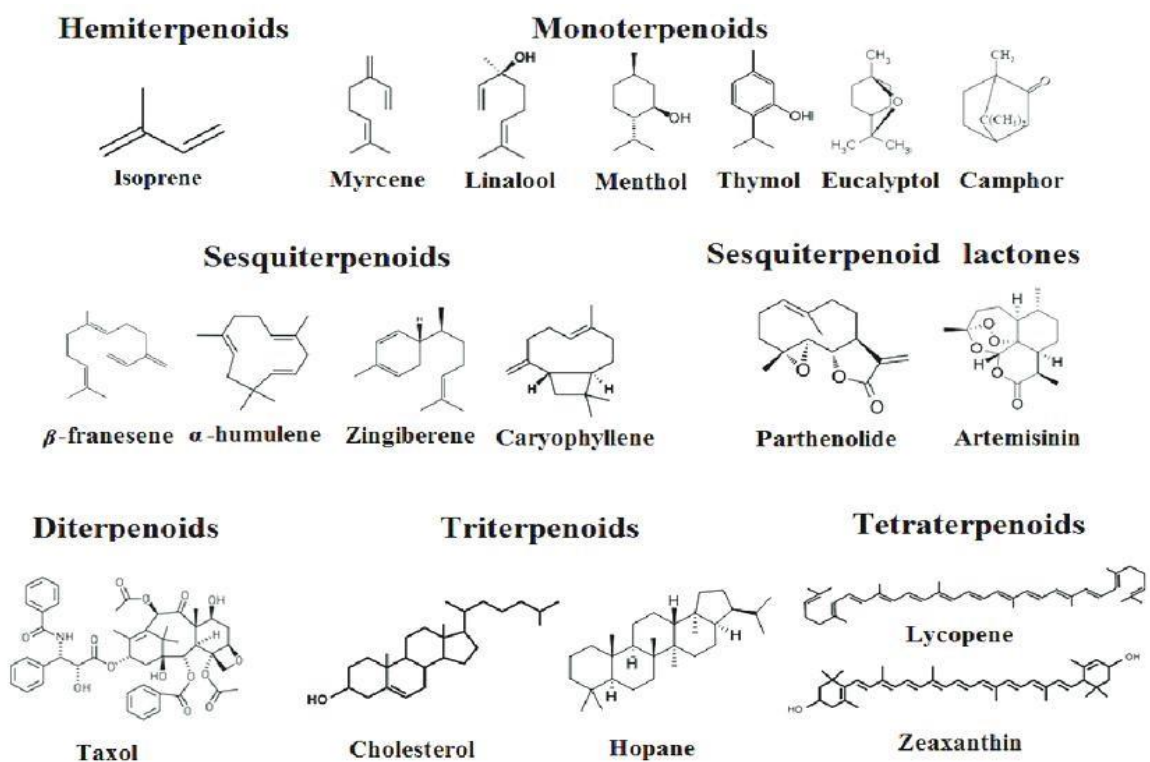


Figure 3 : Exemples de différentes classes des terpénoïdes (Abdallah,2017)

2. L'effet des métabolites secondaires sur l'obésité :

L'obésité est une maladie multifactorielle qui découle d'interactions complexes entre des facteurs génétiques, environnementaux et comportementaux (**Rodríguez-Pérez et al., 2019**).

Elle est principalement causée par un déséquilibre persistant entre l'apport de calories et la consommation d'énergie, souvent accentué par une prédisposition génétique existante combinée à un style de vie peu actif (**Romo Vaquero et al., 2013**).

La gestion du surpoids et de l'obésité s'appuie essentiellement sur la mise en place d'un style de vie sain, qui comprend l'amélioration des pratiques alimentaires et l'accroissement de l'activité physique. Cependant, face à la lenteur des résultats observés, beaucoup d'individus optent pour des solutions médicamenteuses afin de rapidement maigrir (**Urbatzka et al., 2018**).

Bien que les thérapies médicamenteuses pour l'obésité soient souvent efficaces à court terme, elles sont régulièrement liées à des effets indésirables tels que des problèmes cardiométaboliques, de l'anxiété ou encore des signes dépressifs (**Despres, 2009**).

Cela souligne l'intérêt de développer des agents naturels anti-obésité, mieux tolérés et dotés d'une efficacité thérapeutique accrue.

Les composés secondaires issus des végétaux, tels que les polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes, ont fréquemment été associés à des effets bénéfiques dans la lutte contre l'obésité. On retrouve ces composés bioactifs, tels que la curcumine, les anthocyanines et la nobiletine extraites des écorces d'agrumes, dans une multitude de plantes comestibles. Ils s'attaquent à des voies métaboliques qui interviennent dans la gestion du poids corporel (**Bhardwaj et al., 2021**).

Leurs mécanismes d'action incluent l'inhibition d'enzymes digestives clés, telles que l' α -amylase, les α -glucosidases et les lipases intestinales, contribuant ainsi à une réduction de l'absorption énergétique (**Nyambe-Silavwe et al., 2015**).

De plus, ces substances ont un impact sur l'axe hormonal régulateur de la prise alimentaire en ajustant la sécrétion et l'action de l'insuline, de la leptine et de la ghréline. Ces effets de synergie contribuent à réduire la consommation alimentaire et à stimuler les voies métaboliques associées à la dépense énergétique (Singla *et al.*, 2010).

Aussi, les terpénoïdes constituent l'un des principaux groupes de métabolites secondaires issus des plantes médicinales, reconnus pour la variété de leurs activités pharmacologiques. De nombreuses recherches ont confirmé leur efficacité pour réduire les symptômes de l'inflammation en intervenant à diverses phases du processus inflammatoire (Figure4) (D evietal.,2024).

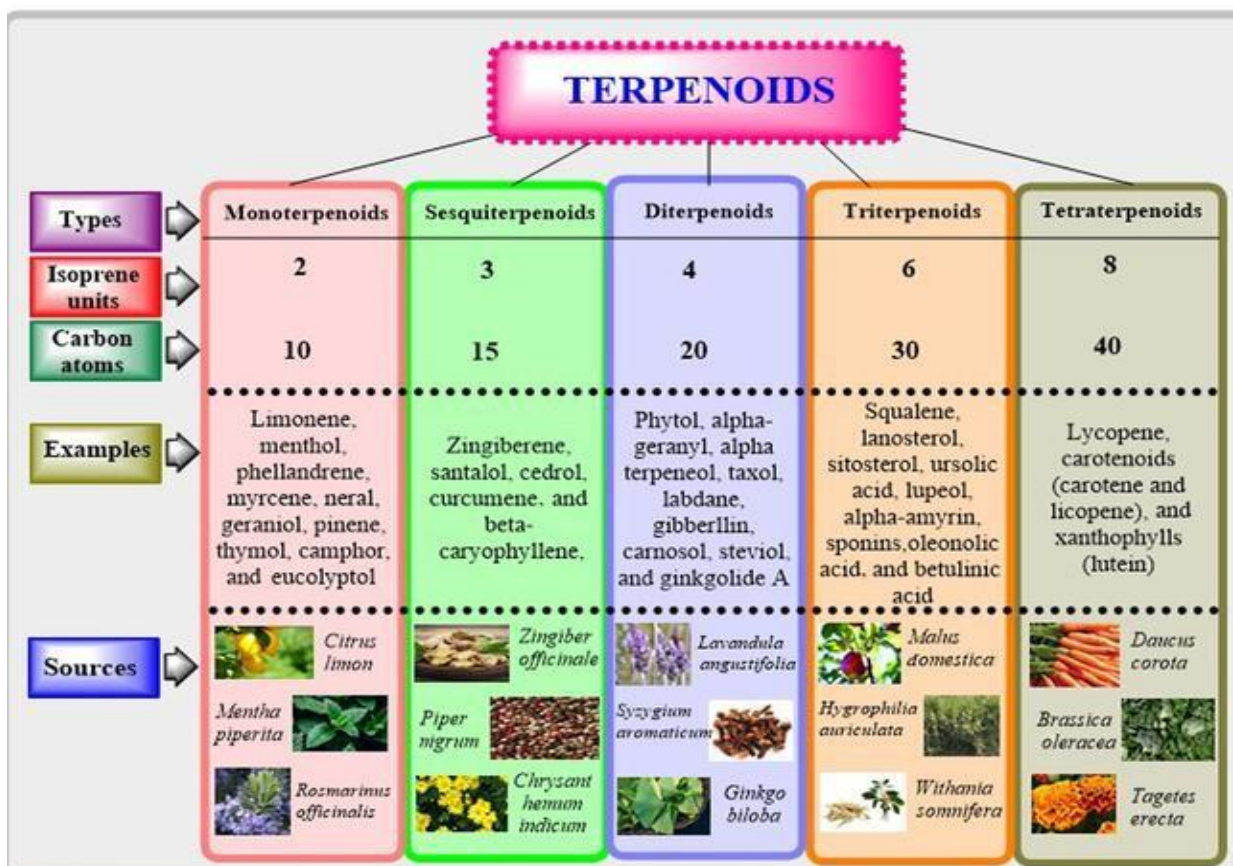


Figure 4 : Types, caractéristiques et sources des terpénoïdes issus des plantes médicinales (Devi et al., 2024).

***Chapitre 03 : Présentation de la plante
étudiée***

1. La famille des borraginacées :

La famille des Borraginacées (clade des Eu-astérides I ; système APG IV, 2019 ; famille des bourraches ou myosotis) est représentée par environ 148 genres et plus de 2 500 espèces (annuelles, bisannuelles, vivaces, et plus rarement des arbres, des arbustes ou des lianes). Les tiges et les feuilles de ces espèces végétales sont recouvertes de denses trichomes (glanduleux et non glanduleux). Les taxons Boraginaceae sont utilisés (en usage interne et externe) en médecine traditionnelle depuis plus de 2 000 ans, principalement dans les régions où ils sont naturellement présents et couramment disponibles. Actuellement, leurs propriétés ethnopharmacologiques ont été prouvées par des analyses chimiques, et l'intérêt pour ces espèces s'est accru en raison de leur teneur en molécules biologiquement actives capables de moduler le fonctionnement et l'état de l'organisme humain et d'améliorer l'apparence de la peau. L'effet thérapeutique est principalement lié à des composés biologiquement actifs, tels que les acides gras, les huiles essentielles, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les naphtho-quinones, les saponines, l'allantoïne, les mucilages, les alcaloïdes pyrrolizidiniques et la silice (dioxyde de silicium) isolés des matières premières végétales de Boraginaceae. De nombreuses études cliniques ont démontré les effets bénéfiques des extraits de Boraginaceae pour soulager l'inflammation ou les symptômes de diverses affections (gastro-intestinales, polyarthrite rhumatoïde, dermatite atopique, eczéma, psoriasis) (Chrzanowska *et al.*, 2024).

2. Classification d' *Echium confusum* : Classification d'*Echium confusum*. (*Echium Sabulicola* Pomel) selon le système APG IV (2016). Est présentée dans le tableau 03 Ci-dessous.

Tableau 03 : Classification d'*Echium confusum* (APG IV., 2016).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Boraginales
Famille	Boraginaceae
Genre	<i>Echium</i>
Espèce	<i>Echium sabulicola</i> Pomel (<i>confusum</i>)

3. Description botanique:*Echium confusum*. (Tlemcen Adjaija Nedroma 2025).

Cette plante vivace se distingue par une tige ramifiée provenant de la souche, dont les branches, qu'elles soient verticales ou horizontales, portent des inflorescences florales groupées en paires. La plante est couverte d'une couche de poils dressés, fins et

tuberculeux, dont les dimensions varient considérablement, conférant parfois à la plante une apparence bicolore. Les feuilles inférieures, de forme oblongue et spatulée, se transforment en un long pétiole étroit avec une extrémité très émoussée (occasionnellement presque aiguë), recouvertes de poils couchés à tubercules assez importants, aplatis en plusieurs couches de cellules blanches. D'autre part, les feuilles supérieures et les bractées, qui prennent une forme lancéolée ou linéaire, sont acérées, non embrassantes et couvertes de poils tuberculeux. Les fleurs, quasiment sessiles, présentent un calice de 7 à 10 mm aux divisions en forme de lance, pointues et à taille presque uniforme, couvert d'un double indument dont l'un est fortement tuberculeux. Elles ont une corolle de 15 à 17 mm qui passe d'une couleur initiale rougeâtre (souvent marquée de veines rouges et violettes) à un bleu-violet (Coincy., 1900).

4. Distribution géographique d'*Echium confusum*:

On trouve *E. confusum* en grande quantité sur les littoraux d'Espagne, particulièrement à Carthagène et Almería ; il s'étend même partiellement vers l'intérieur du pays. On le rencontre également aux Baléares, en Corse, en Sardaigne (Moris, dans Herb. Boiss.) ; ainsi qu'en Sicile (Guss., dans Herb. Boiss., Huet du Pav., dans Herb. Boiss.), en Algérie (Reuter), et sans doute ailleurs aussi. Les spécimens du Maroc que j'ai observés sous l'appellation *maritimum* doivent probablement lui être généralement attribués, même si j'ai trouvé qu'ils semblaient légèrement anormaux (Coincy., 1900).

5. La toxicité de certaines plantes médicinales :

Depuis les temps anciens, l'Homme utilise les plantes pour répondre à divers besoins, y compris la nutrition et les soins de santé. À l'heure actuelle, la nature demeure une source plus sûre de composés médicaux. Près de 40 % des médicaments disponibles aujourd'hui sont des dérivés directs ou indirects de précurseurs naturels provenant de plantes (Sohail *et al.*, 2011).

Selon (**Garba *et al.*, 2007**), en Afrique, un grand nombre de personnes continuent de se fier aux plantes médicinales pour traiter les maladies.

D'après l'Organisation mondiale de la santé (**OMS. 2008**), près de 80% des Africains continuent de recourir à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaires.

Cependant, dans la plupart des situations, l'usage de plantes médicinales se fait sans aucune précaution. Néanmoins, la sécurité ou l'innocuité figure parmi les critères essentiels à considérer avant l'utilisation de produits à base de plantes. À l'encontre de la notion répandue que les plantes médicinales sont généralement peu toxiques et s'accordent mieux avec le corps humain (**Upadhyay *et al.*, 2011**), leur utilisation peut entraîner une toxicité aiguë ou chronique. Cependant, les praticiens de la santé alternative et les guérisseurs ne sont pas toujours au fait de cette toxicité. Dans la majorité des situations, ils utilisent les plantes médicinales sans aucune préoccupation.

Toutefois, certaines plantes peuvent induire des intoxications sévères, en particulier celles renfermant des alcaloïdes Pyrrolizidiniques (AP) (**Kandé et Koné., 2017**).



Partie2 : Partie expérimentale

Dans le cadre de la valorisation des plantes de l'Ouest Algérien, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques des feuilles et des racines d' *Echium confusum* (**Photo 1**) appartenant à la famille des Borraginacées. Le travail a été effectué au sein du laboratoire de recherches « Produits naturels "LA PRONA" ».



Photo 1: *Echium confusum*. (Tlemcen Adjaija Nedroma 2025).

1. Sélection et traitement du matériel végétal :

Dans ce travail nous avons étudié les racines et les feuilles d' *Echium confusum*, collectés dans la région d'Adjaija Nedroma (Wilaya de Tlemcen, Algérie) durant le mois de février 2025 (Figure 5).

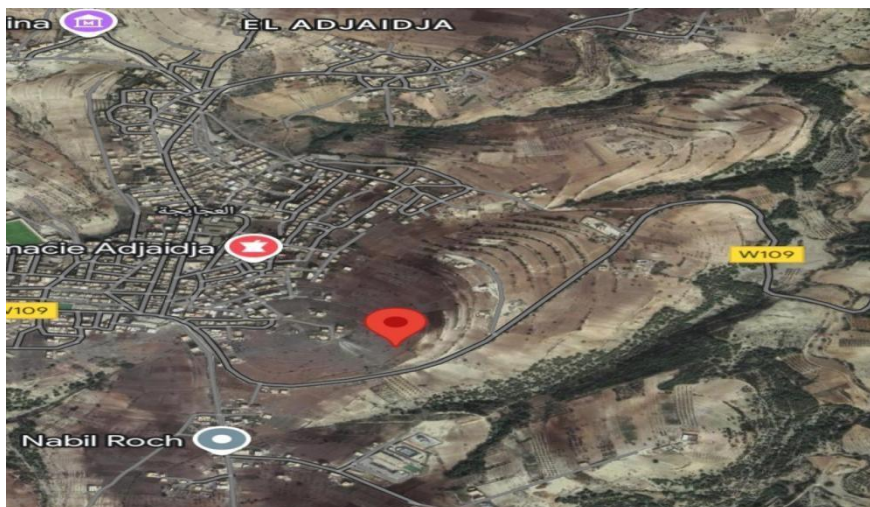


Figure 5 : Zone géographique de récolte d' *Echium confusum* (Tlemcen 2025).

Après la collecte, la partie aérienne et les racines d'*E. confusum* ont été séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant dix jours. Cette étape permet une évaporation progressive de l'eau tout en préservant les propriétés bioactives des composés existants (photos 2,3,4 et 5). Une fois séchées, elles sont soigneusement broyées pour obtenir une poudre homogène qui simplifie les prochaines étapes expérimentales.



Photo 2 : Les racines séchées d'*Echium confusum*. (Tlemcen, 2025).



Photo 3 : Poudre des racines d'*Echium confusum*. (Tlemcen, 2025).



Photo4 : Partie aérienne d'*Echium confusum*. (Tlemcen,2025).



Photo5 : La poudre de la partie aérienne d'*Echium confusum*. (Tlemcen,2025)

Expériences in vitro

1. Préparation des extraits bruts des feuilles et des racines :

Un échantillon de 2 g a été soumis à une macération dans 40 ml de trois solvants d'extraction distincts : acétone, méthanol et eau, avec un ratio respectif de 14 :14 :12. La solution obtenue a été soumise à une agitation continue pendant deux heures afin de favoriser l'extraction des composés cibles. Par la suite, le mélange a été centrifugé afin de récupérer le surnageant. Une seconde extraction a ensuite été réalisée en utilisant 40 ml du même solvant, suivie d'une nouvelle centrifugation pour isoler le deuxième surnageant (**surnageant b**). Les deux surnageants (**a+b**) ont été réunis et évaporés avec un rota vapeur à température réduite de 40 à 45°C, jusqu'à élimination de la phase organique. Les résidus

1. Macération:

- 2 g d'échantillon + 40 ml de mélange de solvants
(**acétone : méthanol : eau = 14 :14 :12**)
- Agitation continues pendant 2 h

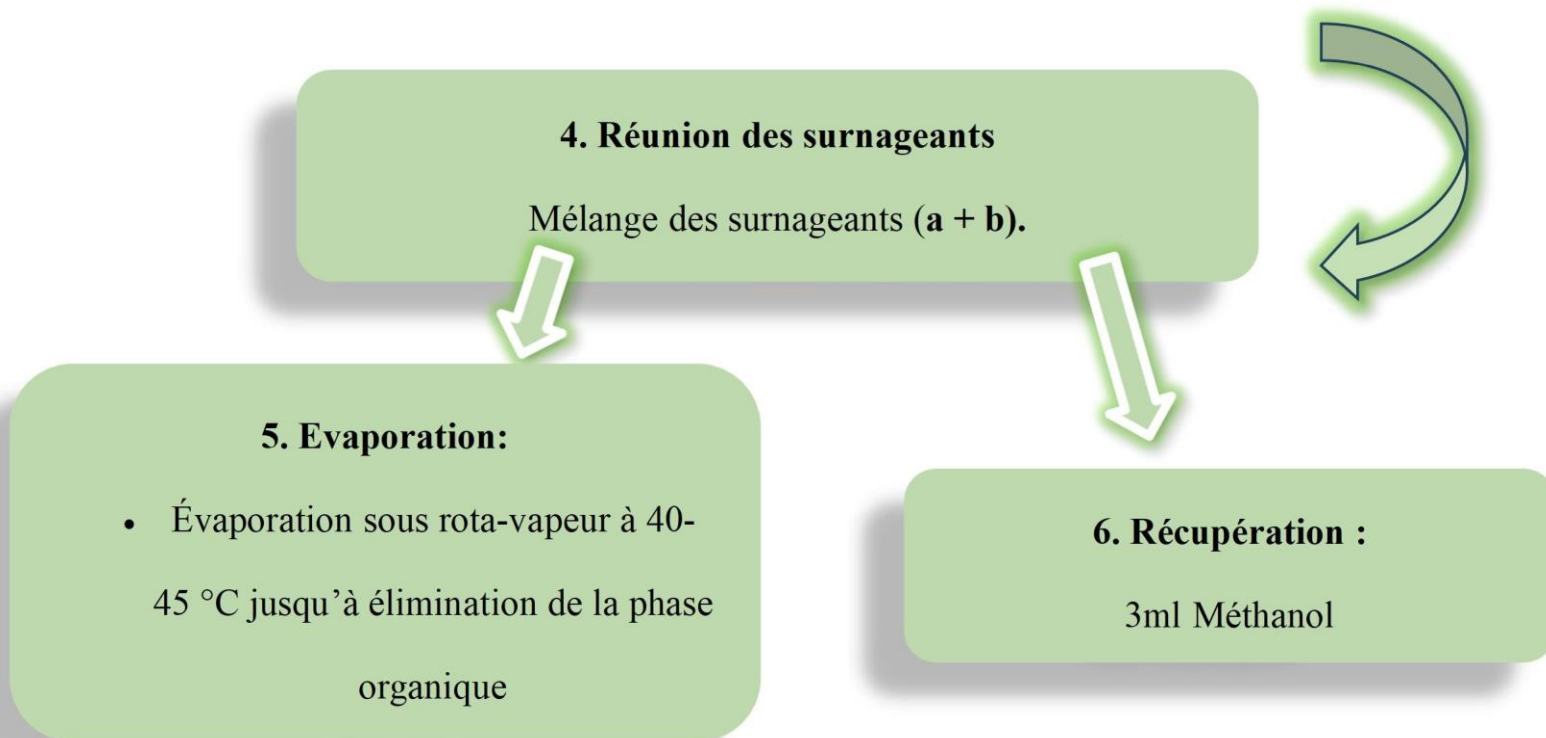
2- Centrifugation :

(6000 tours/min (20 min))

→ récupération du surnageant **a**.

3. Seconde extraction :

- Ajout de 40 ml du même solvant
- Agitation + centrifugation



obtenus ont été récupérés dans 3ml de méthanol (Figure 6) (Jimoh *et al.*, 2010).

Figure 6 : Protocole d'extraction des polyphénols (Jimoh *et al.*, 2010).

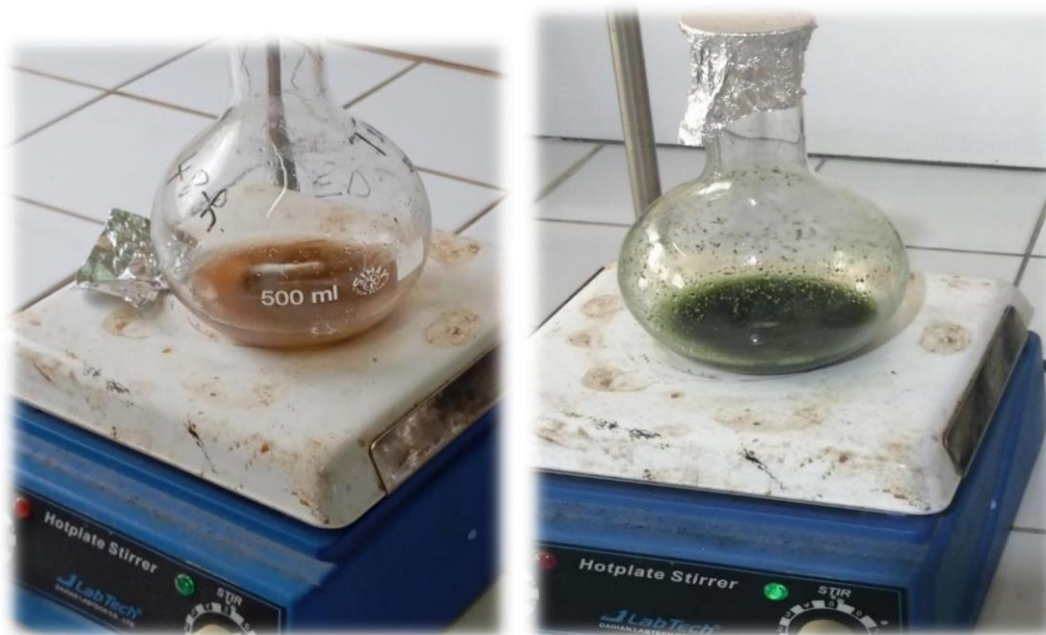
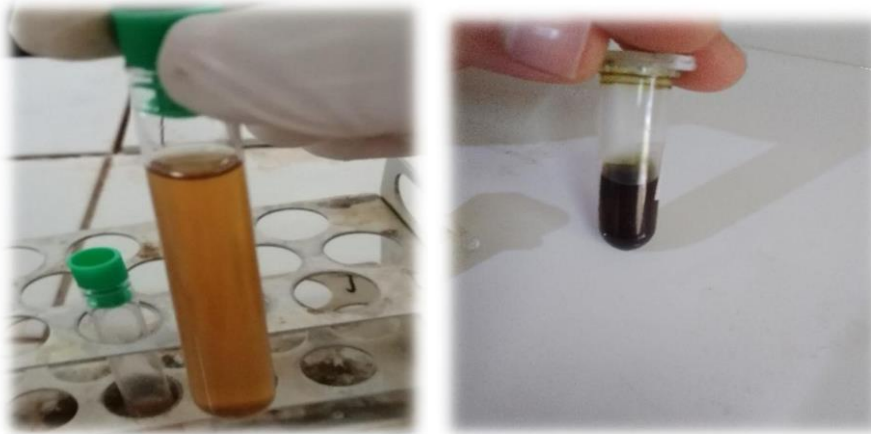


Photo 6: Etape d'agitation. (Tlemcen, 2025).**Photo 7 :** Extraits phénoliques des parties aériennes et racinaires d'*Echium confusum* (Tlemcen, 2025).

2. Dosage des composés phénoliques

2.1 Dosage des polyphénols :

Selon Singleton et Rossi, 1965 ; l'évaluation de la teneur totale en phénols dans les extraits a été effectuée par spectrophotométrie en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'acide phosphotungstique ($H_2PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_2PMo_{12}O_{40}$) et présente une couleur jaune naturelle. Lorsque les phénols s'oxydent, une réaction de réduction se produit, produisant un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La couleur ainsi produite, dont l'absorption est mesurée à 760 nm, est directement proportionnelle à la quantité de phénols présente dans l'extrait végétal.

-Mode opératoire:

- Combiner 100 μ l de chaque extrait avec 2000 μ l de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 2%).
- Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
- Incorporer 100 μ l du réactif Folin-Ciocalteu à 1N.
- Le mélange a été laissé à incuber pendant 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante.

- Lecture à 760 nm pour évaluer l'absorbance par rapport à un échantillon de référence.

Nous avons effectué une courbe de calibration ($y = a.x + b$) simultanément dans des conditions identiques, en utilisant diverses concentrations d'acide gallique.

- Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols de l'extrait sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

2.2 Dosage des Flavonoïdes :

D'après **Djeridane *et al.*, 2006**, La quantification des flavonoïdes s'effectue grâce à la technique du réactif de chlorure d'aluminium, ce dernier créant un complexe jaune avec les groupements hydroxyles présents dans les flavonoïdes.

- Mode opératoire:

- Ajouter 250 μ l de l'extrait à 1000 μ l d'eau distillée et 75 μ l du réactif (NaNO_2 à 15 %). Incubez le mélange pendant 6 minutes à température ambiante, puis ajoutez 75 μ l du réactif chlorure aluminium AlCl_3 à une concentration de 10%.
- Après 6 min, ajouter 1000 μ l d'hydroxyde de sodium NaOH (4%), ajouter 100 μ l d'eau distillée.
- Incubez le mélange à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes.
- Lecture de l'absorbance en comparaison avec un échantillon blanc à 510nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=a.x + b$) a été élaborée simultanément dans les mêmes conditions de fonctionnement, en utilisant la catéchine à diverses concentrations comme référence.

- Expression des résultats:

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été exprimées en milligramme équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

2.3 Dosage des tanins condensés :

Les tanins condensés subissent une dépolymérisation sous l'effet de l'acide sulfurique, se transformant en anthocyanidols rouges en réagissant avec la vanilline, ce qui permet de les quantifier par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 500 nm (**Sun *et al.*, 1998**). Par

conséquent, la méthode de quantification des tanins repose sur la réaction avec la vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto, 1985**).

- Mode opératoire

- On ajoute 50 µl de l'extrait phénolique à 1500 µl de la préparation de vanilline/méthanol (4%, m/v).
- Agiter le mélange en utilisant un vortex.
- On incorpore 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) et on laisse le mélange réagir à température ambiante pendant une vingtaine de minutes.
- L'absorbance est évaluée en comparaison à un échantillon de référence à la longueur d'onde de 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations.

2.4. Dosage des terpénoïdes :

La quantité globale de terpénoïdes présente dans les extraits d'*Echium Confusum* (partie aérienne et racines) a été mesurée en suivant la technique de (**Ghorai et al., 2012**).

- Ajout du chloroforme : Pour chaque millilitre d'extraits, incorporation de 2 ml de chloroforme.
- Agiter : Mélanger soigneusement à l'aide d'un vortex
- Repos : Le mélange est laissé au repos pendant 3 minutes.
- Ajout de l'acide sulfurique : 200 µl d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) sont ajoutés au mélange.
- Incubation : Le mélange est incubé à température ambiante pendant 1,5 à 2 heures, dans l'obscurité.
- Décantation du surnageant : Retrait du surnageant sans perturber le précipité.
- Ajout du méthanol : Incorporation de 3 ml de méthanol absolu.
- Dissolution : agiter jusqu'à dissolution complète du précipité dans le méthanol.
- Mesure l'absorbance : Lecture à 538 nm avec un spectrophotomètre visible (V730 UV-Vis Spectrophotomètre, Jasco, USA).

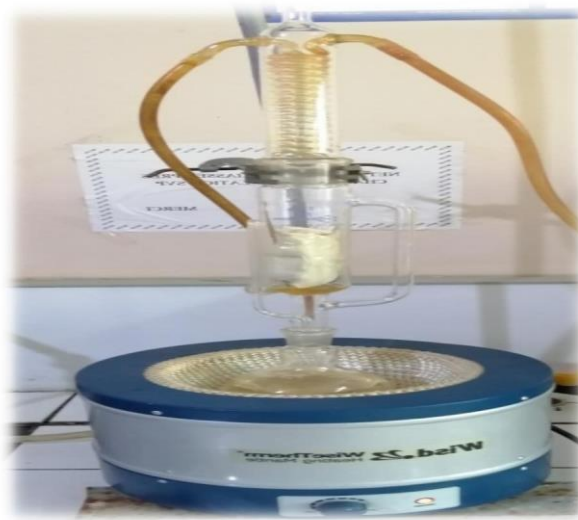
La TTC des extraits a été calculée en mg de linalol par gramme d'extrait (poids sec, MS).

L'équation de la courbe standard était : $Y = 0,0036x - 0,001$, avec $R^2 = 0,9927$.

3.Mode d'extraction appliqué aux racines de la plante *Echium confusum* :

3.1. Extraction des terpénoïdes par Soxhlet des racines (extraction à chaud) :

Dans cette étude, une extraction par Soxhlet (photo 8) a été effectuée pendant six heures afin d'optimiser la récupération des terpénoïdes présents dans les racines. Une cartouche contenant 25 g de poudre de racine a été utilisée, tandis qu'un mélange de 200 ml d'hexane et 200 ml d'acétone a servi de phase d'extraction. Suite à cette phase, les solvants ont été éliminés par un rotavap (évaporateur rotatif), et l'extrait brut obtenu a été recueilli grâce à l'éthanol. Cette approche vise à maximiser l'efficacité de l'extraction tout en préservant l'intégrité des principes actifs (**Hammoudi et al., 2023**).



Photos 8 : Extraction des racines par Soxhlet (**Tlemcen, 2025**).

3.2. Extraction à froid par macération (hexane/acétone) :

On a effectué une macération pendant 10 jours en employant 25 g de poudre de racines, immergés dans un mélange de 125 ml d'acétone et 125 ml d'hexane, dans un flacon hermétiquement fermé. Suite à cette phase, les solvants ont été éliminés par un rotavap (évaporateur rotatif), et l'extrait brut obtenu a été recueilli grâce à l'éthanol (**Hammoudi et al., 2023**).

4. Activité hémolytique :

L'activité hémolytique désigne la capacité d'un extrait ou d'une molécule à induire la lyse des globules rouges, provoquant la libération de l'hémoglobine. Ce phénomène résulte généralement d'une altération de la membrane cellulaire, due à des composés bioactifs comme les phénols.

Ce test est utilisé *in vitro* pour évaluer la toxicité membranaire d'extraits naturels. Une activité hémolytique faible suggère une bonne biocompatibilité, tandis qu'une activité élevée peut signaler une cytotoxicité non spécifique.

Dans le cadre des études sur les plantes médicinales, ce test est essentiel pour apprécier la sécurité d'utilisation thérapeutique des extraits

5. Évaluation de l'activité anti-hémolytique :

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, des extraits terpéniques a été effectuée par la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges.

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des globules rouges (GRh), induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique *et al.*, 1989 ; Oyedapo *et al.*, 2010).

- Échantillon de sang humain:

Des échantillons de sang frais (environ 8 ml) ont été récupérés dans des tubes héparinés, au niveau du laboratoire, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires sains (20-40 ans).

- Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh) :

Les différents échantillons de sang humain récupérés sont centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min, afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires. Ensuite, le culot de globules rouges est lavé trois fois, avec un volume équitable de solution iso saline. Après cette étape, le surnageant est remplacé par un même volume d'une solution tampon phosphate saline (PBS à 0.9%) et utilisé immédiatement.

- Mode opératoire:

- Solubilisation de l'HE : L'HE est dissoute dans du DMSO.

- Préparation du mélange : Ajout de 1,5 ml de tampon phosphate PBS (0,9% NaCl, pH = 7,4) et 2 ml d'une solution hypo-saline (0,36% NaCl) à 0,5 ml des différentes concentrations de HE (18.75, 37.5, 75, 150 et 300 µg/ml).
- Première incubation : À 37°C pendant 20 min.
- Ajout de la suspension érythrocytaire : Incorporation de 0,5 ml de suspension érythrocytaire à 10 % préparée dans du PBS (molarité 10^{-3} M, pH = 7,4).
- Deuxième incubation : À 56°C pendant 60 min.
- Refroidissement : Les tubes sont refroidis dans l'eau courante après l'incubation.
- Centrifugation : Les échantillons sont centrifugés à 2500 tours/min pendant 10 min.
- Lecture des densité optiques (DO) : Mesure à 54 avec un spectrophotomètre.
- Contrôle de l'hémolyse totale : Un contrôle contenant 2 ml de suspension érythrocytaire est incubé avec 2 ml de PBS et 2 ml de NaCl pour représenter 100 % d'hémolyse.
- Standard utilisé : L'acide ascorbique (18,75 - 300 µl/ml) est testé dans les mêmes conditions.
- Répétition des essais : Trois essais sont réalisés pour chaque concentration afin de confirmer les résultats

Expression des résultats : Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de la formule suivante

$$\% I = (Ac - At / Ac) \times 100.$$

Où :

%I : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse **Ac** :

Absorbance de contrôle.

At : Absorbance de test

6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) :

Principe :

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits synergiques éthanoliques et aqueux a été évalué en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. Un des facteurs reconnus de l'inflammation est la dénaturation des protéines, susceptible de provoquer différentes maladies inflammatoires. L'arrêt de cette dénaturation par des extraits végétaux est donc perçu comme un signe sûr de leur capacité antiinflammatoire (**Habibur *et al.*, 2015 ; Osman *et al.*, 2016**).

L'objectif est de prévenir la dénaturation du BSA, qui se réalise à une température de 72°C, grâce aux extraits naturels.

-Mode opératoire:

- On prépare une gamme de concentrations pour chaque extrait synergique, variant de 0 à 10 mg/ml. On ajoute 1 ml d'une solution de BSA à 0,2 % préparée dans un tampon TrisHCl (0,05 M, pH 6,6) à chaque dilution d'1mL.
- Les mélanges sont placés en incubation à une température de 37 °C pendant un quart d'heure, puis à 72 °C pour une durée de cinq minutes.
- À la suite de l'incubation, le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un vortex puis refroidi rapidement. On mesure la turbidité à 660 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.
- Un blanc est préparé pour chaque concentration (1 ml d'extrait + 1 ml de TrisHCl) dans le but d'éliminer l'absorbance propre à l'extrait.
- Dans les mêmes conditions expérimentales, le diclofénac sodique est employé comme un traitement anti-inflammatoire standard.

Calcul de l'inhibition:

$$\text{Inhibition\%} = [(\text{DO Contrôle (0)} - \text{DO Échantillon(t)}) / \text{DO Contrôle (0)}] \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA.
- **DO Échantillon** : Absorbance de l'échantillon ou du standard.
- **DO Contrôle** : Absorbance de la BSA seule avec Tris-HCl.

Expérience *in vivo* :

Afin de confirmer l'effet anti-inflammatoire des terpénoïdes des racines d'*E. confusum*, nous avons tester l'activité anti-inflammatoire sur un modèle animal (**Fehrenbacher *et al.*, 2012**).

1. Préparation de la carraghénane:

Préparation de carraghénane de 0,5 % à 2,0 % (p/v) dans un bécher d'un litre, versez 500 ml de solution saline stérile à 0,9%, puis incorporez un barreau d'agitation. Dans le bécher, incorporez progressivement 2,5 g (0,5 %) à 10,0 g (2,0 %) de poudre de carraghénane (type IV Lambda, Sigma). Chauffer la solution à 90 °C en remuant, sans la faire bouillir. La carraghénane se dissout en chauffant le mélange. La poudre doit se dissoudre complètement en moins d'une heure. Transfère de la solution dans une bouteille en verre propre d'un litre équipée d'un couvercle et la stériliser au moyen d'un autoclave. Refroidir la solution à température ambiante avant de la répartir dans des flacons stériles de 100 ml soigneusement bouchés. Cette solution demeure stable pour au moins une semaine si elle est gardée à 4 °C après sa préparation

(**Fehrenbacher *et al.*, 2012**).

2. Les rats utilisè:s:

Des rats albinos Wistar (âgés de 11 à 12 semaines) pesant entre 200 et 250 g ont participé à la manipulation. Ils ont été maintenus dans des conditions environnementales standard, dans des cages en plastique, à température normale et soumis à un cycle lumière-obscurité de 12 heures, avec un accès illimité à une alimentation standard en granulés et à de l'eau à volonté. Afin de minimiser le stress, les animaux ont été acclimatés aux conditions de laboratoire avant le début de l'expérience, et ce pour toutes les procédures. Les animaux utilisés dans cette étude ont été traités conformément aux directives internationales standard pour l'utilisation des animaux de laboratoire (**Couto et Cates., 2019**).

Les expériences ont été menées sur 12 rats femelles Wistar Albinos. Les rats ont été adaptés à l'environnement de laboratoire, pesés et identifiés avant d'être placés en période de jeûne de 16 heures durant la nuit précédant l'expérience. Par la suite, ils ont été répartis en trois classes :

- **Groupe contrôle en bonne santé (n=4)** : soumis à une solution de NaCl 0,9% en fonction du poids de chaque rat.

- **Groupe administré du diclofénac (n=4)** : traitement par gavage avec 100mg de diclofénac.

- **Groupe soumis à un traitement avec l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum* (n=4)** : 100mg/kg dissous dans une solution de NaCl à 0,9%.

3. Induction de l'inflammation:

*** Préparez les seringues pour les injections dans le coussinet plantaire (la patte gauche arrière) :**

Solution saline : Pour chaque animal, une seringue stérile de 1 ml équipée d'une aiguille de calibre 27 G (1/2 po) doit être remplie avec 100 µl de solution saline stérile. Carraghénane : Pour chaque animal, veuillez préparer une seringue stérile de 1 ml équipée d'une aiguille de calibre 27 G (1/2 po) en la remplissant avec 100 µl de solution de carraghénane.

*** Placer les rats dans des cages.**

Dès que les animaux ne réagissent plus avec leur réflexe de redressement, il faut désinfecter la partie inférieure du coussinet plantaire à l'aide d'éthanol à 70 %. Insérer l'aiguille, bic orienté vers le haut, dans la zone métatarsienne de la patte arrière (près des callosités distales), quasiment en parallèle avec le coussinet Plantaire, puis administrer la solution (100 µl de carraghénane ou de solution saline). Positionner délicatement le pouce sur le coussinet de la plante du pied tout en retirant l'aiguille et maintenez la pression pendant une dizaine de secondes. Après l'injection, replacez le rat dans sa cage. Procédez à la répétition de l'injection pour chaque animal (**Fehrenbacher *et al.*, 2012**).

4. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait :

Œdème de la patte provoqué par la carraghénane :

L'inflammation aiguë a été provoquée par l'administration de carraghénane (1 % p/v de carraghénane dans une solution saline standard, 100 μ L) dans la patte arrière des rats. Avant l'initiation de l'inflammation, la patte a été annotée à l'aide d'encre au niveau de la malléole latérale.

Chaque groupe de rats a reçu une injection de carraghénane une heure après l'administration orale de l'extrait brut (ou des fractions de solvant), du véhicule et du médicament standard. L'inflammation a été quantifiée en millilitres par le biais d'un pléthysmographe numérique, en mesurant le volume de l'œdème, aux intervalles 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 heures suivant l'administration de carraghénane (Yimer *et al.*, 2020).



Photos 9 : Induction de l'inflammation expérimentale par la carraghénane. (Tlemcen 2025).

L'équation ci-dessous permet d'obtenir le volume de l'œdème à un instant précis (V_T) :

$$V_T = V_t - V_0$$

V_0 : Volume initial de la patte avant l'injection de carraghénane pour induire un œdème.

V_t : Volume de la patte à temps (t) à la suite de l'administration de carraghénane.

L'évaluation du développement de l'œdème se fait par le calcul du pourcentage d'augmentation (%AUG) à l'aide de la formule suivante : (John *et al.*, 2021).

$$\%AUG = [(V_t - V_0) / V_0] \times 100$$

On évalue l'activité anti-inflammatoire en calculant le pourcentage d'inhibition (%INH) de la patte à l'aide de la formule suivante : (John *et al.*, 2021).

$$\text{INH (\%)} = [(\text{AUGtm (\%)} - \% \text{AUGtt}) / \text{AUGtt (\%)}] \times 100$$

AUGtm (%) : Pourcentage d'accroissement du groupe carraghénane.

AUGtt (%) : Pourcentage d'accroissement du groupe soumis au traitement.

Résultats et discussion

Cette partie est consacrée à nos résultats et à leur discussion. Elle est divisée en deux parties fondamentales dont la première traite les tests *in vitro*. Dans la deuxième partie, les résultats de l'étude *in vivo* seront présentés.

Expériences in vitro

5. Rendement de l'extrait brut (parties racine et aérienne)

Un rendement de 12% a été enregistré lors de l'extraction des composés phénoliques à partir des racines d'*Echium confusum*. Ce qui dépasse légèrement le rendement enregistré pour les racines d'*Echium trygorrhizum Pomel*, qui a enregistré un rendement dans l'extrait hydro-méthanolique de 10,76% (Nouri., 2023). Cette variation souligne une particularité diversifiée du métabolisme secondaire, principalement au niveau des organes souterrains.

Nous avons également trouvé un rendement de 23,28% de l'extraction des composés phénoliques à partir des parties aériennes, ce qui est extrêmement haut par rapport aux travaux antérieurs sur d'autres espèces de la famille des Boraginaceae. Notamment, *Héliotropisme europium* a démontré des taux significativement plus bas avec les solvants fréquemment employés : 16,51% pour le méthanol pur et 20,12% pour l'eau (Cennet., 2023).

L'avantage du rendement hydro-acéto-méthanolique pourrait être attribué à l'interaction synergique entre le méthanol, l'acétone et l'eau, qui augmente la capacité de solubilisation et de diffusion des métabolites secondaires polaires tels que les flavonoïdes et les phénols et les tanins.

6. Teneurs en composés phénoliques:

En se basant sur la valeur d'absorbance de la solution d'extrait et en comparaison avec la solution standard, l'analyse colorimétrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins condensés et terpénoïdes est exprimée en milligrammes équivalents (standard) par gramme de matière végétale sèche (Mg standard E/g MS), à

l'aide de l'équation de régression linéaire établie à partir du standard correspondant, soit l'acide gallique, la catéchine ou l'acide linalol.

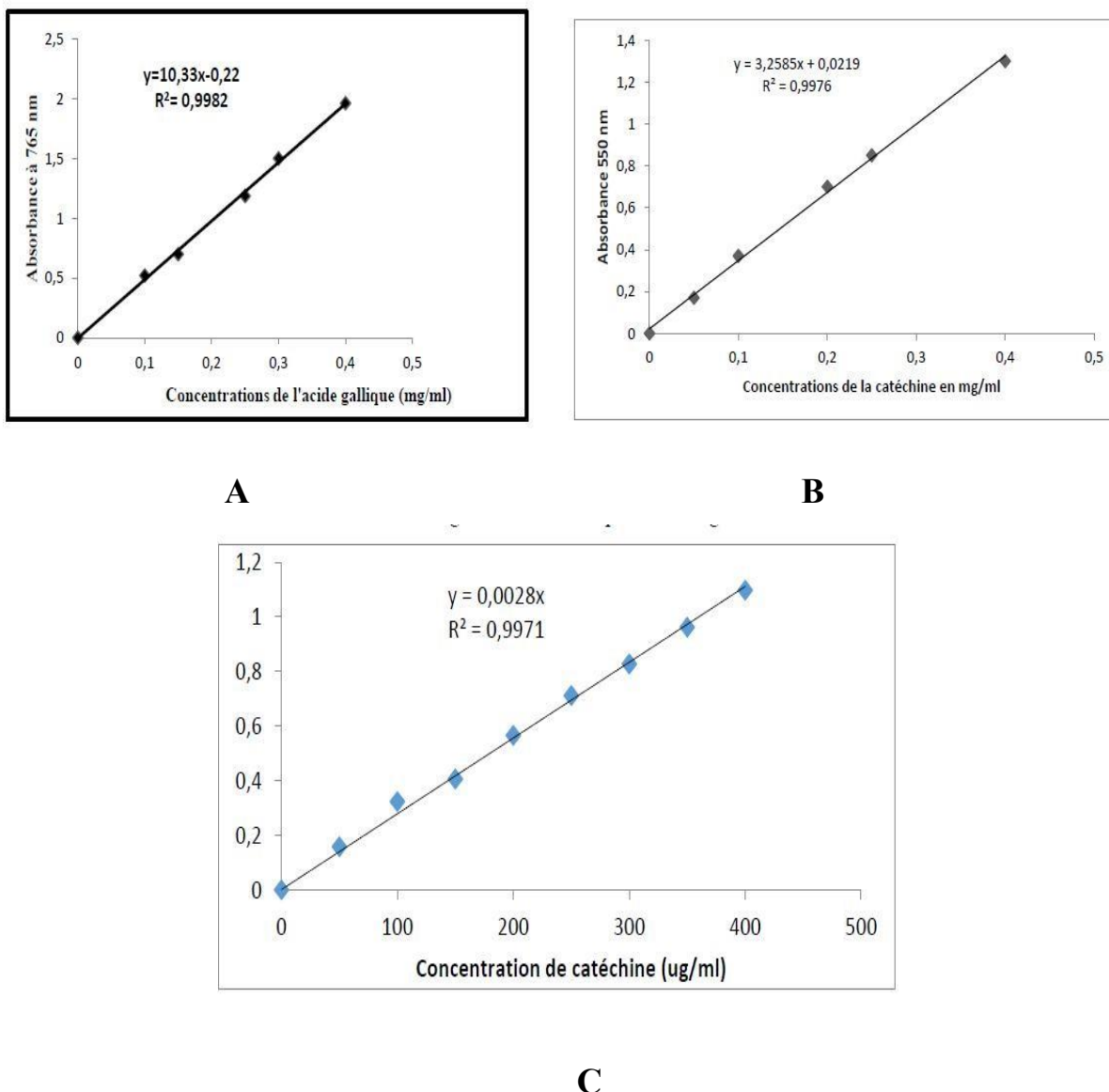


Figure 6 : Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux(A), de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (BC).

Selon les résultats illustrés dans le tableau, nous découvrons la richesse des racines d'*E. confusum* en divers composés : 29,19 mg EAG/g MS pour les composés phénoliques, 85,21 mg EC/g MS pour les flavonoïdes et le manque des tanins

condensés de 0,055 mg EC/g MS. De plus, le taux de terpénoïdes est de 59,333 mg EL/g MS.

Et des parties aériennes d'*E. confusum* en divers composés : 30 mg EAG/g MS pour les composés phénoliques, 87,84 mg EC/g MS pour les flavonoïdes et 0,125 mg EC/g MS pour les tanins condensés, quant aux terpénoïdes de la partie aérienne, dans notre expérience nous n'avons pas trouvé.

Tableau 5 : Résultats des dosages des polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et terpénoïdes

<i>Echium confusum</i>	Polyphénols (mg EAG/gMS)	Flavonoïdes (mg EC/g MS)	Tanins condensés (mg EC/g MS)	Terpénoïdes (mg EL/g MS)
Partie racinal	29,19	85,21	0,055	59,333
Partie aérienne	30	87,84	0,125	/

Dans notre recherche, nous avons obtenu une concentration de phénols totaux (29,19 mg EAG/g MS) qui est notablement plus basse que celle indiquée dans d'autres travaux (157,403 mg EAG/g MS). Toutefois, le niveau de tanins condensés (0,055 mg EC/g MS) est significativement plus bas que celui rapporté dans les travaux de (Nouri., 2023), avec une valeur de l'ordre de 65,293 mg/g.

L'évaluation quantitative des terpènes totaux dans les racines d'*Echium confusum* a mis en évidence une concentration élevée de 59,333 mg EL/g MS, indiquant une abondance significative en composés terpéniques. Par conséquent, même s'il est difficile de réaliser une comparaison directe en raison de l'absence de données spécifiques pour *Echium* ou les Borraginacée en général, le résultat obtenu dans cette recherche peut être jugé élevé et susceptible d'avoir un intérêt d'un point de vue pharmacologique. Il serait pertinent d'approfondir par une caractérisation plus précise des types de terpènes présents.

Pour la partie aérienne la concentration de polyphénols mesurée (30 mg EAG/g MS) était moins élevée que celle observée dans les extraits méthanolique (42,01 mg EAG/g MS) et aqueux (33,11 mg EAG/g MS). Cette variation peut être due à l'efficacité du solvant utilisé, le méthanol est connu pour sa capacité à dissoudre une large gamme de composés phénoliques. Par ailleurs, la concentration en flavonoïdes (85,21 mg EC/g MS) est bien plus élevée que celle obtenue avec l'extraction au méthanol (38,14 EC/g MS) et à l'eau (27,45EC/g MS) (**Cennet., 2023**). Cela indique que la concentration de ces composés est plus élevée dans notre extrait. Plusieurs facteurs pourraient justifier cette variation : spécificité de l'espèce (*Echium confusum* par rapport à d'autres espèces du genre *Echium*), l'organe utilisé de la plante, les conditions environnementales, ou encore la technique et le solvant d'extraction utilisés.

L'étude de (**Thouri et al., 2017**), a démontré que les extraits aqueux éthanoliques, présentant des concentrations plus élevées en phénols, flavonoïdes et tanins condensés que les extraits acétoniques, ce qui met en évidence l'efficacité des solvants polaires pour l'extraction.

La détermination de la concentration des terpénoïdes est basée sur leur capacité à se dissoudre dans des solvants organiques, une caractéristique qui dépend de leur structure chimique. Les terpénoïdes, spécialement ceux qui possèdent des groupes fonctionnels polaires comme les hydroxyles, montrent une solubilité augmentée dans les solvants polaires. On attribue cette meilleure solubilité à l'interaction favorable entre le groupe hydroxyle du thymol et les solvants de nature polaire (**Sérgio et al., 2023**).

Suite à ces résultats, nous nous sommes intéressés à l'extraction des terpénoïdes des racines par deux méthodes à chaud et à froid afin d'optimiser la bonne méthode d'extraction.

7. Rendement de l'extraction des terpénoïdes :

Tableau4 : les rendements de l'extraction des terpénoïdes par Soxhlet et macération.

	Le rendement en (%)
Extraction des terpénoïdes à chaud par Soxhlet	32%
Extraction des terpénoïdes à froid par macération	11.32%

Les résultats illustrés dans le tableau 4, montrent que l'extraction des terpénoïdes à chaud (32%) a donné un meilleur résultat que celle à froid (11.32%). Ceci peut être expliqué par le fait que le Soxhlet utilise un solvant chauffé ce qui accélère la solubilisation des composés et augmente la diffusion des métabolites secondaires de la matrice végétale vers le solvant. À l'inverse, la macération à froid est plus lente, car la température ambiante limite les échanges.

En raison des résultats de rendement obtenus pour les deux méthodes, nous avons opté pour l'extrait au meilleur rendement pour continuer notre travail.

8. Test de cytotoxicité de l'extrait des racines d'*Echium confusum* :

Selon (Farag et Alagawany., 2018). Les érythrocytes constituent le modèle cellulaire par excellence pour étudier les effets des médicaments sur la membrane plasmique. Toute substance capable d'altérer la membrane des érythrocytes peut également produire des effets similaires sur les membranes d'autres types de cellules (Jiang *et al.*, 2016).

L'évaluation du potentiel hémolytique a été effectuée car, bien qu'une plante puisse avoir des propriétés antioxydantes ou anti-inflammatoires, son emploi en médecine traditionnelle et dans les formulations pharmaceutiques serait impossible si elle présentait un effet hémolytique, indicateur de cytotoxicité (Nouri., 2023).

Pour chaque concentration, le taux d'hémolyse est déterminé en analysant l'absorbance de l'hémoglobine libérée par les globules rouges lors de l'hémolyse, et ce, en comparaison avec le contrôle négatif et le contrôle positif. Les résultats affichés sont montrés dans la figure 7.

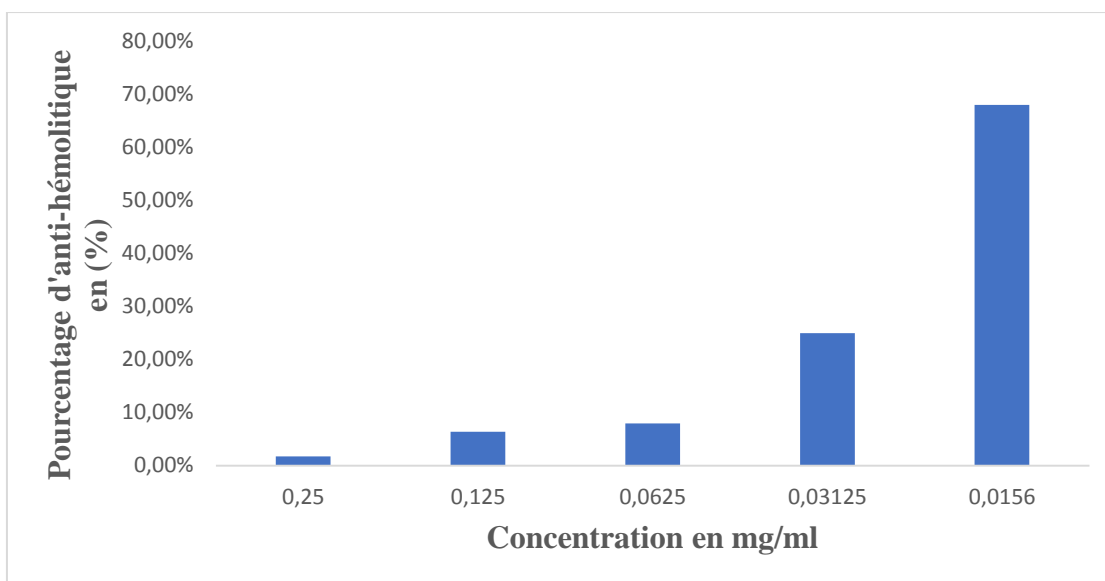


Figure 7 : Test de cytotoxicité de l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum*

Les résultats de l'étude indiquent que l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum* présente un effet hémolytique sur les globules rouges.

Nos résultats suggèrent que l'extrait possède une activité anti-hémolytique significative à faibles concentrations. Toutefois, l'effet inverse observé à forte concentration mérite d'être exploré pour mieux comprendre le profil pharmacologique de l'extrait dose-réponse inversé.

Ce type de réponse peut indiquer un effet biphasique, à faible dose, l'extrait stimule des mécanismes protecteurs. À haute dose, il pourrait devenir cytotoxique ou déstabiliser les membranes érythrocytaires.

Par rapport aux résultats de l'étude de (Harouat et Hattab, 2024), qui ont travaillé sur l'extrait brut des feuilles d'*Echium plantagineum* L., qui ont démontré une activité hémolytique dose dépendante. En effet, le pourcentage d'hémolyse passe de 2,9 % à 0,156 mg/ml à 74,7 % à 12,5 mg/ml.

Nous concluons que, l'extrait de *E. confusum* présente une activité plus marquée à faible concentration, tandis que *E. plantagineum* montre un effet hémolytique direct et dose-dépendant. Ces résultats suggèrent des propriétés cytotoxiques modulées différemment selon l'espèce et la partie végétale étudiée.

9. Activité anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation thermique des protéines BSA) :

La dénaturation des protéines a été identifiée comme la principale cause de l'inflammation dans les tissus vivants endommagés. Cette inflammation se manifeste par des symptômes tels que rougeurs, douleurs, chaleur, gonflement et perte de fonction dans la zone affectée. Il apparaît donc que les composés capables de prévenir ces changements et d'inhiber la dénaturation des protéines liée à la chaleur ont un potentiel thérapeutique en tant qu'agents anti-inflammatoires. Les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens sont largement utilisés pour traiter les maladies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde et d'autres maladies infectieuses. Ils agissent en se liant à l'albumine plasmatique pour empêcher ou inhiber sa dénaturation thermique. Il est donc essentiel d'explorer d'autres sources d'anti-inflammatoires d'origine végétale (**Yvonne et al., 2017**).

D'après (**Williams et al., 2008**). Il a été suggéré de stabiliser la BSA traitée thermiquement avec des AINS comme alternative à l'utilisation d'animaux dans les premières étapes du criblage des anti-inflammatoires non stéroïdiens. La figure suivante présente la variation du taux de protection contre la dénaturation thermique de la BSA en fonction des différentes concentrations des composés phénoliques extraits des racines d' *Echium confusum*. Ces résultats sont ensuite comparés à ceux obtenus avec le diclofénac, considéré comme molécule de référence.

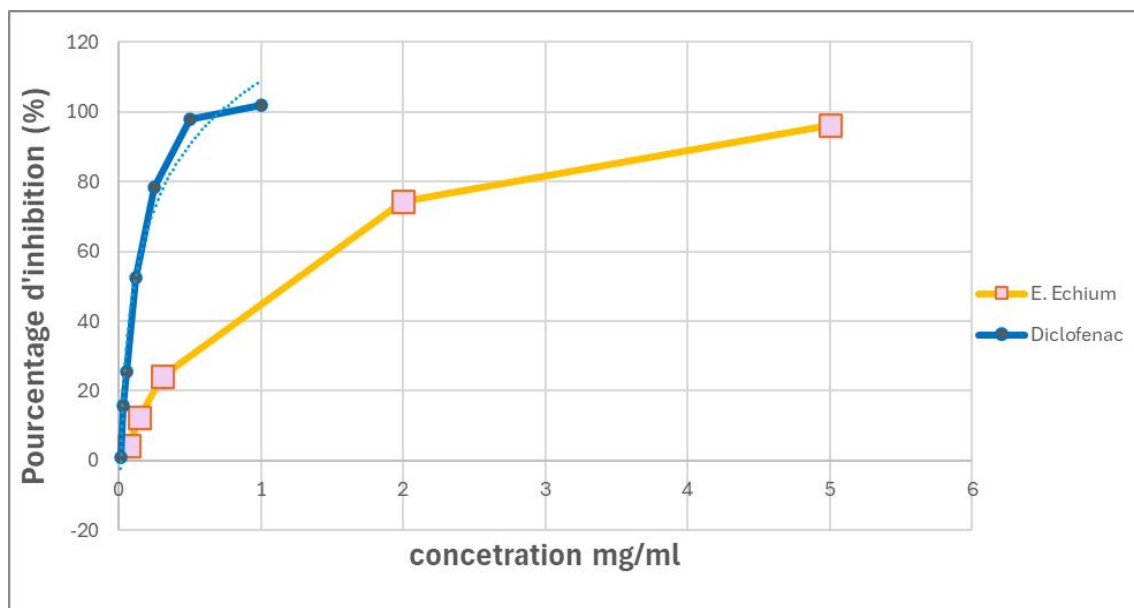


Figure 8 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA des racines d'*E. confusum*.

Le test a utilisé des solutions de différentes concentrations d'extrait terpénique des racines d'*E. confusum* (0,07-5 mg/ml) et de l'anti-inflammatoire Diclofénac (0,015-1 mg/ml).

Les courbes de la figure 8 indiquent une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par l'extrait phénolique des racines d'*E. confusum*. À une concentration de 1 mg/ml, le diclofénac a montré une inhibition maximale de 100% de la dénaturation du BSA. En comparaison, l'extrait étudié a montré un pourcentage d'inhibition de 96,35% de la dénaturation du BSA à une concentration de 5 mg/ml.

Les données du tableau indiquent la capacité anti-inflammatoire de l'extrait, mesurée en fonction de l'IC50, qui correspond à la concentration requise pour réduire de 50 % la dénaturation du BSA.

Tableau 6 : Valeurs des IC₅₀ des extraits des racines d'*Echium confusum*.

Plante étudiée	IC ₅₀ (mg/ml)
<i>E. confusum</i>	0,72
Diclofénac	0,10

Selon les données recueillies et présentées dans le tableau 6, il est observé que l'IC₅₀ de l'extrait de l' *E. confusum* est de 0,72 mg/ml, ce qui est significativement plus élevé que celui du Diclofénac qui est de 0,10 mg/ml. Il peut être conclu que l'extrait terpénique utilisé présente une faible activité anti-inflammatoire par rapport au Diclofénac.

Par rapport aux résultats de (**Harouat et Hattab, 2024**) ; IC₅₀ de l'extrait de l' *E. plantagineum L.* est de 1,44 mg/ml largement supérieure par rapport au Diclofénac avec un IC₅₀ de 0,108 mg/ml.

Nous concluons que l'extrait d'*E. Confusum* (IC₅₀ = 0,72 mg /g) est plus actif que d'*E.plantagineum* (IC₅₀= 1,44 mg/g), mais les deux restent moins puissant que le diclofénac.

Expériences in vivo

Activité anti-inflammatoire :

L'inflammation induite par la carraghénane chez le rat se manifeste par une importante formation d'œdème, provoquée par la libération de divers médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et la bradykinine. Cette réaction est renforcée par la production de prostaglandines et d'oxyde nitrique par les isoformes inductibles de la cyclooxygénase (COX-2) et de l'oxyde nitrique synthétase (iNOS) respectivement, comme décrit par (**Passos *et al.*, 2007**).

L'administration de carraghénane a entraîné une augmentation notable et rapide du volume de la patte injectée, persistante, démontrant ainsi le succès de l'induction de la réponse inflammatoire aiguë.



Figure 10 : Effet de la carragénine sur la progression de l'œdème.

1. Épaisseur de la patte :

Pour prouver l'effet anti-inflammatoire des feuilles d'*E. confusum* *In vivo*, nous avons évalué le gonflement de la patte arrière gauche des rats et synthétisé ces informations dans un tableau.

Tableau 7 : Mesure (mm) de l'œdème inflammatoire de la patte arrière gauche des rats.

	Dose	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
		Avant injection						
Témoin (T)	1%	4,3±0,20	5,91±0,32	6,85±0,55	6,44±0,27	6,23±0,07	5,41±0,19	5,39±0,29
Référence (D)	50 mg/Kg	4,58±0,21	5,19±0,40	5,79±0,13	5,69±0,09	5,55±0,10	5,31±0,10	5,19±0,08
Traité (E.C)	100mg/ Kg	4,35±0,18	6±0,70	6,36±0,33	5,85±0,24	5,3±0,14	5,11±0,11	5,07±0,10

D=Diclofénac

E.C : Extrait des racines d'*Echium confusum*

D'après les résultats de (Kuruuzum-Uz *et al.*, 2012)., de l'évolution de l'œdème inflammatoire (mm) des pattes arrière des rats.

Nous constatons que les deux extraits testés, *E. confusum* et *A. azurea* (famille Boraginaceae), ont été administrés à une dose de 100 mg/kg et ont montré une activité anti-inflammatoire acceptable, mais avec des profils pharmacodynamiques distincts. Concernant *E. confusum* (Lot 3), l'épaisseur initiale de la patte avant inflammation était de 4,35 mm. Trois heures après l'induction de l'inflammation, une augmentation modérée a été observée, atteignant un pic à 5,85 mm. A la 6^e heure, l'œdème avait diminué à 5,07 mm. Ces résultats suggèrent une activité anti-inflammatoire modérée, avec un effet relativement rapide mais une régression partielle de l'œdème.

En revanche, pour *A. azurea* (Lot 3), l'épaisseur initiale était plus élevée (6,91 mm), avec un pic plus marqué d'inflammation à (9,20 mm) après 3h. Cependant une réduction significative a été observée à la 6^e heure, avec une épaisseur réduisant à 6,08 mm).

Ainsi, bien que *A. azurea* présente un pic inflammatoire plus important que *E. confusum* (+2,29 mm contre +1,50 mm), elle induit une réduction plus marquée de l'œdème par la suite (-3,12 mm contre -0,78 mm). Ces observations suggèrent que *A. azurea* agit de manière plus lente, mais avec une efficacité anti-inflammatoire plus prononcée à moyen terme. À l'inverse, *E. confusum* semble exercer un effet plus rapide mais modéré.

A $t=0$ avant l'injection de la carraghénane, l'épaisseur de la patte du groupe non traité était de $4,3 \pm 0,19$. Ce niveau d'inflammation a continué d'augmenter pendant les 6 heures jusqu'à ce qu'il atteigne 25.80% à la 5^{ème} heure (**Figure 11**).

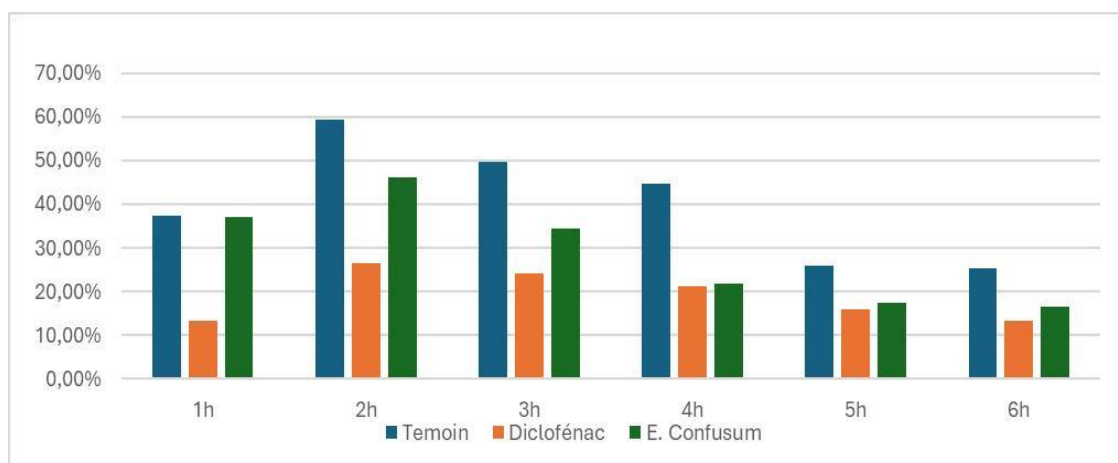
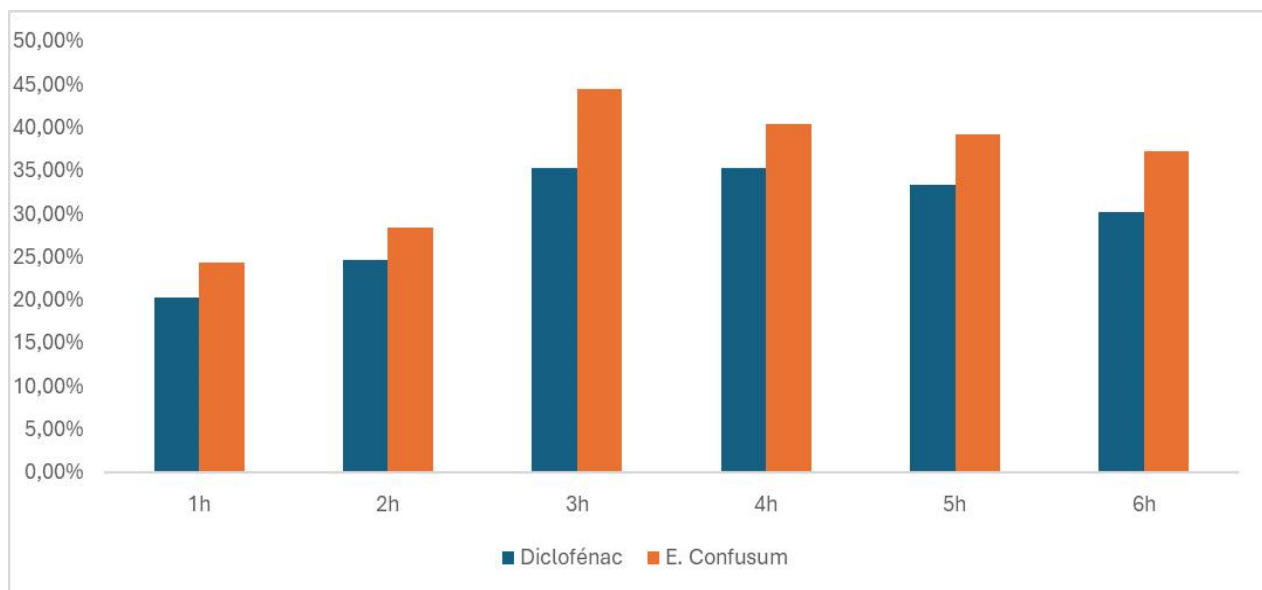
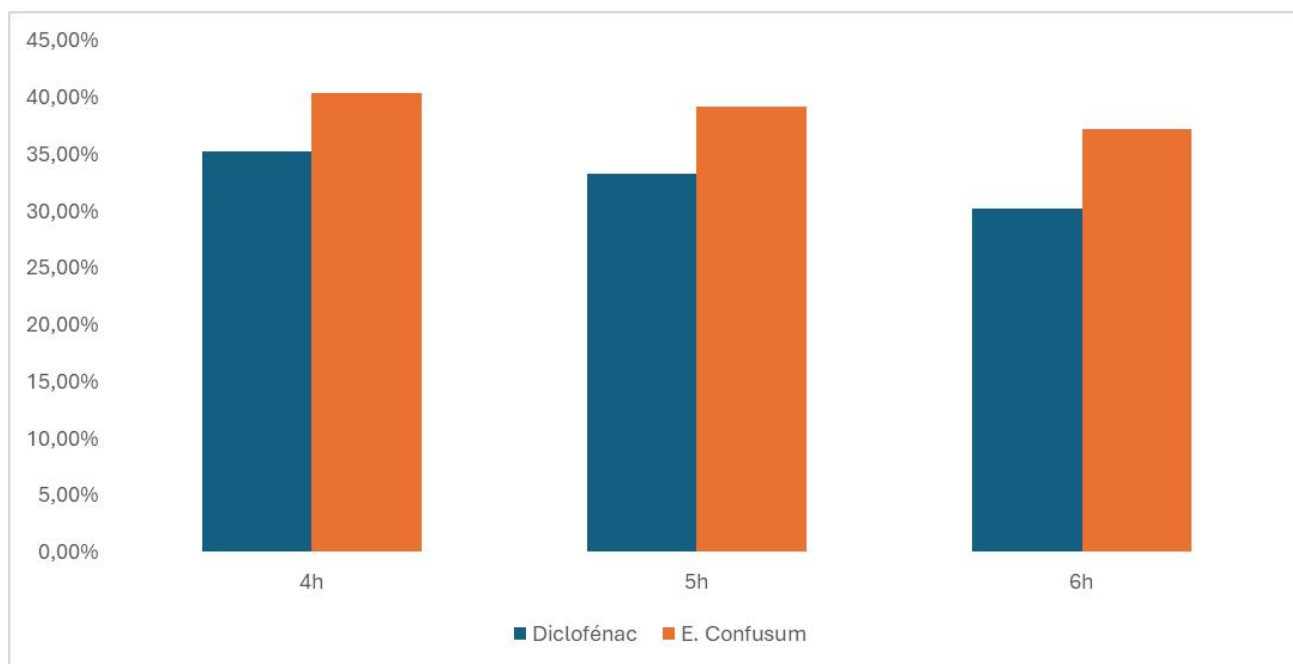


Figure 11 : Pourcentage d'augmentation des œdèmes de la patte des rats traités et non traités.

L'administration par voie orale d'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum* à une dose de 100 mg/kg et de diclofénac à une dose de 50 mg/kg a entraîné une inhibition significative de l'inflammation provoquée par la carraghénane. Cette inhibition a été observée 4 heures après l'administration des substances et a perduré pendant 6 heures. Les mesures du diamètre de l'œdème sont passées de $5,30 \pm 0.14$ mm à $5,07 \pm 0.10$ mm pour l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum*, correspondant à une inhibition de 40,40% à 37,20%. Pour le diclofénac, les mesures sont passées de $5,55 \pm 0.10$ mm à $5,19 \pm 0.08$ mm, avec une inhibition de 35,30% à 30,20%. Les résultats sont présentés dans les figures A et B.



A



B

Figure (A et B) : Pourcentage d'inhibition des œdèmes de la patte des rats traités par le Diclofénac et l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum*.

La réaction inflammatoire provoquée par la carraghénane se déroule en deux phases distinctes : une phase précoce et une phase tardive. L'administration sous-plantaire de carraghénane conduit à la formation d'un œdème local qui augmente progressivement

pour atteindre son pic entre 3 et 5 heures après l'injection. Des études ont montré que la libération d'histamine, de sérotonine et de bradykinine est associée à la phase précoce, tandis que la libération de prostaglandines est généralement observée lors de la phase tardive de l'inflammation induite par la carraghénane (**Ramprasath *et al.*, 2004**).

Dans le cadre de notre étude, l'effet anti-inflammatoire de médicament a été observés à leur intensité maximale 3 heures après l'injection de carraghénane, ce qui correspond à la phase tardive de l'inflammation induite par la carraghénane. Cette observation suggère une possible inhibition de la synthèse des prostaglandines par ce médicament. La cyclo-oxygénase (COX) et la lipoxigénase, enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines, jouent un rôle essentiel dans l'inflammation provoquée par la carraghénane. Les inhibiteurs non sélectifs de la COX, comme l'indométacine, l'ibuprofène et le diclofénac sodique, agissent en inhibant les enzymes COX-1 et COX-2.

Ces médicaments, tels que l'indométacine et le diclofénac, sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) puissants qui présentent une importante activité anti-inflammatoire (**Burke *et al.*, 2006**).

Les polyphénols sont des composés bioactifs présents dans les fruits et légumes, les plantes contribuant à leur couleur, leur saveur et leurs activités pharmacologiques.

Ils sont classés en deux catégories selon leur structure chimique : les flavonoïdes (comme les flavones, les flavonols, les isoflavones, les néo flavonoïdes, les chalcones, les anthocyanidines et les pro anthocyanidines) et les non-flavonoïdes (tels que les acides phénoliques, les stilbénoloïdes et les amides phénoliques). L'inflammation continue est reconnue comme une cause majeure associée à diverses maladies humaines, telles que le cancer, le diabète de type II, l'obésité, l'arthrite, les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires. Les polyphénols d'origine végétale ont démontré une activité anti-inflammatoire à la fois *in vitro* et *in vivo*, mettant en lumière leur potentiel thérapeutique bénéfique dans le traitement de maladies aiguës et chroniques. Leur capacité à réguler la signalisation inflammatoire

en modifiant l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que les cytokines, la lipoxigénase, la cyclo-oxygénase et la synthase d'oxyde nitrique, ainsi que leurs propriétés antioxydantes (telles que la capture des ROS - espèces réactives de l'oxygène), contribuent à l'efficacité de ces composés naturels (**Nour *et al.*, 2018**).

Les terpénoïdes, formés à partir d'isoprène, sont des composés naturels qui sont difficiles à obtenir par synthèse chimique totale. Ils se classent en plusieurs catégories, à savoir les monoterpénoïdes, sesquiterpénoïdes, diterpénoïdes, sesterterpènes, triterpénoïdes et polyterpénoïdes. Ces composés ont récemment suscité un grand intérêt en raison de leurs nombreuses activités biologiques, telles que leurs propriétés anticancéreuses, antioxydantes, antivirales et anti-inflammatoires. Des études ont montré qu'ils sont capables d'inhiber l'expression de l'ICAM-1 induite par le TNF α et de l'oxyde nitrique synthase (iNOS) pour réduire la production de NO dans les cellules humaines. De plus, ils présentent des propriétés anti-inflammatoires puissantes en inhibant la transcription dépendante de NF- κ B et en supprimant la production de TNF- α (**Jiamin Ge *et al.*, 2022**).

Conclusion et Perspectives

Les plantes médicinales renferment une grande diversité des composés biologiquement actifs, présentant une efficacité notable dans le traitement des maladies chroniques et aiguës telles que l'inflammation. Actuellement, l'exploration des substances naturelles en tant que nouvelles sources d'anti-inflammatoires sont en plein essor, mettant en lumière l'importance de l'exploitation des métabolites secondaires des plantes.

Le but de notre étude était d'évaluer les propriétés anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo* de l'extrait terpénique des racines d'*Echium confusum*. Dans ce cadre, notre recherche a été centrée sur l'extraction et la mesure des métabolites secondaires, ainsi que l'évaluation des activités biologiques des terpénoïdes.

Le taux de rendement de l'extrait hydro-acéto méthanolique des racines d'*E. confusum* est de 12%.

Les dosages des phénols totaux ont révélé une teneur de 29,19 mg EAG/g de matière sèche, suivie par les flavonoïdes avec une teneur significative de 85,21 mg EC/g de matière sèche et les tanins condensés indiquant une teneur très faible de 0,055 mg EC/g de matière sèche. Enfin, les terpénoïdes ont été retrouvés en grande quantité avec une teneur de 59,333 mg EL/g de matière sèche. De plus, les dosages effectués sur la partie aérienne d'*E. confusum* ont révélé une teneur en polyphénols de 30 mg EAG/g de matière sèche, suivie par les flavonoïdes avec une teneur élevée de 87,84 mg EC/g de matière sèche, ainsi que les tanins condensés avec une faible teneur de 0,125 mg EC/g de matière sèche. Les terpénoïdes dans cette partie sont peu nombreux voire inexistant.

Par ailleurs, les résultats du test de cytotoxicité ont montré un taux d'inhibition de l'hémolyse des racines de *E. confusum* de l'ordre de 68% à une concentration de 0,0156 mg/ml.

Des essais d'activité anti-inflammatoire *in vitro* ont été réalisés en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) avec l'extrait terpénique de *E. confusum*. Les résultats ont montré un fort pouvoir anti-inflammatoire avec une IC50

de 0,72 mg/ml, une valeur supérieure à celle du Diclofénac qui affiche une IC50 de 0,10 mg/ml.

En ce qui concerne l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, l'induction d'une inflammation aiguë chez les rats Wistar avec une dose de 100 mg/kg d'extrait terpénique a entraîné une diminution significative de l'œdème de la patte des rats traités par rapport aux rats non traités, atteignant jusqu'à 37,20% d'inhibition à la 6ème heure. Ce résultat pourrait être attribué à la présence abondante de composés phénoliques bioactifs dans notre extrait. Sur la base de ces résultats, nous pouvons conclure que l'extrait terpénique des racines d'*E. confusum* présente une capacité anti-inflammatoire potentielle, probablement en raison de sa richesse en métabolites secondaires.

Il serait opportun d'envisager d'autres études en tant que perspectives pour ce travail, à savoir :

- Enrichir la présente recherche par l'identification et la purification des principes actifs à l'aide de techniques chromatographiques.
- Examiner d'autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne et anticancéreuse.

Références bibliographique

-A-

Angiosperm Phylogeny Group (APG IV). (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1): 1–20.

-B-

Bony, E. (2010). *Composition chimique et propriétés anti-inflammatoires de l'huile de pulpe d'awara (Astrocaryum vulgare M.)* (Doctoral dissertation, UM2).

Burke A., Smyth E., and Fitzgerald G. A. (2006), Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (Brunton L. L., Lazo J. S., and Parker K. L., eds.). McGraw-Hill, New York, pp. 671 – 715.

-C-

Cruz-Topete, D., & Cidrowski, J. A. (2014). One hormone, two actions: anti-and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22(1-2), 20-32.

Couto, M., & Cates, C. (2019). Laboratory guidelines for animal care. *Vertebrate Embryogenesis: Embryological, Cellular, and Genetic Methods*, 407-430.

Carip, C. (2010). Biologie appliquée à la santé (2^e éd., pp. 313–315). Lavoisier.

Chrzanowska, E., Denisow, B., Ekiert, H., & Pietrzyk, Ł. (2024). Metabolites Obtained from Boraginaceae Plants as Potential Cosmetic Ingredients—A Review. *Molecules*, 29(21), 5088.

Chebaibi, A., Filali, F. R., Amine, A., & Zerhouni, M. (2011). Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum L.*) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158-164.

-D-

Doggrell, S. A. (2005). The nitrosterols—a step forward from the steroid anti-inflammatory drugs? *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 14(7), 823-828.

Delves, P. J., Burton, D. R., Martin, S. J., & Roitt, I. M. (2008). *Les fondements de l'immunologie*. De Boeck Supérieur.

Ding, C. (2002). Do NSAIDs affect the progression of osteoarthritis? *Inflammation*, 26, 139-142.

Del Prado-Audelo, M. L., Cortés, H., Caballero-Florán, I. H., González-Torres, M., Escutia-Guadarrama, L., Bernal-Chávez, S. A., ... & Leyva-Gómez, G. (2021). Therapeutic applications of terpenes on inflammatory diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 704197.

De Coincy, A. (1900). *Revision des espèces critiques du genre Echium*. J. Mersch, imp...

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Devi, M., Bamrah, P. K., Goyal, R., Choudhary, M., & Chopra, H. (2024). Insights on the emerging therapeutic potential of terpenoids as anti-inflammatory agents: a scoping

-E-

Chrzanowska, E., Denisow, B., Ekiert, H., & Pietrzyk, Ł. (2024). Metabolites Obtained from Boraginaceae Plants as Potential Cosmetic Ingredients—A Review. *Molecules*, 29(21), 5088.

-F-

Fauve, R. M., & Hevin, M. B. (1998). Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. *L'inflammation (JL Eurotext, éd.)*, 10.

Fehrenbacher, J. C., Vasko, M. R., & Duarte, D. B. (2012). Models of inflammation: carrageenan or complete Freund's adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Current protocols in pharmacology*, 56(1), 5-4.

Farag, M. R., & Alagawany, M. (2018). Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chemico-biological interactions*, 279, 73-83.

-G-

Gautam, R., & Jachak, S. M. (2009). Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Medicinal research reviews*, 29(5), 767-820.

Garba, S.H., Prasad, J., & Sandabe, U.K. (2007). Hepatoprotective effect of the aqueous root-bark extract of *Ficus sycomorus* (L.) on Carbon Tetrachloride Induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Biological Sciences*, 7, pp 276-281.

GEFFROY, C. E., & FRIOCOURT, P. (2018). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les personnes âgées. Consulté en ligne le, 5, 12.

Ge, J., Liu, Z., Zhong, Z., Wang, L., Zhuo, X., Li, J., ... & Bai, R. (2022). Natural terpenoids with anti-inflammatory activities: Potential leads for anti-inflammatory drug discovery. *Bioorganic Chemistry*, 124, 105817.

-H-

Hannoodee, S., & Nasuruddin, D. N. (2024). Acute inflammatory response. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Heiman, A. S., Taraporewala, I. B., & Lee, H. J. (1989). Local anti-inflammatory activity of steroid-21-oate esters in the carrageenan pleurisy model of acute inflammation. *Drug development research*, 17(2), 153-160.

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmalogique de *matricaria chamomilla* L. et de *l'ormenis mixta* L.(asteraceae) Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc.

Habibur, R., Rahman, M., Islam, A. K., & Sumi, C. D. (2015). Evaluation of anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Curcuma longa* rhizome. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(5), 1719–1723.

Hammoudi, A., Zatl, A. T., & El Amine Dib, M. (2023). A Phytochemical and Antioxidant Study of the Hexanoic Extract of Rhaponticum acaule. *Chemistry Proceedings*, 14(1), 81.

Harouat Kawter, Hattab Imen. (2024). Évaluation in vitro et in vivo des activités biologiques des composés bioactifs des feuilles de *Echium plantagineum L.*

-J-

Jiang, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, Y., Duan, J., Zou, Y., ... & Sun, Z. (2016). Oxidative damage and energy metabolism disorder contribute to the hemolytic effect of amorphous silica nanoparticles. *Nanoscale research letters*, 11, 1-12.

Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., & Afolayan, A. J. (2010). Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and chemical toxicology*, 48(3), 964-971.

John, K. K., Shcherzade, O. F., Georges, A., Ernest, Z. N. G., Roger, K. K., Emile, B. K., ... & Severin, E. K. (2021). Activité Anti-Inflammatoire et études phytochimiques de l'extrait aqueux des Écorces *Distemonanthus Benthamianus* Baill. *Caesalpiniaceae : Leguminosae-Caesalpinioideae*). *Eur Sci Journal*, ESJ, 17, 74-94.

Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33(2), 213-217.

-K-

Kandé Brahima Koné Mamidou Witabouna (2017). Analyse Qualitative Et Quantitative Des Alcaloïdes Pyrrolizidiniques Chez Quelques Asteraceae, Boraginaceae Et Leguminosae Utilisées En Médecine Traditionnelle En Côte d'Ivoire.

Kuruuzum-Uz, A., Suleyman, H., Cadirci, E., Guvenalp, Z., & Demirezer, L. O. (2012). Investigation on anti-inflammatory and antiulcer activities of *Anchusa azurea* extracts and their major constituent rosmarinic acid. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 67(7-8), 360-366.

-L-

Lioté, F. (2011). Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du Rhumatisme*, 78, S122-S128.

-M-

Megha, K. B., Joseph, X., Akhil, V., & Mohanan, P. V. (2021). Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. *Phytomedicine*, 91, 153712.

Mallem, Y., & Gogny, M. (2014). Anti-inflammatoires en médecine vétérinaire. *EMC-Vétérinaire*, 1-12.

Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 21-29.

Mebirouk, R., & Naimi, D. (2017). *Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'Helix aspersa (aqueux, hydro alcoolique et organique)* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

-N-

Nicolas J.-F., Florence C. Jean T. (2001). Immunologie clinique et allergologie. aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext 2001, 55-58.

Nouri, A. (2023). *Etude phytochimique, toxicologique et le potentiel anti-hyperglycémiant de la plante Echium trygorrhizum pomel* (Doctoral dissertation).

Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.

-O-

Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., ... & Guissou, I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*, 10(5), 286-292.

Ozay, C. (2023). Phenolic constituents, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Heliotropium europaeum* (Boraginaceae). *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 100(3).

OMS, (2008). Traditional medicine. Fact sheet N° 174. Consulté le 2/05/2014 de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/index.html>.

Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., & Sipeolu, F. O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46-51.

Osman, N. I., Sidik, N. J. M., & Awang, K. (2016). In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of neolignan isolated from **Adenanthera pavonina* L.* **Molecules**, 21(10), 1442.

-P-

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2018). Chronic inflammation.

Payne, D. N. R., & Adcock, I. M. (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric respiratory reviews*, 2(2), 145-150.

Passos, G. F., Fernandes, E. S., da Cunha, F. M., Ferreira, J., Pianowski, L. F., Campos, M. M., & Calixto, J. B. (2007). Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. *Journal of ethnopharmacology*, 110(2), 323-333.

Prakash, V. E. D. (2017). Terpenoids as source of anti-inflammatory compounds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 68-76.

-R-

RGUEZ, S., REBEY, I. B., BOURGOU, S., HAMMAMI, M., & SELLAMI, I. H. (2023). Pistacia lentiscus extracts as a valuable source of antioxidant compounds Les extraits de Pistacia lentiscus comme source de molécules antioxydantes.

Ramprasath, V. R., Shanthi, P., & Sachdanandam, P. (2004). Anti-inflammatory Effect of Semecarpus anacardium L INN. Nut Extract in Acute and Chronic Inflammatory Conditions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(12), 2028-2031.

-S-

Soares, C. L. R., Wilairatana, P., Silva, L. R., Moreira, P. S., Barbosa, N. M. M. V., da Silva, P. R., ... & Felipe, C. F. B. (2023). Biochemical aspects of inflammatory process: A narrative review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115764.

Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (Eds.). (2010). *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press.

Sohail, M. N., Fiaz Rasul, F. R., Asia Karim, A. K., Uzma Kanwal, U. K., & Attitalla, I. H. (2011). Plant as a source of natural antiviral agents. *Asian Journal Animal Veterinary Advances*, 6, pp 1125-1152.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Sadique, J., Al-Rqobah, W. A., Bughaith, M. F., & El-Gindy, A. R. (1989). The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60, 525-532.

-T-

Truong, D. H., Ta, N. T. A., Pham, T. V., Huynh, T. D., Do, Q. T. G., Dinh, N. C. G., ... & Bui, A. V. (2021). Effects of solvent—solvent fractionation on the total terpenoid content and in vitro anti-inflammatory activity of *Serevenia buxifolia* bark extract. *Food science & nutrition*, 9(3), 1720-1735.

Thouri, A., Chahdoura, H., El Arem, A., Omri Hichri, A., Ben Hassin, R., & Achour, L. (2017). Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-10.

-U-

Upadhyay, H. C., Saini, D. C., & Srivastava, S. K. (2011). Phytochemical analysis of *Ammannia multiflora*.

-V-

Vikrant, A., & Arya, M. L. (2011). A review on anti-inflammatory plant barks. *International Journal of PharmTech Research*, 3(2), 899-908.

Vilas-Boas, S. M., Cordova, I. W., Abranches, D. O., Coutinho, J. A., Ferreira, O., & Pinho, S. P. (2023). Modeling the solubility of monoterpenoids with hybrid and predictive thermodynamic tools. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 62(12), 5326-5335.

-W-

Williams, L. A. D., O'connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., ... & Kraus, W. (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*, 57(4)

-Y-

Yvonne, A., Bailey-Shaw, C., Williams, L. A. D., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017). In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145–153.

Yimer, T., Birru, E. M., Adugna, M., Geta, M., & Emiru, Y. K. (2020). Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of 80% methanol root extract of *Echinops kebericho* M. (Asteraceae). *Journal of Inflammation Research*, 647-658.

Résumé

Devant les effets indésirables parfois sévères associés aux anti-inflammatoires conventionnels, l'exploration de solutions thérapeutiques d'origine végétale suscite un intérêt croissant. C'est dans cette perspective qu'*Echium confusum*, appartenant à la famille des Boraginaceae, a été retenu pour une investigation approfondie de ses propriétés pharmacologiques. Cette étude vise à évaluer, à travers une double approche in vitro et in vivo, l'activité anti-inflammatoire et anti-œdémateuse de l'extrait terpénique des racines de cette plante, en s'appuyant sur des analyses biochimiques rigoureuses et des modèles expérimentaux validés.

Des dosages spectrophotométriques ont été réalisés sur les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et terpénoïdes) contenus dans l'extrait hydro-acéto-méthanolique des racines et de la partie aérienne d'*Echium confusum*. Les résultats ont mis en évidence une richesse notable en composés phénoliques dans les racines, avec des concentrations importantes en polyphénols (29,19 mg EAG/g MS), flavonoïdes (85,21 mg EC/g MS), tanins condensés (0,055 mg EC/g MS) et terpénoïdes (59,333 mg EL/g MS). La partie aérienne présentait également des teneurs élevées en polyphénols (30 mg EAG/g MS) et en flavonoïdes (87,84 mg EC/g MS), mais des quantités plus faibles de tanins condensés et de terpénoïdes.

Par ailleurs, le test de cytotoxicité a révélé un effet inhibiteur maximal de l'hémolyse avec l'extrait phénolique des racines, 68% d'inhibition à une concentration de 0,0156 mg/ml, avec un effet minimal de 1,71% à une concentration faible de 0,25mg/ml.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été conduite in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines. Selon les données recueillies et présentées dans le tableau 6, il est observé que l'IC₅₀ de l'extrait de l'*E. confusum* est de 0,72 mg/ml, ce qui est significativement plus élevé que celui du Diclofénac qui est de 0,10 mg/ml. Il peut être conclu que l'extrait terpénique utilisé présente une faible activité anti-inflammatoire par rapport au Diclofénac.

Puis in vivo à l'aide du modèle d'œdème plantaire induit par la carraghénane chez les rats Wistar. Les résultats in vivo ont confirmé l'efficacité anti-inflammatoire des terpénoïdes extraits des racines, avec une réduction de 37,20 % du volume des pattes œdémateuses à une dose de 100 mg/kg.

En conclusion, les résultats de cette étude mettent en évidence l'effet anti-inflammatoire notable des racines d'*Echium confusum*, principalement lié à la présence de terpénoïdes, des composés naturels identifiés parmi ses métabolites secondaires. Ces résultats confirment l'intérêt des plantes médicinales comme alternative prometteuse aux traitements classiques pour soulager les maladies inflammatoires.

Mots clés : *Echium confusum*, Terpénoïdes, Anti-inflammatoire, Rats Wistar, carragénine, inflammation.

Abstract

Given the sometimes-severe side effects associated with conventional anti-inflammatory drugs, the exploration of plant-based therapeutic alternatives has garnered increasing scientific interest. In this context, *Echium confusum*, a member of the Boraginaceae family, was selected for an in-depth investigation of its pharmacological properties. This study aims to evaluate, through a dual in vitro and in vivo approach, the anti-inflammatory and anti-edematous activity of its root extract, relying on rigorous biochemical analyses and validated experimental models.

Spectrophotometric assays were carried out to quantify phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, condensed tannins, and terpenoids) present in the hydroacétométhanolic extract of *Echium confusum* roots and aerial parts. The results revealed a noteworthy abundance of phenolic compounds in the roots, with significant concentrations of polyphenols (29.19 mg GAE/g DM), flavonoids (85.21 mg QE/g DM), condensed tannins (0.055 mg CE/g DM), and terpenoids (59.333 mg LE/g DM). The aerial parts also showed high levels of polyphenols (30 mg GAE/g DM) and flavonoids (87.84 mg QE/g DM), but lower amounts of condensed tannins and terpenoids.

In addition, the cytotoxicity study demonstrated that the phenolic extract obtained from the roots exhibited a significant inhibitory effect on hemolysis, reaching a maximum inhibition of 68% at a concentration of 0.0156 mg/ml. Conversely, the extract showed minimal effect at a lower concentration of 0.25 mg/ml, with only 1.71% inhibition observed.

The anti-inflammatory activity was assessed in vitro by inhibiting thermal protein denaturation, based on the data collected and presented in Table 6, it is observed that the IC₅₀ of the *E. confusum* extract is 0.72 mg/ml, which is significantly higher than that of Diclofenac, at 0.10 mg/ml. It can be concluded that the terpenic extract used exhibits a lower anti-inflammatory activity compared to Diclofenac and in vivo using the carrageenan-induced paw edema model in Wistar rats. The in vivo results confirmed the anti-inflammatory efficacy of root-derived terpenoids, with a 37.20% reduction in paw edema volume at a dose of 100 mg/kg.

In conclusion, the findings of this study highlight the notable anti-inflammatory effect of *Echium confusum* roots, mainly attributed to the presence of terpenoids natural compounds identified among its secondary metabolites. These results support the therapeutic potential of medicinal plants as promising alternatives to conventional treatments for managing inflammatory diseases.

Keywords: *Echium confusum*, Terpenoids, Anti-inflammatory, Wistar rats, Carrageenan, Inflammation.