



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'univers



Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences
biologiques

Domaine : SNV

Spécialité : Biochimie

Présenté par :

M^{elle} Meghfour Hadjer & M^{me} Adjir Fatma

Thème

**Screening phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de
*Viola odorata L.***

Soutenu le 23/06/2026 devant les membres de jury :

Présidente :	Pr. BOUCHERIT-OTMANI Zahia	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Pr. BENARIBA Nabila	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Dr. BELKACEM Nacéra	Université de Tlemcen
Encadrante :	Dr. ADJDIR Sarra	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier « **Allah** », pour nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, **Dr. Adjdir Sarra**, Maître de Conférences Classe B au département de biologie à l'Université de Tlemcen, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses précieux conseils et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses orientations et sa compétence ont été d'une aide inestimable.

Nous adressons également nos sincères remerciements au **Pr. Boucherit-Otmani Zahia**, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance et pour l'intérêt porté à ce travail et de le rehausser par sa grande expertise.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi au **Pr. Benariba Nabila**, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour avoir acceptée d'évaluer ce travail. Nous lui exprimons notre profond respect et notre reconnaissance.

Nous tenons également à remercier **Dr. Belkacem Nacéra**, Maître de Conférences Classe A au département de biologie à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez recevoir nos sincères remerciements et notre profond respect.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à tous les doctorants en biochimie pour leurs aides, leurs soutiens, surtout leurs gentillesse.

C'est un grand merci que nous adressons à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leur gentillesse et leurs conseils.

Enfin, nous remercions chaleureusement toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec l'aide de **Dieu** Tout-Puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

À mon très cher Père et ma très chère Mère,

La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie, pour leurs soutiens durant le long chemin de mes études, qui ont toujours été là pour moi, et qui ont beaucoup sacrifié pour que j'atteins ce niveau. J'espère qu'ils sont fiers de leur fille et que Dieu vous bénisse pour moi.

À mon cher frère Yesser et à ma chère sœur Asma,

qui ont toujours été une source de soutien, d'encouragement et de réconfort. Merci pour votre présence et votre confiance en moi tout au long de ce parcours.

À ma chère famille,

pour son affection, sa confiance et son soutien constant, je dédie ce modeste travail avec tout mon amour.

À ma chère binôme Fatima,

en témoignage de notre belle collaboration, de son soutien, de sa patience et des efforts partagés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

À mes chères amies

Dalal, Chaimaa, Nesrine, Samia, Douaa, Sara, Imen, Marwa, Fatima et Soumia,

qui ont partagé avec moi une année inoubliable avec des beaux moments et souvenirs pleine de joie et d'humeur.

À tous ceux qui me sont chers.

À tous ceux qui m'aiment.

À toutes les personnes qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de ce parcours.

Avec tout mon amour, toute ma gratitude et mon profond respect.

HADJER

Dédicace

Je souhaite tout d'abord remercier Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a accordé le courage, la patience et la force nécessaires, et qui a illuminé mon chemin afin d'achever ce travail. Je

dédie ce modeste travail :

À ma très chère mère,

pour son amour inconditionnel, ses sacrifices, son soutien constant et ses prières qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours. Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude et mon immense affection à son égard.

À mon cher époux, YASSINE,

pour sa patience, sa compréhension, ses encouragements et son soutien indéfectible durant toutes les étapes de la réalisation de ce mémoire.

À mon fils bien-aimé, IYED,

qui est ma source de bonheur, de motivation et d'espoir. Que ce travail soit pour lui un exemple de persévérance et de réussite.

À ma très chère binôme, Hadjer,

pour ses efforts, sa collaboration, son sérieux et son engagement qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Je lui adresse mes meilleurs vœux de réussite et de succès.

À notre chère encadrante, Dr. Adjdir Sarra,

Nous tenons à vous exprimer notre profonde gratitude et notre sincère reconnaissance pour votre disponibilité, votre patience, vos précieux conseils et votre accompagnement tout au long de la réalisation de ce mémoire.

À mes chères amies, Imen, Marwa, Fatima et Soumia,

qui m'ont accompagnée, soutenue et aidée tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

À toute ma famille,

ainsi qu'à toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Avec tout mon amour, ma gratitude et mon affection

FATIMA

Liste des figures

Figure n° 01 : Les antioxydants endogènes et exogènes	04
Figure n°02: Cellules et molécules impliquées dans l'inflammation aiguë.....	06
Figure n°03 : Classification des polyphénols	10
Figure n° 04: Structure de base de l'acide phénolique	11
Figure n°05 : Structure de base des flavonoïdes	12
Figure n° 06 : Principales structures chimiques des tanins.....	12
Figure n° 07 : structure de d'isoprène	13
Figure n° 08 : <i>Viola odorata L.</i>	14
Figure n°09 : Les fleurs de la plante <i>Viola odorata</i>	16
Figure n°10: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits de <i>Viola odorata</i>	18
Figure n°11 : Courbe étalon du dosage de polyphénols (A) , de flavonoïdes (B) et de tanins (C)	29
Figure n°12: Pourcentage d'inhibition des molécules de références et des extraits de <i>Viola odorata</i> sur le radical DPPH.....	32
Figure n°13: Pouvoir réducteur des molécules de références et des extraits de <i>Viola odorata</i>	34
Figure n°14: Pouvoir antiradicalaire des molécules de référence et des extraits de la plante <i>Viola odorata</i> sur le radical l'ABTS	36
Figure n°15: Courbe étalon de l'acide gallique (mg/mL) pour le test antioxydant total (CAT).....	37
Figure n°16 : Valeurs d'IC ₅₀ des extraits de <i>Viola odorata</i> et du NDGA sur l'activité de la lipoxygénase	39
Figure n°17 : Effets du NDGA et des extraits de la plante <i>Viola odorata</i> sur l'activité de la lipoxygénase	39

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Espèces radicalaires et non radicalaires.....	03
Tableau n° 02 : Effets biologiques des principaux médiateurs de l'inflammation... ..	07
Tableau n°03 : Exemples des anti-inflammatoires stéroïdiens commercialisés	07
Tableau n° 04 : Acides phénoliques.....	11
Tableau n°05 : Caractéristiques et rendement des extraits des fleurs de la plante <i>Viola odorata</i>	27
Tableau n°06 : Screening phytochimiques des extraits de la plante <i>Viola odorata</i>	28
Tableau n° 07: Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des fleurs de la plante <i>Viola odorata</i>	30
Tableau n°08: Effet antiradicalaire des molécules de références sur le DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.....	30
Tableau n° 09 : Effet antiradicalaire des extraits de <i>Viola odorata</i> sur le DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.....	31
Tableau n°10 : Pouvoir réducteur des molécules de références.....	33
Tableau n°11 : Pouvoir réducteur des extraits de <i>Viola odorata</i>	33
Tableau n°12: Effet antiradicalaire du BHA et l'alpha-tocophérol sur l'ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.....	35
Tableau n°13: Effet antiradicalaire des extraits de <i>Viola odorata</i> sur l'ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.....	35
Tableau n°14: La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits des fleurs de la plante <i>Viola odorata</i>	37
Tableau n°15 : Effet du NDGA sur l'activité de la lipoxigénase	38

Listes des abréviations

µg EAG/mg E : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

µg EC/mg E : microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait

ABTS : 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AINS : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Les anti-inflammatoires stéroïdiens

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

Aq : Extrait aqueux (Infusion)

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

CAT : Capacité Antioxydante Totale

COX : cyclo-oxygénase

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

EC₅₀ : concentration efficace médiane

Eq/L : Equivalent per Liter

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EtOH1 : Extrait eau-éthanol (Décoction)

EtOH2 : Extrait eau-éthanol (Macération)

Fe²⁺ : Fer Ferreux

Fe³⁺ : Fer Ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

H₃PMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

HCl : Acide Chlorhydrique

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance (**CLHP**)

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

iNOS ou NOS-2 : l'oxyde nitrique synthase inductible

K₂S₂O₈ : persulfate de potassium

K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium

LC-MS : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

LOX : Lipoxigénase

LPS : lipopolysaccharide

Mo : molybdène

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium.

NDGA : Nordihydroguaiaretic Acid

NH₄OH : l'ammoniaque

pH : potentiel en hydrogène

R% : Rendement.

TCA : Acide Trichloracétique

Table des matières

Introduction	01
--------------------	----

1ère Partie :La partie bibliographique

Chapitre I : Stress oxydatif et inflammation

Stress oxydatif

1. Les radicaux libres	03
1.1 Sources des radicaux libres.....	03
2. Les antioxydants	04

Inflammation

1. Les types de l'inflammation	05
1.1. L'inflammation aiguë.....	05
1.2 L'inflammation chronique	06
2. Les médiateurs de l'inflammation.....	06
3. Les anti-inflammatoires.....	07
3.1. Les anti-inflammatoires synthétiques.....	07
3.1.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	07
3.1.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	08
3.2. Les anti-inflammatoires naturels.....	08

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Définition.....	09
2. Classifications des métabolites secondaires	09
2.1. Les polyphénols	09
2.1.1. Les acides phénoliques.....	10
2.1.2. Les flavonoïdes	11
2.1.3. Les Tanins.....	12
2.2. Les Terpénoïdes	12
2.3. Les Alcaloïdes.....	13

Chapitre III : *Viola odorata L.*

1. Description botanique	14
2. Compositions chimiques	14
3. Usages traditionnels	15

2ème Partie :La partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Le matériel végétal.....	16
2.Extraction	17
2.1 Calcul du rendement d'extraction	18
3. Screening phytochimique des extraits préparés	19
4. Dosage des composés phénoliques	20
4.1 Dosage de polyphénols totaux.....	20
4.2 Dosage de flavonoïdes totaux.....	21
4.3 Dosage des tanins condensés	21
5. Evaluation de l'activité antioxydante	22
5.1 Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre DPPH	22
5.2 Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre ABTS	23
5.3 Evaluation du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)	24
5.4 Evaluation de la capacité antioxydante totale (CAT).....	25
6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de l'enzyme lipooxygénase (Activité anti-LOX).....	25

3ème partie :

Résultats et interprétations

1. Caractéristiques des extraits de la plante <i>Viola odorata</i>	27
2. Screening phytochimiques des extraits.....	27
3. Taux des composés phénoliques.....	28
4. Effet antioxydante des extraits de la plante <i>Viola odorata</i>	30
4.1 Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH.....	30
4.2 Pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP).....	33
4.3 Pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS.....	34
4.4 La capacité antioxydante totale (CAT).....	37
5. Effet anti-inflammatoire des extraits des fleurs <i>Viola odorata</i>	38
Discussion	41
Conclusion	45
Références bibliographiques...	46

الملخص

أظهرت زهرة البنفسج (*Viola odorata*) مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية، بما في ذلك الخصائص المضادة للالتهابات، المضادة للميكروبات، المسكنة، المضادة للسرطان، المدرة للبول، المليئة والمضادة للأكسدة. الهدف الرئيسي من عملنا هو تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات لمستخلص الأزهار المجففة من زهرة البنفسج باستخدام ثلاث طرق استخلاص: النقع، النقع الساخن، والغلي. أظهر الفحص الفيتوكيميائي احتواء المستخلصات الثلاثة على التانينات والفلافونويدات والكينونات الحرة. كما أبرز تحليل المركبات الفينولية وجود محتويات عالية من البوليفينولات الكلية، والفلافونويدات، والتانينات، حيث تم تسجيل أعلى القيم في المستخلص المائي (Aq) ، وهي على التوالي 103.64 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميلليغرام مستخلص ، 17 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ميلليغرام مستخلص و 21.2 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ميلليغرام مستخلص .

أثبتت نتائج النشاط المضاد للأكسدة فعالية ملحوظة للمستخلصات المدروسة في تثبيط الجذور الحرة حيث أظهر مستخلص ماء-كحول EtOH1 أفضل نشاط اتجاه DPPH بتركيز نصف مثبط 0.122 ملغ/مل و 0.014 ملغ/مل اتجاه ABTS بالإضافة إلى قدرة فعالة على إرجاع الحديد تبلغ 0,188 ملغ/مل وقدرة إجمالية مضادة للأكسدة تبلغ 41,147 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميلليغرام مستخلص . فيما يتعلق بالنشاط المضاد للالتهابات، أظهر مستخلص الماء-كحول EtOH1 تأثيراً مثبطاً لنشاط انزيم الليبوكسيناز مقارنةً بالمستخلصات الأخرى، حيث بلغت قيمة IC₅₀ 0.07 ملغ/مل. في ضوء هذه النتائج، تُظهر دراستنا أن نبات زهرة البنفسج يشكل مصدرًا واعدًا للمركبات النشطة بيولوجيًا التي يمكن استغلالها بشكل خاص لنشاطاتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات .

الكلمات المفتاحية: زهرة البنفسج ، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات .

Résumé

Viola odorata a fait preuve d'un éventail étendu d'activités biologiques, y compris des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, analgésiques, anticancéreuses, diurétiques, laxatives et antioxydantes. Notre travail vise à confirmer et vérifier, *in vitro*, les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de fleurs séchées de *Viola odorata* obtenus par trois méthodes d'extraction : infusion, macération et décoction.

Le screening phytochimique a révélé la richesse des trois extraits en tanins, flavonoïdes et quinones libres. Le dosage des composés phénoliques a mis en évidence des teneurs élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins, les valeurs les plus élevées ont été notées pour l'extrait aqueux (Aq), soit respectivement 103,64 µg EAG/mg E, 17 µg EC/mg E et 21,2 µg EC/mg E.

Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé un potentiel antioxydant important des extraits étudiés. L'extrait eau-éthanol EtOH1 a présenté la meilleure activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH ($IC_{50} = 0,122$ mg/mL) et ABTS ($IC_{50} = 0,014$ mg/mL) ainsi qu'un pouvoir réducteur du fer intéressant ($EC_{50} = 0,188$ mg/mL), et une capacité antioxydante totale de 41,147 µg EAG/mg E. Concernant l'activité anti-inflammatoire, l'extrait eau-éthanol EtOH1 a montré un effet inhibiteur de l'activité de la lipoxigénase très intéressante par rapport aux autres extraits, avec une valeur IC_{50} de 0,07 mg/mL.

A la lumière de ces résultats, notre étude montre que la plante *Viola odorata* constitue une source prometteuse de composés bioactifs qui peuvent être exploiter notamment pour leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoire.

Mots clés : *Viola odorata*, composés phénoliques, activité antioxydantes, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Viola odorata has demonstrated a wide range of biological activities, including anti-inflammatory, antimicrobial, analgesic, anticancer, diuretic, laxative, and antioxidant properties. The main objective of our work is to evaluate, *in vitro*, the antioxidant and anti-inflammatory activities of dried flower extracts of *Viola odorata* obtained by three extraction methods: infusion, maceration, and decoction.

The phytochemical screening revealed the richness of the three extracts in tannins, flavonoids, and free quinones. The quantification of phenolic compounds revealed high levels of total polyphenols, flavonoids, and tannins, with the highest values noted for the aqueous extract (Aq), namely 103.64 μg GAE/mg E, 17 μg CE/mg E, and 21.2 μg CE/mg E, respectively.

The results of the antioxidant activity revealed a significant antioxidant potential of the studied extracts. The ethanol-water extract EtOH1 exhibited the best antiradical activity against DPPH ($\text{IC}_{50} = 0.122 \text{ mg/mL}$) and ABTS ($\text{IC}_{50} = 0.014 \text{ mg/mL}$), as well as an interesting iron-reducing power ($\text{EC}_{50} = 0.188 \text{ mg/mL}$), and a total antioxidant capacity of 41.147 μg GAE/mg

E. Regarding the anti-inflammatory activity, the ethanol-water extract EtOH1 showed a very interesting inhibitory effect on lipoxygenase activity compared to the other extracts, with an IC_{50} value of 0.07 mg/mL.

In light of these results, our study shows that the plant *Viola odorata* constitutes a promising source of bioactive compounds that can be exploited particularly for their antioxidant and anti-inflammatory activities.

Keywords: *Viola odorata*, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

INTRODUCTION

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont réputées avoir un effet à double tranchant, étant à la fois destructrices et bénéfiques pour les systèmes biologiques. Un déséquilibre entre la génération et la décomposition des ROS est désigné comme le stress oxydatif, un élément crucial et une caractéristique partagée par de nombreuses affections chroniques, notamment le cancer, les maladies du cœur et des vaisseaux, les troubles métaboliques, les affections neurologiques (comme Alzheimer et Parkinson), ainsi que d'autres pathologies **(Krishnaiah et al., 2011 ; Jomova et al., 2024)**.

Le stress oxydatif peut être aussi un facteur déclenchant du processus inflammatoire étant donné qu'il a la capacité d'activer les récepteurs des cellules immunitaires, induisant ainsi la libération de médiateurs inflammatoires **(Barreiro-Sisto et al., 2024)**.

L'utilisation de molécules antioxydantes de synthèse présente des risques potentiels en termes de toxicologie, étant donné qu'elles peuvent engendrer diverses affections. Les recherches actuelles s'orientent de plus en plus vers l'utilisation d'antioxydants naturels, notamment issus de plantes médicinales **(Bougandoura et Bendimerad, 2012)**.

La *Viola odorata* Linn. (Violette Odorante), une plante vivace de petite taille appartenant à la famille des *Violaceae*, cette plante a démontré un large éventail d'activités biologiques, notamment anti-inflammatoires, antimicrobiennes, analgésiques, anticancéreuses, diurétiques, laxatives et antioxydantes **(Saleem et al., 2021)**.

L'objectif principal de notre présent travail consiste à réaliser une étude phytochimique, ainsi qu'une étude biologique *in vitro* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits des fleurs séchées de la plante *Viola odorata*. Le travail expérimental réalisé dans le cadre de cette étude au niveau de notre laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique » regroupe deux grandes parties.

La première partie consiste à préparer deux extraits eau-éthanol et un extrait aqueux à partir des fleurs de cette espèce et à déterminer leurs taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. La deuxième partie est consacrée à l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant des extraits préparés en utilisant la méthode du DPPH, FRAP, ABTS et CAT ainsi que l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire en utilisant le test d'inhibition de l'activité de la lipoxygénase « LOX ».

Introduction

Le présent manuscrit comporte une introduction générale qui présente l'objectif de cette étude ; une synthèse bibliographique, une partie matériel et méthodes suivie par la présentation et l'interprétation des résultats obtenus, une discussion des principaux résultats et enfin conclusion et perspectives.

1ère Partie :
La partie
bibliographique

CHAPITRE I :
Stress oxydatif et
inflammation

Stress oxydatif

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre les espèces oxydants et les antioxydants dans l'organisme, Décrit pour la première fois en 1985 par Sies et Cadenas, le stress oxydatif est considéré comme un état redox déséquilibré susceptible de causer une dysfonction cellulaire (Wang et al.,2025).

1. Les radicaux libres

Les radicaux libres, éléments essentiels de multiples processus chimiques et biologiques, sont des atomes, des agrégats d'atomes ou des molécules qui possèdent des électrons de valence non appariés, instables et réactifs au sein de leurs orbitales atomiques. Posséder un ou plusieurs électrons célibataires leur offre la possibilité d'échanger et d'acquérir des électrons. Par conséquent, leur aptitude à réagir est nettement supérieure à celle des composés non-radicalaires (Tableau n°01) (Kiran et al., 2023).

Tableau n°01 : Espèces radicalaires et non radicalaires (Sies et al.,2017)

Espèces radicalaires	Espèce non radicalaire
Anion radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$)	Hydroperoxyde organique ($ROOH$)
Radical peroxy ($ROO^{\bullet}$)	Oxygène singulet (1O_2)
Radical alcoxy ($RO^{\bullet}$)	

1.1. Sources des radicaux libres

Dans les systèmes biologiques, l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le monoxyde d'azote (NO), qui sont deux principaux composés pro-réactifs, considérés comme des précurseurs de nombreuses réactions, se forment dans des compartiments tels que la membrane, les mitochondries, le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi. En outre, la production de radicaux libres par le système immunitaire peut survenir en réaction aux agents pathogènes (Kiran et al.,2023).

Des éléments externes comme la pollution environnementale, les radiations et l'exposition aux médicaments jouent un rôle majeur dans la formation intracellulaire des radicaux libres (Valko et al., 2010).

2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser les espèces oxydantes, contribuant ainsi à la réduction du stress oxydatif. Ils interviennent soit en éliminant directement les radicaux libres, soit en renforçant l'action du système de défense antioxydant interne de l'organisme. Différentes catégories d'antioxydants occupent des fonctions cruciales dans la préservation de la santé qui peuvent être des molécules enzymatiques ou non enzymatiques en fonction des mécanismes impliqués (Kotha et al., 2022 ; Walke et al., 2023).

Les antioxydants enzymatiques (endogènes) qui appartiennent à la catégorie des protéines/métalloprotéines, sont responsables de la conversion des radicaux libres en espèces plus stables et moins nocives, elles jouent un rôle déterminant dans la lutte contre le stress oxydatif ; l'exemple de : superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et catalase (Figure n°01) (Jomova et al., 2023). Les antioxydants non enzymatiques (exogènes) comme les vitamines C et E (Figure n°01) les minéraux (sélénium, zinc), les caroténoïdes (bêta-carotène, lycopène) ainsi que les flavonoïdes jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif (Walke et al., 2023).

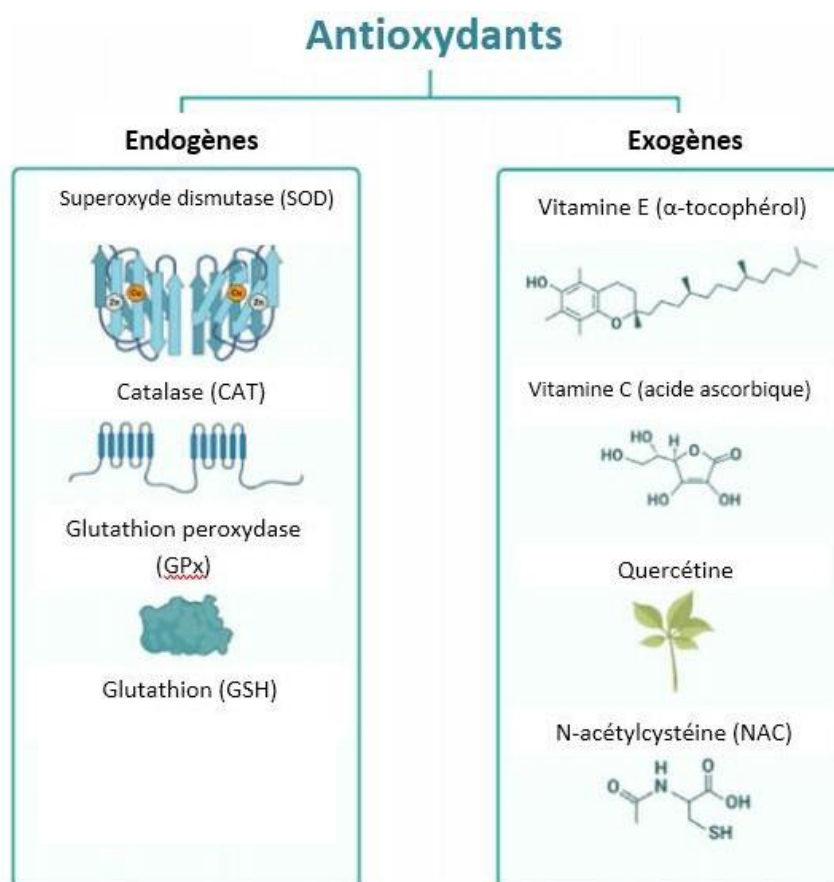


Figure n° 01 : Les antioxydants endogènes et exogènes (Wang et al., 2025)

L'inflammation

Le terme « inflammation » indique une cascade d'événements qui se déclenche en réaction à une infection ou à des dommages aux tissus. L'inflammation est un processus évolutif essentiel qui met en jeu des cellules immunitaires et non immunitaires pour combattre les agents pathogènes et favoriser la réparation des tissus. L'intensité et la nature de la réponse peuvent induire des changements métaboliques et neuroendocriniens, économisant de l'énergie et répartissant les nutriments vers le système immunitaire. Cela entraîne des « comportements de maladie », qui sont indispensables à la survie lors de blessures et d'infections (**Barton, 2008 ; Furman et al., 2019**).

La réaction inflammatoire, qu'elle provienne d'une origine externe ou interne, suit plusieurs étapes : une étape vasculaire marquée par une hausse de la perméabilité des vaisseaux, puis une étape cellulaire qui comprend l'arrivée de polynucléaires neutrophiles et de macrophages, et finalement une phase de guérison (**Danowski, 1991**).

1. Les types de l'inflammation

1.1. L'inflammation aiguë

La réponse inflammatoire aiguë est définie comme une série de réponses tissulaires pouvant survenir dans les premières heures suivant une blessure. L'inflammation aiguë est une réaction immédiate de spécificité limitée, induite par des agents pathogènes comme les infections ou les dommages tissulaires (**Serhan et al., 2010 ; Hannoodde et Nasuruddin, 2025**).

Suite à une blessure, les vaisseaux lésés se contractent, ce qui est suivi de l'activation des plaquettes et de la création d'un caillot. Les neutrophiles, qui constituent la première ligne de défense, se déplacent vers la lésion, suivis par les monocytes qui se transforment en macrophages. Le déclenchement de la migration cellulaire est provoqué par l'activation d'un processus inflammatoire aiguë, impliquant des cytokines et des chimiokines. Après l'élimination de l'infection et des débris, des médiateurs anti-inflammatoires et des facteurs de croissance déclenchent la phase proliférative qui inclut l'angiogenèse, la création de tissu granuleux et la réépithélialisation (**Figure n° 02**) (**Soliman et Barreda, 2023**).

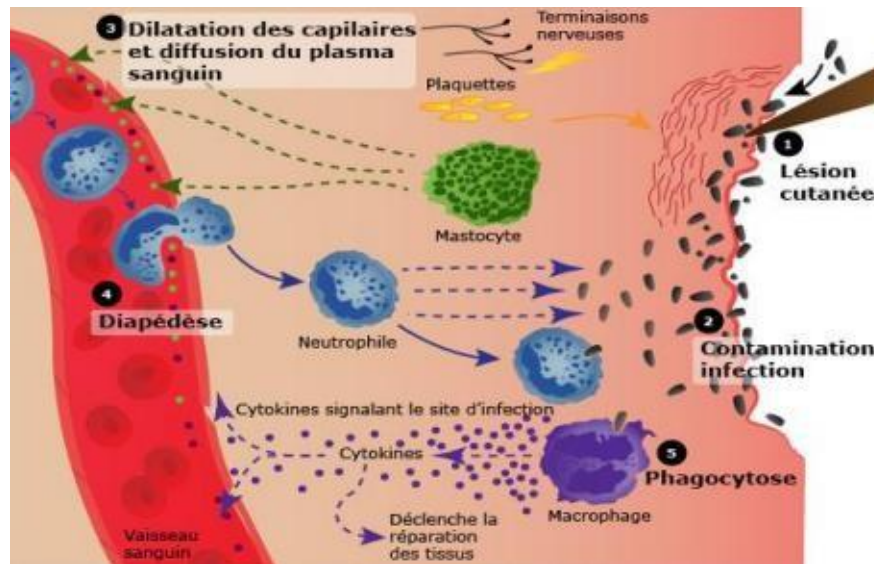


Figure n° 02 : Cellules et molécules impliquées dans l'inflammation aiguë (Duncan et Cooper, 2020).

1.2 L'inflammation chronique

L'inflammation chronique représente une réaction immunitaire persistante pouvant causer des dommages aux tissus et participer à l'évolution de diverses affections, l'exemple de maladies auto-immunes. Dans ce type, les processus d'inflammation, de dégradation des tissus et de réparation se déroulent en parallèle tout au long du processus inflammatoire, contrairement à ce qui se produit lors de l'inflammation aiguë (Weill et al., 2003).

L'inflammation chronique survient lorsque les processus inflammatoires aigus ne parviennent pas à éliminer les agents responsables de l'agression ou les lésions tissulaires persistent, ce qui peut provoquer une série de maladies, comme les troubles cardiovasculaires, l'athérosclérose, le diabète de type 2, l'arthrite rhumatoïde et certains cancers (Chen et al., 2018).

2. Les médiateurs de l'inflammation

Le processus inflammatoire est régulé par des médiateurs inflammatoires, qui représentent l'ensemble des molécules impliquées dans cette régulation comme les amines vasoactives (l'histamine), les peptides, les chimiokines comme IL-8 ...etc (Tableau n°02) (Henrotin et al., 2001).

Tableau n° 02 : Effets biologiques des principaux médiateurs de l'inflammation.
(Medzhitov, 2008)

Catégorie	Médiateurs	Rôle principal
Amines vasoactives	Histamine	Vasodilatation, effet sur la perméabilité vasculaire
Peptides	Bradykinine (implicite)	Augmentation de la perméabilité vasculaire
Système du complément	C3a, C5a	Attraction des cellules immunitaires (chimiotactisme)
Eicosanoïdes	Prostaglandines, leucotriènes	Dilatation des vaisseaux sanguins
Cytokines pro-inflammatoires	TNF- α , IL-1	Activation de l'endothélium
Chimiokines	Chimiokines (ex : IL-8)	Migration des leucocytes à travers la paroi vasculaire
Enzymes protéolytiques	Métalloprotéinases	Remodelage et restructuration des tissus

3. Les anti-inflammatoires

3.1. Les anti-inflammatoires synthétiques

3.1.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) forment une large catégorie de médicaments qui sont issus du cortisol, le principal glucocorticoïde produit par les surrénales. Les glucocorticoïdes synthétiques offrent une activité anti-inflammatoire supérieure et permettent de distinguer les effets anti-inflammatoires des effets physiologiques liés au cortisol. Ils sont employés depuis plusieurs décennies dans le traitement de diverses affections inflammatoire (Tableau n°03) (Faure.,2009).

Tableau n°03 : Exemples des anti-inflammatoires stéroïdiens commercialisés

Principe actif	Nom commercial
Prednisone	Cortancyl®
Prednisolone	Solupred®
Hydrocortisone	Hydrocortisyl®
Béclométasone	Béclo-Rhinol®, Becconase®
Bétaméthasone	Betnesol®

3.1.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont constitués d'une variété de molécules possédant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques (**Orliaguet et al., 2013**).

Les AINS agissent principalement en inhibant la cyclo-oxygénase (COX) qui produit des prostaglandines, l'exemple de Diclofénac, Indométacine. Les AINS, en bloquant COX1, diminuent la synthèse de thromboxane indispensable à l'agrégation des plaquettes (**Sircar et al., 1983 ; Burlacu et al., 2025**).

3.2. Les anti-inflammatoires naturels

Depuis l'Antiquité, les plantes occupent une place essentielle dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies inflammatoires, de nombreuses civilisations ont développé des systèmes de médecine traditionnelle basés sur l'utilisation de ces plantes. Les études phytochimiques réalisées sur plusieurs espèces de famille des Anacardiaceae notamment *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. et *Spondias tuberosa* Arruda, et des Euphorbiaceae notamment *Acalypha hispida* Burm. f., *Acalypha indica* L. et *Phyllanthus niruri* L., ont montré des propriétés anti-inflammatoires attribuées principalement à leur richesse en composés phénoliques, saponines, tanins et triterpènes. Ces métabolites secondaires contribuent à la modulation des processus inflammatoires et justifient l'usage traditionnel de ces plantes dans le traitement de diverses affections inflammatoires (**Abdulkhaleq et al., 2018 ; Nunes et al., 2020**).

CHAPITRE II :

Les métabolites

Secondaires

1. Définition

Les métabolites secondaires sont des composés organiques synthétisés par les plantes qui ne participent pas directement aux processus fondamentaux de croissance, de développement ou de reproduction, contrairement aux métabolites primaires tels que les glucides, les lipides et les protéines. Ils jouent un rôle essentiel dans l'adaptation des plantes à leur environnement en contribuant à leur défense contre les agents pathogènes, les herbivores et divers stress biotiques et abiotiques, tout en intervenant dans les interactions écologiques, notamment l'attraction des pollinisateurs et la communication avec d'autres organismes **(Teoh, 2016 ; Akhtar et al., 2026)**.

Leur biosynthèse et leur accumulation sont fortement influencées par les conditions environnementales et les facteurs de stress, qui modifient la physiologie et la morphologie des plantes **(Reshi et al., 2023)**. Ces composés sont présents dans l'ensemble des organes végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits et graines), mais leur nature et leur concentration varient selon l'espèce végétale et la fonction biologique qu'ils assurent **(Deramchia, 2018)**.

2. Classifications des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés principalement en trois catégories : les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés (alcaloïdes) **(Akhtar et al., 2026)**

2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels produits exclusivement par les plantes, présentant des caractéristiques chimiques associées aux substances phénoliques et possédant de fortes propriétés antioxydantes. Ces composés se retrouvent principalement dans les fruits, les légumes, le thé vert et les céréales **(Singla et al., 2019 ; Bertelli et al., 2021)**.

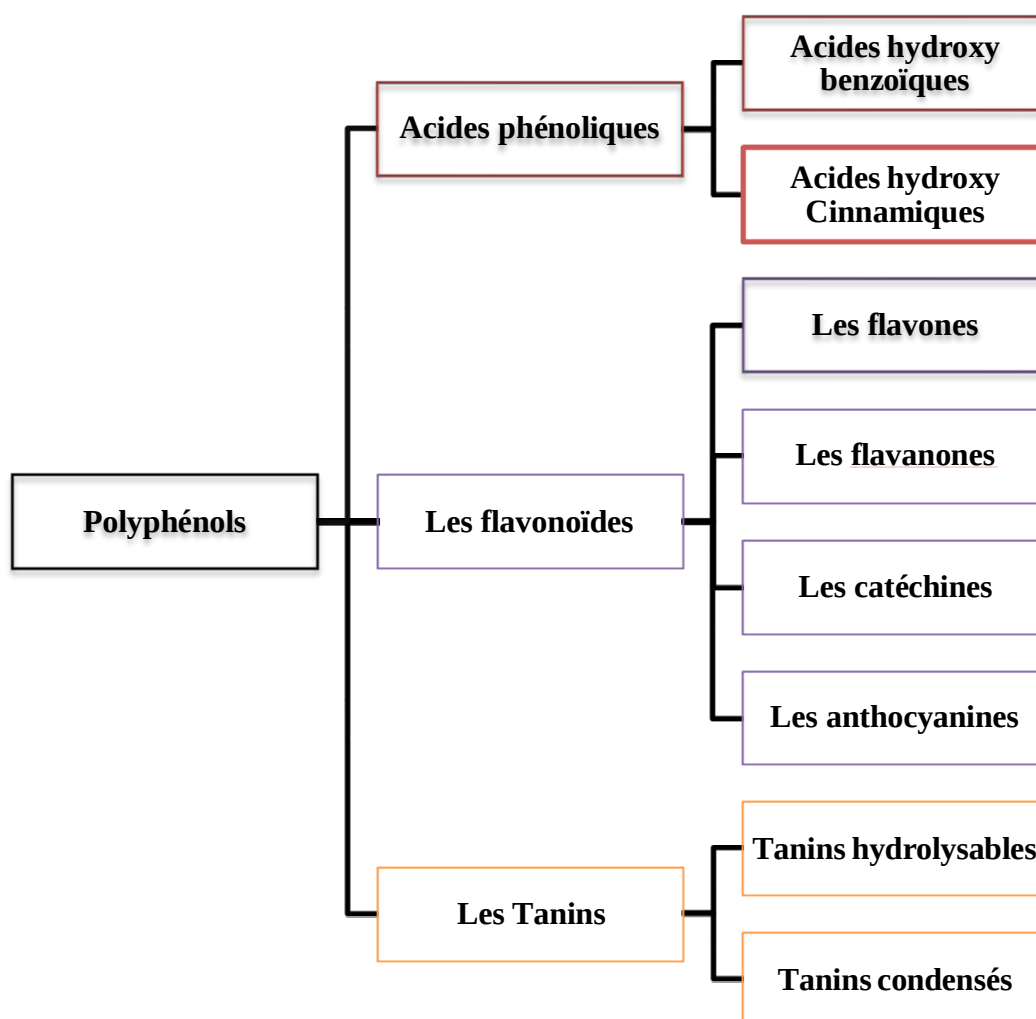


Figure n°03 : Classification des polyphénols (Kumar et *al.*, 2019 ; Yuan et *al.*, 2006)

2.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques caractérisés par la présence d'au moins un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles (-OH) ainsi qu'une fonction acide carboxylique (-COOH). Ils constituent l'un des principaux groupes de polyphénols présents dans les végétaux et sont largement distribués dans les fruits, les légumes, les céréales, les graines et les feuilles. Les acides phénoliques jouent un rôle important dans les mécanismes de défense des plantes contre les stress biotiques et abiotiques et sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Kumar et Goel, 2019).

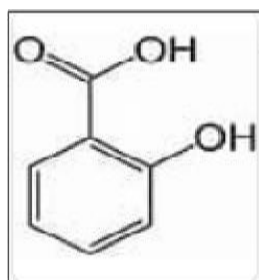


Figure n° 04: Structure de base de l'acide phénolique (KHALILI, 2005)

Les acides phénoliques sont divisés principalement en deux familles : les acides hydroxybenzoïques (qui dérivent de l'acide benzoïque), possédant une structure carbonée (C6-C1), et les acides hydroxycinnamiques (dérivés de l'acide cinnamique), ayant une structure carbonée (C6-C3) (Tableau n° 04) (Élie, 2022).

Tableau n° 04 : Acides phénoliques (Élie, 2022)

Acides hydroxybenzoïques	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Acides hydroxycinnamiques
 squelette carboné (C6-C1)					 squelette carboné (C6-C3)
Acide benzoïque	H	H	H	H	Acide cinnamique
Acide salicylique	OH	H	H	H	Acide ortho-coumarique
Acide parahydroxybenzoïque	H	H	OH	H	Acide para-coumarique
Acide gentisique	OH	H	H	OH	
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H	Acide caféique
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
Acide gallique	H	OH	OH	OH	
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols dont la structure de base est le noyau flavane constitué de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6), identifiés par les lettres A, B et C (Figure n°05). Ils présentent des activités biologiques anti-allergiques, antiviraux, antioxydantes, anti-inflammatoires et vasodilatateurs. Les 4 principaux groupes de flavonoïdes

sont les flavones, les flavanones, les catéchines, les anthocyanines (Yuan *et al.*, 2006 ; Panche *et al.*, 2016 ; Pietta, 2000).

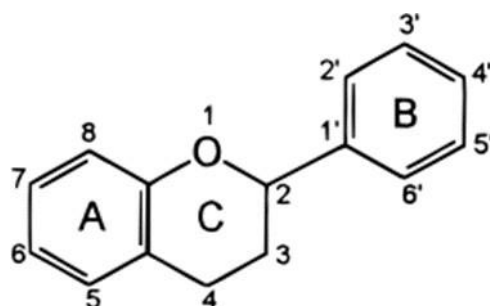


Figure n°05 : Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000)

2.1.3. Les Tanins

Les tanins sont des polyphénols présents dans les végétaux, reconnus pour leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, cardioprotectrice, antidiabétique et anticancéreuse. Il existe deux grandes catégories de tanins : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (Figure n° 06) (Dasa *et al.*, 2020 ; Cosme *et al.*, 2025)).

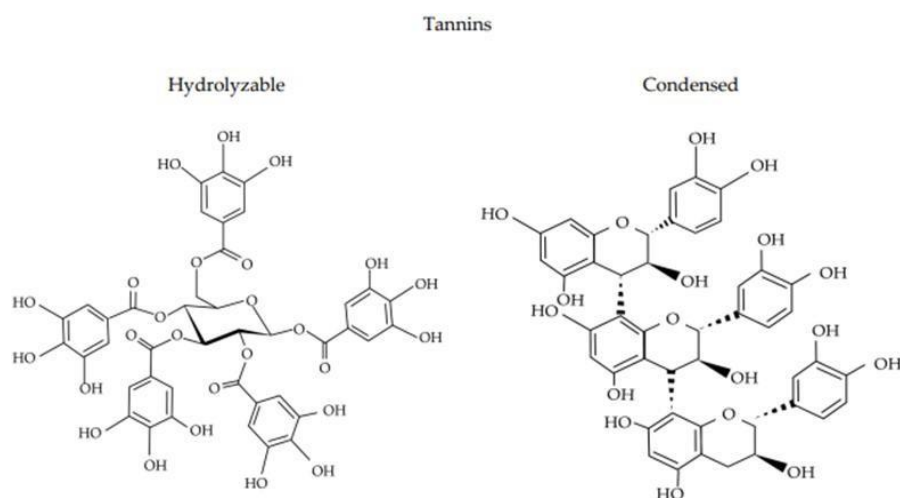


Figure n° 06 : Principales structures chimiques des tanins. (Cosme *et al.*, 2025)

2.2. Les Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires constitués d'unités isoprène, possédant une grande diversité structurale et des propriétés biologiques variées : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anti-cancéreuse (Câmara *et al.*, 2024).

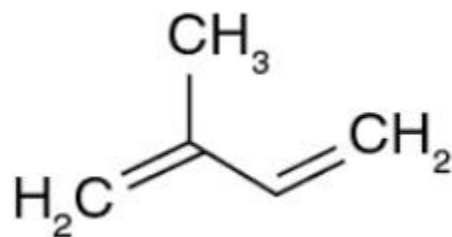


Figure n° 07 : structure de d'isoprène (Morot-Gaudry, 2016)

2.3. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés naturels caractérisés par la présence d'atomes d'azote basiques. Ils peuvent agir comme accepteurs ou donneurs d'hydrogène, une propriété essentielle pour leur interaction avec les cibles biologiques telles que les enzymes et les protéines. Ils peuvent être divisés en trois grandes catégories : les vrais alcaloïdes, protoalkaloïdes, pseudoalkaloïdes (Wieczorek et *al.*, 2015 ; Casciaro et *al.*, 2020 ; Dey et *al.*, 2020).

CHAPITRE III :

Viola odorata

1. Description botanique

Viola odorata est une plante herbacée, naine à une hauteur de 15 cm, vivace, d'origine européenne et asiatique, appartenant à la famille des *Violaceae*. Elle est connue souvent sous différents noms : la violette des bois, la violette anglaise, la violette de jardin, la violette odorante et la violette commune. Il s'agit d'une plante qui se développe à partir d'un rhizome. Les fleurs ont une couleur violette intense, avec des tiges en forme de fil, fréquemment utilisées dans la fabrication de parfums et de produits cosmétiques, grâce à son parfum doux (**Zaigham et al., 2019 ; Doğan et al., 2023**).



Figure n° 08 : *Viola odorata* L. (Dhiman et al., 2023)

(A) Fleur (B) Feuille (C) Racine (D) Plante entière.

2. Compositions chimiques

Les fleurs de *V. odorata* renferment une substance parfumée, un colorant bleu et du sucre. On trouve de la violacérine dans l'ensemble de la plante. Cette plante médicinale a aussi servi à l'extraction de l'acide salicylique (aspirine naturelle). La violine, un alcaloïde, est présente dans les racines, les feuilles, les fleurs et les graines de la violette commune. Ces métabolites sont à l'origine de nombreuses actions pharmacologiques de diverses préparations (**Feyzabadi et al., 2017**).

3. Usages traditionnels

Traditionnellement, *V. odorata* est utilisée pour traiter plusieurs troubles du système nerveux central, cardiovasculaire et respiratoire, ainsi que des problèmes cutanés, gastriques et hépatiques. Elle est mentionnée dans la Pharmacopée Herboriste Britannique comme expectorant et pour d'autres maladies comme la rétention d'eau et l'épilepsie. *Viola odorata* présente des activités neuroprotectrices en préservant les cellules neuronales contre la mortalité cellulaire due à une carence en sérum/glucose, grâce à ses propriétés antioxydantes. Elle montre aussi un potentiel dans la réduction du volume de l'infarctus et des déficits neurologiques dans un modèle d'accident vasculaire cérébral. Par ailleurs, des effets antihypertenseurs et dyslipidémiques ont été observés, notamment une vasodilatation régulée par l'inhibition des canaux calciques (**Bashir et al., 2021 ; Dhiman et al., 2023**).

***2^{ème} Partie : La
partie expérimentale***

Matériel et méthodes

La partie expérimentale de notre étude a été effectuée au sein du laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie synthèse et activité biologique (LAPSAB), université de Tlemcen de biochimie du département biologie, Faculté SNV– STU.

Le protocole expérimental de ce présent travail est constitué d'une partie phytochimique et d'une partie biologique. Il a été réalisé de la manière suivante :

- ✓ Préparation des extraits aqueux et organiques des fleurs de la plante *Viola odorata*.
- ✓ Analyse phytochimique et dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits préparés.
- ✓ Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits en utilisant les tests : DPPH, FRAP, ABTS et CAT.
- ✓ Évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits par la mesure de leur effet sur l'activité de l'enzyme lipoxgénase (LOX).

1. Le matériel végétal

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé des fleurs séchées de *Viola odorata*, d'origine chinoise, achetées sur le marché de la région de Maghnia (wilaya de Tlemcen) au cours du mois de février 2026 (**Figure n°09**).



Figure n°09 : Les fleurs de la plante *Viola odorata*

2. Extraction

Les fleurs séchées de la plante *Viola odorata* ont fait l'objet de trois extractions chimiques pour la préparation des extraits aqueux et organiques :

1. Infusion : 15g de fleurs séchées de la plante ont été mises en contact avec 300 mL d'eau distillée bouillante et laisser infuser pendant 30 minutes. Après refroidissement, l'extrait obtenu a été filtré puis séché dans une étuve ventilée à 37 °C pendant 48 heures afin de récupérer l'extrait aqueux (**Aq**) des fleurs séchées.

2. Décoction : 15g des fleurs séchées de la plante *Viola odorata* ont été mise en contact avec 300 mL du mélange eau-éthanol (70/30 v/v) dans un ballon puis le mélange est soumis à une décoction sous reflux-pendant 1h. Après refroidissement, le décocté obtenu a été filtré puis séché dans l'étuve ventilée à 37°C pendant 48h pour récupérer l'extrait eau-éthanol (**EtOH1**) des fleurs séchées.

3.-Macération : 15g des fleurs séchées de la plante *Viola odorata* ont été mise en contact avec 300 mL du mélange eau-éthanol (70/30 v/v) pendant 24h, l'extrait obtenu a été filtré puis séché dans l'étuve ventilée à 37°C pendant 48h pour récupérer l'extrait eau-éthanol (**EtOH2**) des fleurs séchées. La figure ci-dessous résume le protocole d'extraction.

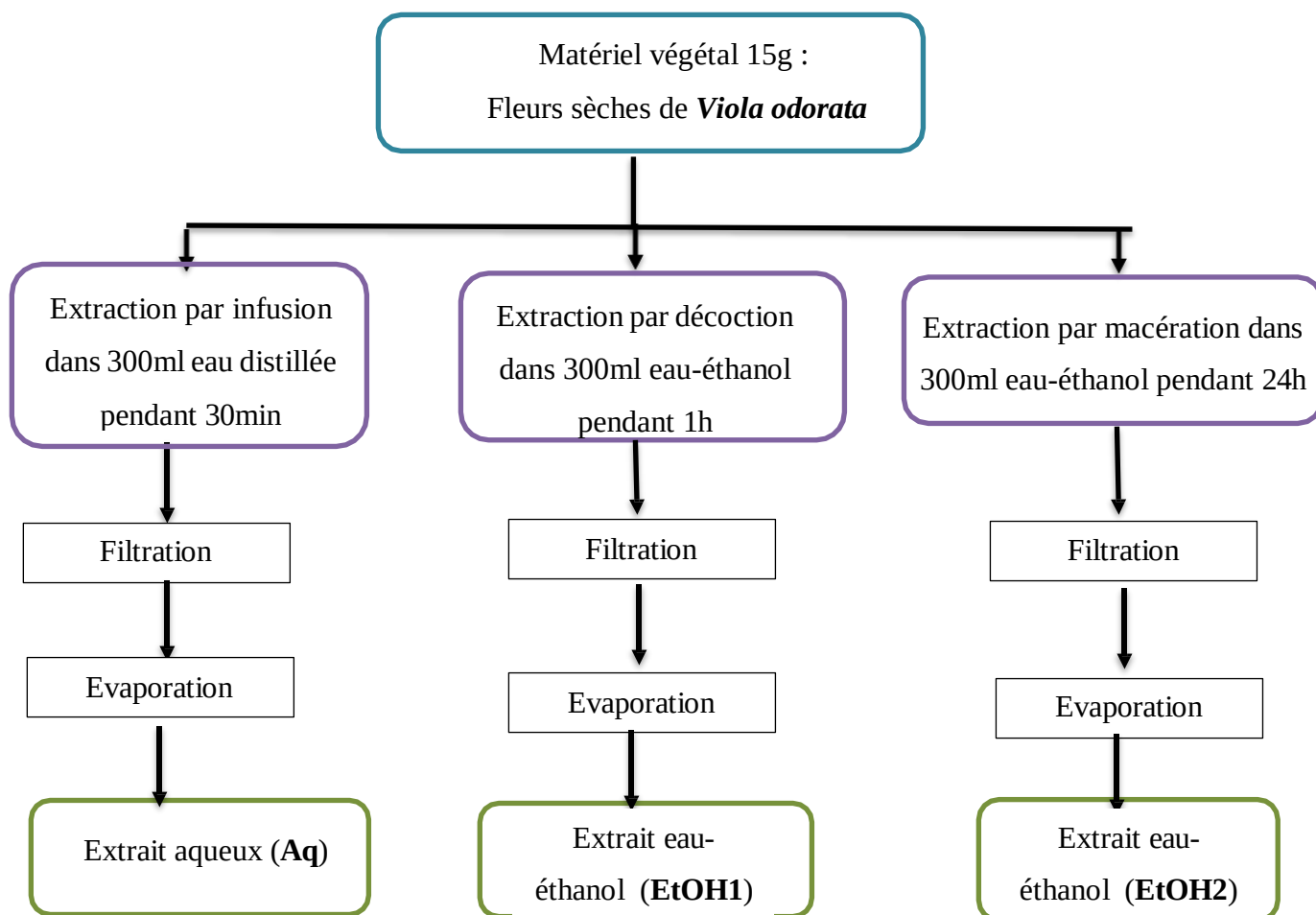


Figure n°10 : Schéma récapitulatif de la préparation des extraits de *Viola odorata*.

2.1 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction défini comme étant le rapport entre la masse du produit sec récupéré après extraction et la masse de la matière végétale sèche initiale ayant servi pour l'extraction ; est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (M0/M1) \times 100$$

M0 : Masse en gramme du résidu sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale.

3. Screening phytochimique des extraits préparés

Les extraits récupérés à partir des deux plantes étudiées, ont été soumis à un criblage phytochimique selon le protocole de **Trease et al., (1989)**; **Harbone, (1998)** et **Andrianarison et al., (2015)**, afin de révéler la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires ;

▪ Tanins

0,5 mL de chlorure ferrique FeCl_3 (1%) est ajouté à 2 mL de l'extrait, après incubation pendant 15 min à température ambiante le développement d'une coloration verte caractérise les tanins catéchiques, tandis que la couleur bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques.

▪ Flavonoïdes

1 mL de l'extrait est mélangé avec 1 mL d'acide chlorhydrique (37%) et quelques copeaux de tournures de Magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou rose indique la présence de flavonoïdes.

▪ Quinones libres

Une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet après l'addition de 0,5 mL d'hydroxyde de sodium NaOH (1%) à 5 mL de l'extrait révèle la présence des quinones libres.

▪ Coumarines

20 mg de l'extrait est solubilisé dans 2 mL de l'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux volumes égaux, dont la première représente une solution témoin, la deuxième est traitée avec 0,5 mL de l'ammoniaque (NH_4OH) à 10%. Après l'exposition des deux solutions à la lumière ultraviolette à 366 nm, une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

▪ Anthraquinones

5 mL de NH_4OH (10%) ont été mélangé avec 5 mL de l'extrait, après agitation la présence des anthraquinones est indiquée par l'apparition d'une coloration violette.

▪ Alcaloïdes

La présence des alcaloïdes dans les extraits est révélée par deux réactifs, le réactif de Mayer et le réactif de Wagner. 0,5 mL de chaque extrait est mélangé avec 5 mL de l'acide chlorhydrique (1%) ; la solution obtenue est divisée en deux volumes égaux dont le premier est traité par 0,5 mL du réactif de Mayer et le second par 0,5 mL du réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

▪ Terpénoïdes

Deux tests ont été utilisés pour détecter la présence des terpénoïdes ;

Test de Libermann-Burchard : à 5 mL de l'extrait, 0,5mL d'anhydride acétique et 0,5mL de l'acide sulfurique concentré sont ajoutés. Après incubation de 15min à température ambiante, l'apparition d'une couleur mauve ou verte indique la présence de terpènes stéroïdiennes ou triterpénoïques, respectivement.

Test de chloroforme : 5 mL d'extrait est mélangé avec 2 mL de Chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

▪ Saponoside

Test de mousse : dans un tube à essai, 10 mL de l'extrait est agité pendant 15 secondes. Après 15 min, une mousse persistante supérieur à 1cm indique la présence de saponosides.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1 Dosage de polyphénols totaux

➤ Principe :

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène en présence de carbonate de sodium (Na_2CO_3). La coloration produite qui absorbe entre 725 et 750 nm est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (Boizot et al., 2006; Manarim et al., 2016).

➤ *Mode opératoire*

Selon le protocole décrit par **Vermerris et al., (2006)**; un aliquot de 100 µL de chaque extrait est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2% fraîchement préparée. Après 5 min, 100 µL du réactif du Folin-Ciocalteu (0,2 N) est ajouté au mélange. Ce dernier, après agitation, est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique est mesurée contre le tube blanc au spectrophotomètre (JENWAY) à une longueur d'onde (λ) de 725 nm. Une courbe étalon a été réalisée, en parallèle, dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon à différentes concentrations de 10 à 1000 µg/mL.

La concentration des polyphénols totaux présents dans les échantillons, exprimée en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg eq AG/mg Es) .

4.2 Dosage de flavonoïdes totaux

➤ *Principe*

Le taux de flavonoïdes dans les extraits préparés a été déterminé par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). Dans le milieu réactionnel, la soude ionise tous les hydroxyles phénoliques du squelette flavonique. La présence du chlorure d'aluminium dans la solution mène à la formation d'un complexe de couleur jaune-orange absorbe dans le visible à 510 nm (**Chang et al., 2002; Mekkiou, 2005; Manarim et al., 2016**).

➤ *Mode opératoire*

La teneur en flavonoïdes totaux dans chaque extrait a été déterminée selon le protocole décrit par **Zhishen et al., (1999)**. Un volume de 0,5 mL de chaque échantillon, est mélangé avec 2 mL d'eau distillée et 0,15 mL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15%. Après 6 minutes à température ambiante, 0,15 mL d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% et 2 mL de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH à 4%) sont ajoutés ; le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée. Après agitation au vortex, le mélange est incubé pendant 15 minutes à température ambiante.

L'absorbance est mesurée contre le tube blanc (méthanol) au spectrophotomètre à une longueur d'onde (λ) de 510 nm. Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations (10 à 1000 µg/mL) permettra la détermination du taux des flavonoïdes totaux.

Le taux de flavonoïdes présents dans les échantillons, exprimée en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq Cat/mg E}$)

4.3 Dosage des tanins condensés

➤ Principe

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines, sont des composés phénoliques capables de réagir avec la vanilline en milieu acide. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe de couleur rouge qui absorbe dans le visible à 490nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de tanins condensés présente dans l'échantillon (**Sun et al.,1998**).

➤ Mode opératoire (**Sun et al.,1998**)

0,05 mL de chaque échantillon est mélangé avec 1,5 mL de solution de vanilline à 4 % et 0,75 mL d'acide chlorhydrique. Le mélange est homogénéisé puis incubé pendant 20 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est établie à partir de différentes concentrations de catéchine (50-1000 $\mu\text{g/mL}$). La teneur en tanins condensés de l'échantillon est ensuite calculée à partir de l'équation de la droite d'étalonnage et exprimée en microgrammes équivalent de catéchine par milligramme d'extrait (**$\mu\text{g EAG/mg E}$**).

5. Evaluation de l'activité antioxydante

5.1 Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre DPPH

➤ Principe

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical azoté stable de couleur violette. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, soluble dans le méthanol et caractérisé par son pic d'absorbance à 515 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH par transfert d'un hydrogène, passe à la forme réduite en formant le 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPHH) de couleur jaune. La décoloration violette est proportionnelle au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Kouame, 2009; Locatelli et al., 2009; Popovici et al., 2009**).

➤ *Mode opératoire*

L'effet antiradicalaire de chaque extrait sur le DPPH a été évalué selon le protocole de **Kumar et al., (2008)**. Après la préparation des extraits dans du méthanol à différentes concentrations (1-12 mg/mL), 50 µL de chaque solution d'extraits a été ajouté à 1950 µL d'une solution méthanolique du DPPH (25 µg/mL). Après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 515 nm contre un tube blanc pour chaque concentration, et qui contient 50 µL de l'échantillon testé et 1950 µL du méthanol. Le tube contrôle contient 50 µL du méthanol et 1950 µL de la solution du DPPH, son tube blanc contient 2 mL du méthanol.

Dans les mêmes conditions opératoires, deux molécules antioxydantes de références l'acide ascorbique et BHA (Butylated hydroxyanisole) ont été testés à différentes concentrations (1-4 µg/mL). Les résultats du piégeage du radical DPPH sont exprimés en pourcentage selon la formule suivante :

$$DPPH (\%) = \frac{(Do\ contr) - (Do\ échan)}{(Do\ contr)} \times 100$$

DPPH (%): Pourcentage de réduction du DPPH.

Do contr: Densité optique de la réaction sans échantillon.

Do échan : Densité optique de la réaction en présence d'échantillon

L'activité anti-radicalaire est aussi exprimée en valeur de IC₅₀ qui représente la concentration du substrat responsable de la réduction de 50% de la forme radicalaire du DPPH. Cette valeur est déterminée graphiquement (%DPPH=f [extrait µg/mL]).

5.2 Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre ABTS

» *Principe*

La méthode ABTS est une technique spectrophotométrique qui repose sur la création d'un radical cationique de couleur bleu-vert (ABTS^{•+}) dérivé de l'ABTS, aussi appelé acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), en présence du persulfate de potassium. La réduction de ce radical par un antioxydant se traduit par une décoloration mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm (**Re et al., 1999**).

» *Mode opératoire*

Selon le protocole de **Re et al., 1999**, la solution d'ABTS^{•+} est obtenue par le mélange de l'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (2,45 mM). Le mélange est stocké pendant 12 à 16 heures, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Avant l'utilisation, le réactif d'ABTS^{•+} est ajusté à une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm.

40 µL d'extrait à différentes concentrations (0,003- 0,187 mg/ml) ont été ajouté à 160 µL d'ABTS^{•+}. Après incubation pendant 10 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm. L'α-tocophérol et le BHA ont été utilisé comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition est exprimé selon la formule suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = \frac{(\text{DO control}) - (\text{DO échantillon})}{(\text{DO control})} \times 100$$

ABTS% : Pourcentage de formation de radical cationique ABTS^{•+}

DO control : Densité optique de la réaction sans échantillon.

DO échantillon : Densité optique de la réaction en présence de l'échantillon.

5.3 Evaluation du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

➤ *Principe*

Cette technique colorimétrique est basée sur la mesure de la capacité des extraits testés à transférer des électrons par des réactions d'oxydo-réduction, et de réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le ferricyanure de potassium [K₃Fe (CN)₆] en ions ferreux (Fe²⁺). Cette réaction est révélée par l'utilisation du FeCl₃ qui forme avec le fer ferreux (Fe²⁺) un complexe de couleur bleu-vert appelé le bleu de Prusse (Prussian blue) caractérisé par un maximum d'absorbance à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Chung et al., 2002; Amarowicz et al., 2004; Bougandoura et al., 2013; Kumar et al., 2019**).

➤ *Mode opératoire*

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon le protocole de **Ferreira et al., (2007), Karagözlür et al. (2008) et Bougandoura et al., (2013)**. 1 mL de chaque extrait à différentes concentrations finales (0,09-1mg/mL) est mélangé avec 2,5 mL de la solution du tampon phosphate (0,2 M; pH = 6,6) et 2,5 mL d'une solution du ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ à 1%, puis les tubes sont incubés à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% est ajoutée pour arrêter la

réaction dans tous les tubes qui sont centrifugés à 1000 tours/min pendant 10 minutes. Puis 2,5 mL du surnageant est mélangé avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5mL de la solution du FeCl_3 (0,1 %). L'absorbance de chaque tube a été mesurée à 700 nm contre le tube blanc.

L'acide ascorbique, BHA sont utilisés comme molécules antioxydantes de références à différentes concentrations (0,28-5 $\mu\text{g/mL}$). Les résultats du pouvoir réducteur du fer sont exprimés en valeur de EC_{50} , la concentration de l'extrait fournissant 0,5 d'absorbance déterminée à partir du graphique d'absorbance à 700 nm par rapport à la concentration de l'extrait.

5.4 Evaluation de la capacité antioxydante totale (CAT)

➤ *Principe*

Cette technique est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate, en molybdène Mo(V) pour former un complexe vert de phosphomolybdate ($[\text{H}_4\text{PMo}_8^{\text{VI}}\text{Mo}_4^{\text{V}}\text{O}_{40}]^{3-}$) à pH acide qui absorbe à 695nm (**Prieto et al., 1999; Phatak et al., 2014; Sadeer et al., 2020**).

➤ *Mode opératoire*

La capacité antioxydante totale des extraits a été réalisée selon le protocole de **Prieto et al., (1999) et Phatak et al., (2014)**. Un volume de 0,1 mL de chaque extrait (1 mg/mL) est mélangé avec 1mL du réactif de phosphomolybdène (acide sulfurique (0,6 M), phosphate de sodium (28 mM) et molybdate d'ammonium (4 mM)). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre le tube blanc. La capacité antioxydante totale, déterminée à partir de la gamme étalon de l'acide gallique (0,9-90,9 $\mu\text{g/mL}$), est exprimée en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq AG/mg}$ extrait).

6.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de l'enzyme lipoxygénase (Activité anti-LOX)

» *Principe*

L'inhibition de l'activité de l'enzyme lipoxygénase a été déterminée par une méthode spectrophotométrique décrite par **Axelrod, Cheesbrough et Laakso (1981) et Lončarić et al., (2020)** en utilisant l'acide linoléique comme substrat. Pour cette activité, nous avons utilisé

lipoxygénase, lipoxidase de type I–B (Lipoxygénase, LOX, EC 1.13.11.12) de Glycine max (soja) pour l'évaluation de l'effet des extraits des plantes étudiées. Cette enzyme catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturé en hydroperoxyde.

» *Mode opératoire*

Le mélange réactionnel est constitué de 300µL de la solution d'enzyme lipoxygénase préparée à 200 U/ml dans un tampon borate (0,2 M ; pH 9,0), 100µL d'extrait (0,37-10mg/ml) ou d'inhibiteur NDGA (acidenordihydroguaïarétique) (0,07-6mg/ml) et 2500 µL de tampon borate. Après 1 minute, 100µL de solution d'acide linoléique (4mM) sont ajoutées. Après une minute l'absorbance est mesurée à 234 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition\%} = \frac{(\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance Echantillon})}{\text{Absorbance contrôle}} \times 100$$

Absorbance Contrôle : Absorbance de la réaction enzymatique sans inhibiteur

Absorbance Echantillon : Absorbance de la réaction enzymatique en présence d'extrait ou NDGA.

3^{ème} Partie : *Résultats et* *Interprétation*

1.-Caractéristiques des extraits de la plante *Viola odorata*

Après extraction et évaporation à sec des solvants d'extraction, les extraits ont été récupéré sous forme solide, poudre ou pâte, le **tableau n°05** résume les caractéristiques des extraits.

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des extraits préparés à partir des fleurs de *Viola odorata* ont été récupérés sous forme de pâte ou poudre de couleur marron, soluble dans l'eau distillée, le rendement d'extraction varie selon le solvant et la méthode d'extraction, l'extrait eau-éthanol (macération) (**EtOH2**) présent le rendement le plus élevé (22,8%) suivi par l'extrait eau-éthanol (décoction) (**EtOH1**) (15%) et l'extrait aqueux (**Aq**) (10,98%).

Tableau n°05 : Caractéristiques et rendement des extraits des fleurs de la plante *Viola odorata*

Extrait	Aspect et couleur	Rendement (%)	Solubilité
Aq	Poudre Marron	10,98	Eau distillée
EtOH1	Pâte-Marron	15	
EtOH2	Pâte-Marron	22,8	

2. Screening phytochimiques des extraits

Les résultats des tests phytochimiques des extraits préparés sont représentés dans le **tableau n°06**. Les analyses phytochimiques réalisés sur les extraits des trois méthodes d'extraction des fleurs séchées de la plante *Viola odorata* ont révélé la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires. Les résultats obtenus ont la présence de tanins, flavonoïdes, et de quinones libres et l'absence de terpénoïdes et Anthraquinones dans tous les extraits préparés. Les saponosides ont été observé exclusivement dans l'extrait eau-éthanol (**EtOH1**), tandis que les alcaloïdes n'ont été identifié que dans l'extrait aqueux (**Aq**).

Tableau n°06 : Screening phytochimiques des extraits de la plante *Viola odorata*

Extraits	Tanins	Flavonoïdes	Quinones libres	Anthraquinones	Coumarines	Saponoside	Alcaloïdes		Terpénoides	
							Mayer	Wagner	Liebermann	Chloroforme
Aq	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
(EtOH1)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
(EtOH2)	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-

(+):Test positif;(-):Test négatif.

3. Taux des composés phénoliques

Le taux de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés dans les extraits préparés, sont représentés dans **le tableau n°07**. Les résultats obtenus sont exprimés respectivement en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait (μg EAG/mg E), et en microgrammes équivalent de la catéchine par milligrammes d'extrait (μg EC/mg E). La **figure n°11**, représente les courbes d'étalonnages de l'acide gallique et de la catéchine.

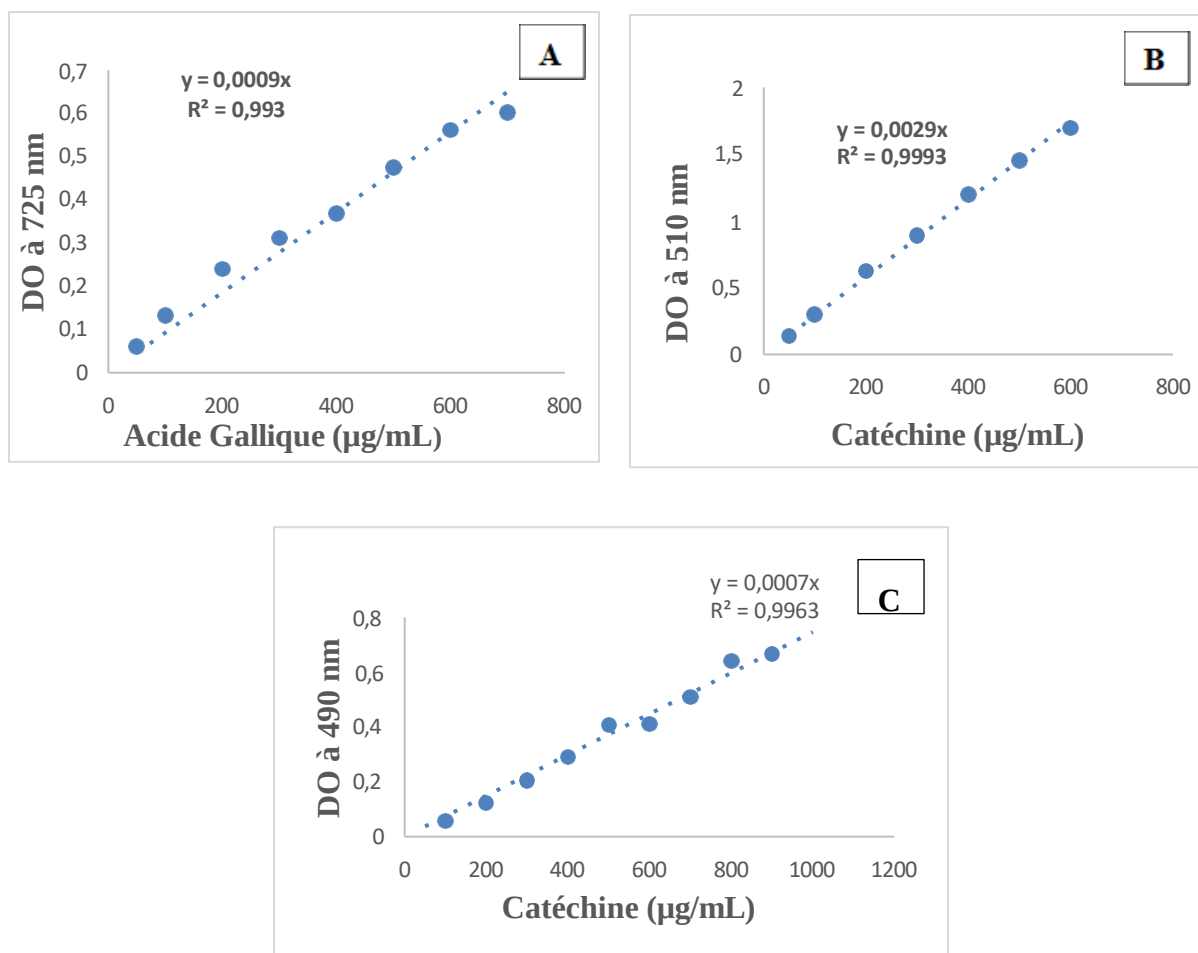


Figure n°11 : Courbe étalon du dosage de polyphénols (A), de flavonoïdes (B) et de tanins (C)

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins sont regroupés dans le **tableau n°07**. Les résultats montrent des teneurs variables dans les trois extraits. L'extrait aqueux (Aq) referme le taux le plus élevé en polyphénols (103,64 µg EAG/mg E), en flavonoïdes (17-µg EC/mg E) et tanins (21,2 µg EC/mg E). Concernant les extraits eau-éthanol (macération) (**EtOH2**) et (décoction) (**EtOH1**) des teneurs de 61,83 ; 69,35 µg EAG/mg E ; 14,10 ; 16,34 µg EC/mg E et 17,19;16,46 µg EC/mg E ont été noté.

Tableau n° 07: Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des fleurs de *Viola odorata*

Extraits	Polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EC/mg E}$)	Tanins ($\mu\text{g EC/mg E}$)
Aq	103,64 $\pm$ 0,015	17 $\pm$ 0,006	21,2 $\pm$ 0,044
EtOH1	69,35 $\pm$ 0,002	16,34 $\pm$ 0,009	16,46 $\pm$ 0,004
EtOH2	61,83 $\pm$ 0,005	14,10 $\pm$ 0,014	17,19 $\pm$ 0,003

4. Effet antioxydante des extraits de la plante *Viola odorata*

Quatre tests ont été effectués pour évaluer l'activité antioxydante : pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH, pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS, pouvoir réducteur du fer au ferricyanure de potassium (FRAP) et la capacité antioxydante totale (CAT).

4.1 Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH

Les résultats de l'effet antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits de *Viola odorata* et de molécules de références (acide ascorbique et BHA) exprimées en pourcentage de réduction et en IC₅₀ (la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% du DPPH• déterminé à partir de l'équation de la régression logarithmique (**figure n°12**).

Tableau n°08: Effet antiradicalaire des molécules de références sur le DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Concentration de l'acide ascorbique (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,001	0,002	0,004	0,006	0,010	0,016	
Réduction de DPPH (%)	23,28 $\pm$ 0,029	34,71 $\pm$ 0,057	52,02 $\pm$ 0,085	58,87 $\pm$ 0,077	63,57 $\pm$ 0,079	72,84 $\pm$ 0,056	0,005
	Concentration de BHA (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,0007	0,001	0,002	0,003	0,005	0,008	
Réduction de DPPH (%)	22,99 $\pm$ 0,002	29,852 $\pm$ 0,003	43,033 $\pm$ 0,015	53,237 $\pm$ 0,001	66,04 $\pm$ 0,007	77,232 $\pm$ 0,01	0,0024

Résultats et interprétation

Dans le **tableau n°08** nous avons remarqué une augmentation du pourcentage de réduction du DPPH proportionnelle à la concentration de l'acide ascorbique. A 0,016mg/mL, il réduit 72,84 % du radical DPPH avec une IC_{50} de 0,005 mg/mL. Pour la BHA, les résultats montrent une augmentation du pourcentage de réduction du DPPH proportionnelle à la concentration du BHA. À la concentration 0,008 mg/mL, il réduit 77,232 % du DPPH avec une IC_{50} de 0,0024mg/mL.

L'effet antiradicalaire des extraits de *Viola odorata* est représenté dans le **tableau n° 09** et la **figure n°12**.

Tableau n° 09 : Effet antiradicalaire des extraits de *Viola odorata* sur le DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Concentration (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,04	0,07	0,12	0,19	0,31	0,50	
Aq	26,03 ±0,011	31,15 ±0,007	42,34 ±0,017	51,81 ±0,009	60,99 ±0,037	67,47 ±0,049	0,185
EtOH1	22,8 ±0,007	36,51 ±0,009	51,85 ±0,004	66,17 ±0,03	76,1 ±0,02	84,54 ±0,014	0,122
EtOH2	17,65 ± 0,002	26,95 ± 0,002	39,74 ± 0,002	56,01 ±0,002	74,27 ±0,014	89,11 ±0,002	0,151

Selon ces résultats tous les extraits ont montré une réduction du DPPH proportionnelle à la concentration des extraits. A la concentration 0,5mg/mL, nos extraits assurent une réduction du DPPH qui varie entre 67,47 et 89,11%. Les valeurs d' IC_{50} déterminées varient globalement entre 0,122 et 0,185 mg/mL. L'extrait EtOH1 indique une forte activité antiradicalaire avec une faible IC_{50} (0,122mg/mL) mais qui reste inférieure à celle des molécules de référence.

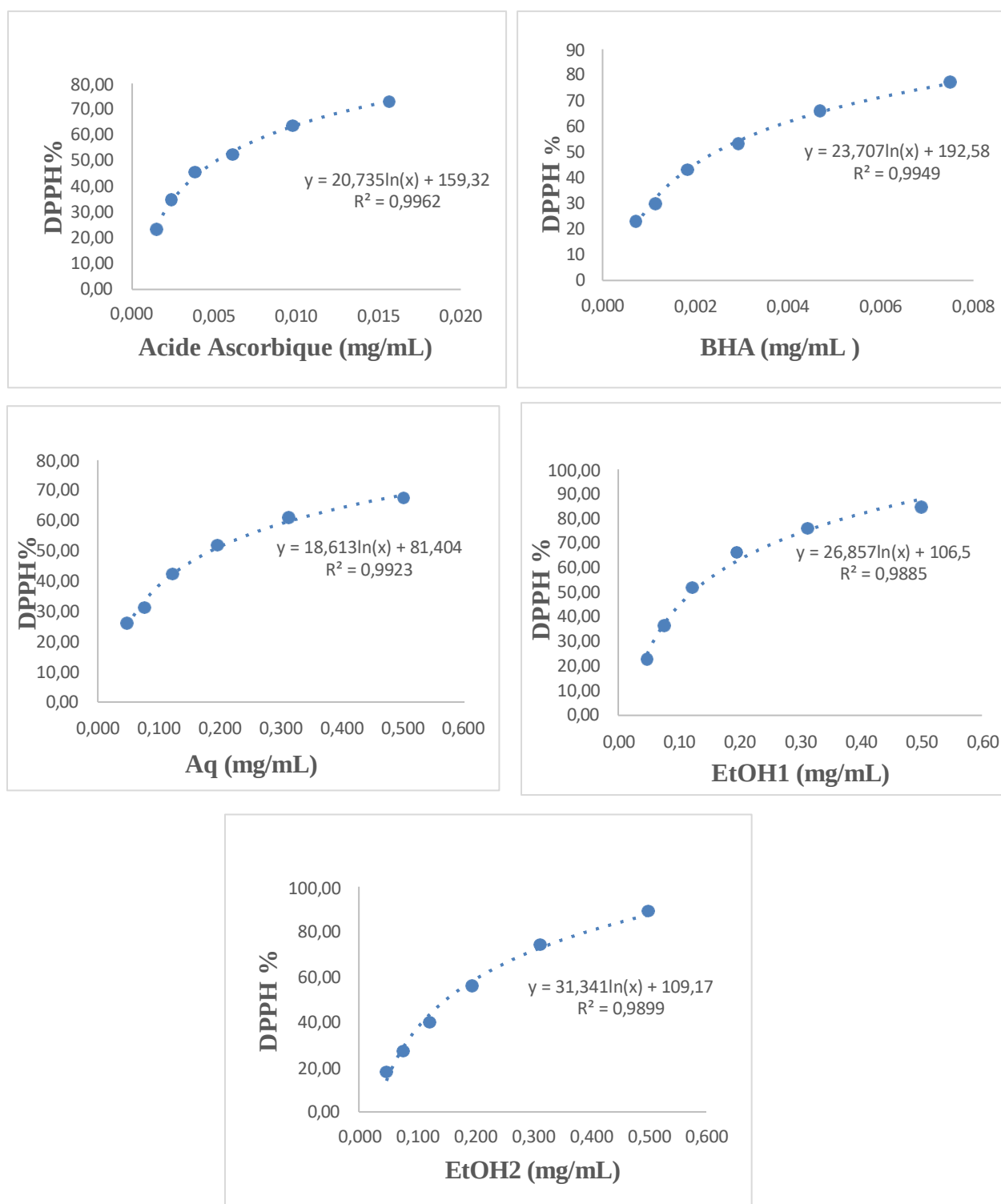


Figure n° 12: Pourcentage d'inhibition des molécules de références et des extraits de *Viola odorata* sur le radical DPPH.

4.2 Le pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits de *Viola odorata* sur la réduction du fer a été déterminé par la méthode au ferricyanure de potassium. Le BHA et l'acide ascorbique sont utilisés comme contrôles positifs. Les résultats obtenus sont regroupés dans les **tableaux n°10 et n°11** et la **figure n°13**. La concentration efficace moyenne (EC₅₀) qui correspond à une Absorbance de 0,5 déterminé est de 0,191 mg/mL pour le BHA, et 0,256 mg/mL pour l'acide ascorbique.

Tableau n°10 : Pouvoir réducteur des molécules de références

	Concentration (mg/mL)						EC ₅₀ (mg/mL)
	0,05	0,09	0,14	0,23	0,37	0,94	
A. ascorbique (700nm)	0,14 ± 0,006	0,18 ± 0,005	0,29 ± 0,022	0,46 ± 0,015	0,65 ± 0,023	1,85 ± 0,016	0,256
	Concentration (mg/mL)						EC ₅₀ (mg/mL)
	0,056	0,090	0,144	0,230	0,368	0,588	
BHA (700nm)	0,23 ± 0,008	0,29 ± 0,008	0,46 ± 0,014	0,69 ± 0,019	1,03 ± 0,045	1,43 ± 0,108	0,191

L'effet des extraits de *Viola odorata* sur le pouvoir réducteur du fer est représenté dans le **tableau n°11** et la **figure n°13**. L'ensemble des extraits ont montré un pouvoir réducteur du fer très remarquable, dont les valeurs de EC₅₀ déterminées varient entre 0,188 et 0,335, mg/mL. L'extrait **EtOH1** montre le meilleur pouvoir réducteur (EC₅₀ = 0,188 mg/mL), supérieur à celui du BHA (EC₅₀ = 0,191 mg/mL) et de l'acide ascorbique (EC₅₀ = 0,256 mg/mL),.

Tableau n°11 : Pouvoir réducteur des extraits de *Viola odorata*.

	Concentration (mg/mL)								EC ₅₀ (mg/mL)
	0,018	0,029	0,046	0,074	0,118	0,188	0,353	0,565	
Aq	0,03 ± 0,003	0,05 ± 0,004	0,08 ± 0,003	0,14 ± 0,002	0,2 ± 0,005	0,33 ± 0,009	0,51 ± 0,009	0,83 ± 0,046	0,335
EtOH1	0,05 ± 0,014	0,08 ± 0,004	0,14 ± 0,005	0,22 ± 0,006	0,32 ± 0,003	0,45 ± 0,02	0,95 ± 0,95	—	0,188
EtOH2	0,06 ± 0,006	0,07 ± 0,004	0,12 ± 0,004	0,18 ± 0,01	0,29 ± 0,009	0,43 ± 0,01	0,88 ± 0,025	1,24 ± 0,025	0,217

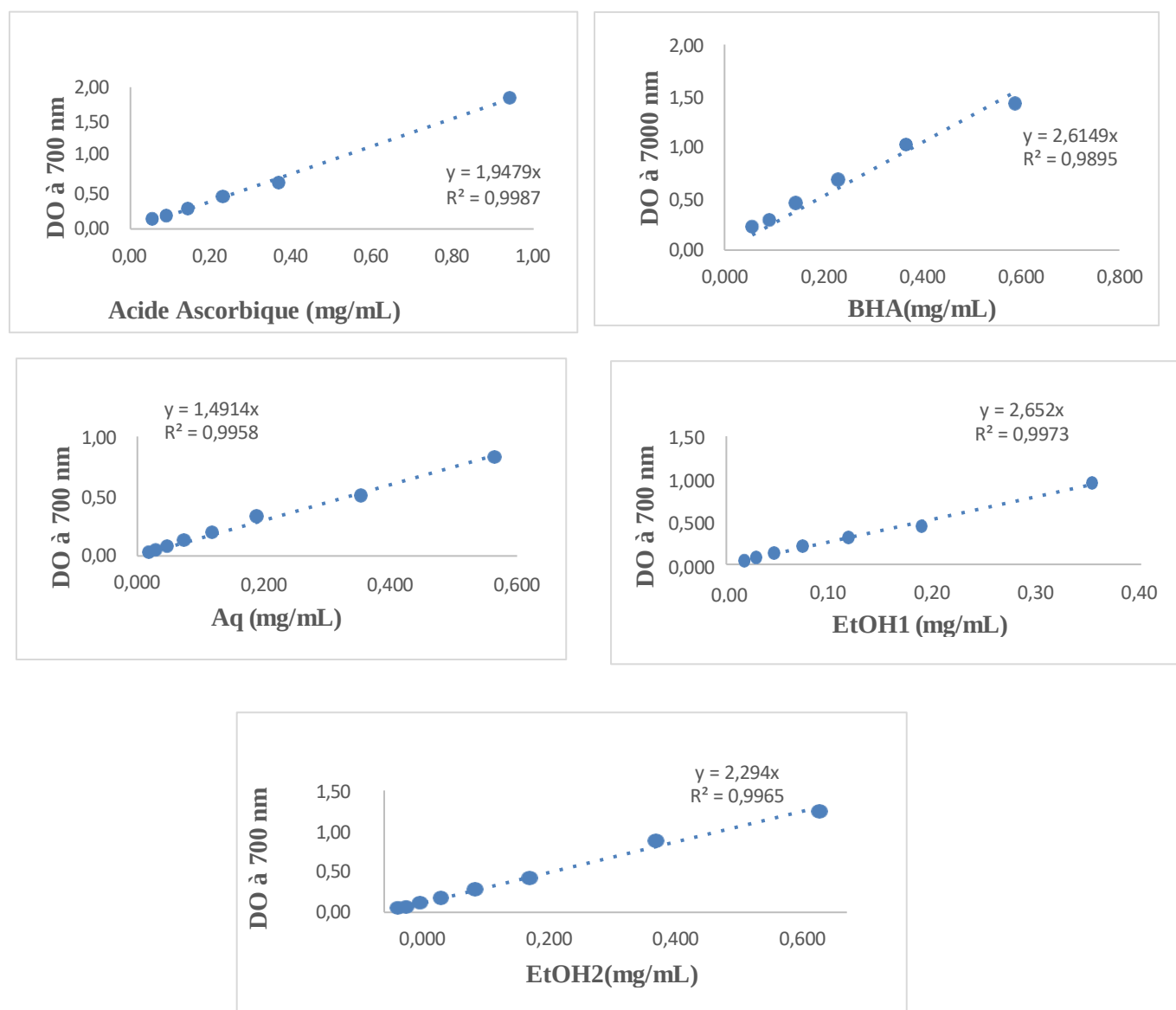


Figure n°13: Pouvoir réducteur des molécules de références et des extraits de *Viola odorata*

4.3 Effet antiradicalaire sur l'ABTS

Les résultats de la capacité des extraits ainsi que les molécules de références à neutraliser le radical ABTS•+ sont indiquées en pourcentage d'inhibition, et en valeur d'IC₅₀ dans le **tableau n°12 et 13**.

Selon les résultats obtenus, les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées à partir de l'équation de la régression logarithmique (**figure n°14**) pour les molécules de références (BHA, alpha-tocophérol) et les trois extraits.

Tableau n°12: Effet antiradicalaire du BHA et Alpha-tocophérol sur l'ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Concentration du BHA (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,0007	0,0012	0,0019	0,0030	0,0049	0,0078	
Réduction d'ABTS %	35,44 ± 0,009	49,51 ± 0,007	61,33 ± 0,022	75,93 ± 0,002	83,35 ± 0,005	95,91 ± 0,001	0,0012
	Concentration de l'alpha-tocophérol (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,005	0,008	0,012	0,020	0,032	0,051	
Réduction d'ABTS %	40,86 ± 0,013	44,88 ± 0,002	55,94 ± 0,004	65,96 ± 0,001	74,07 ± 0,007	88,11 ± 0,006	0,0088

Le **tableau n°12** montre une augmentation du pourcentage de réduction de l'ABTS proportionnelle à la concentration du BHA et de l'alpha-tocophérol. À une concentration de 0,0078 mg/mL, le BHA réduit 95,91 % de l'ABTS avec une IC₅₀ de 0,0012 mg/mL. Quant à l'alpha-tocophérol, à une concentration de 0,051 mg/mL, il réduit 88,11 % de l'ABTS avec une IC₅₀ de 0,0088 mg/mL.

Tableau n° 13: Effet antiradicalaire des extraits de *Viola odorata* sur l'ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Concentration (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,006	0,009	0,015	0,023	0,038	0,060	
Aq	5,58 ± 0,003	22,66 ± 0,006	36,41 ± 0,002	49,83 ± 0,004	64,01 ± 0,035	80,77 ± 0,001	0,023
EtOH1	21,48 ± 0,012	36,62 ± 0,002	42,32 ± 0,001	76,26 ± 0,023	85,6 ± 0,028	93,55 ± 0,002	0,014
EtOH2	Concentration (mg/mL)						IC ₅₀ (mg/mL)
	0,004	0,006	0,010	0,016	0,025	0,040	
	5,47 ± 0,008	11,60 ± 0,015	16,86 ± 0,006	31,47 ± 0,007	49,08 ± 0,016	55,85 ± 0,004	0,034

Selon ces résultats regroupés dans le **tableau n°13**, tous les extraits ont montré une réduction de l'ABTS proportionnelle à leur concentration des extraits. À une concentration de 0,06 mg/mL, l'extrait EtOH1 assure une réduction de l'ABTS de 93,55 %, tandis que l'extrait Aq , À la même concentration, atteint une réduction de 80,77 %, et pour l'extrait EtOH2 à une concentration de 0,04 mg/mL assure une réduction de 55,85%.

En termes de valeurs d'IC₅₀, les résultats obtenus sont globalement intéressants, avec des valeurs qui varient de 0,014 à 0,034 mg/mL. La plus faible valeur enregistrée pour l'extrait EtOH1 est relativement proche de celle du contrôle positif, alpha-tocophérol, ce qui traduit une activité antioxydante très importante.

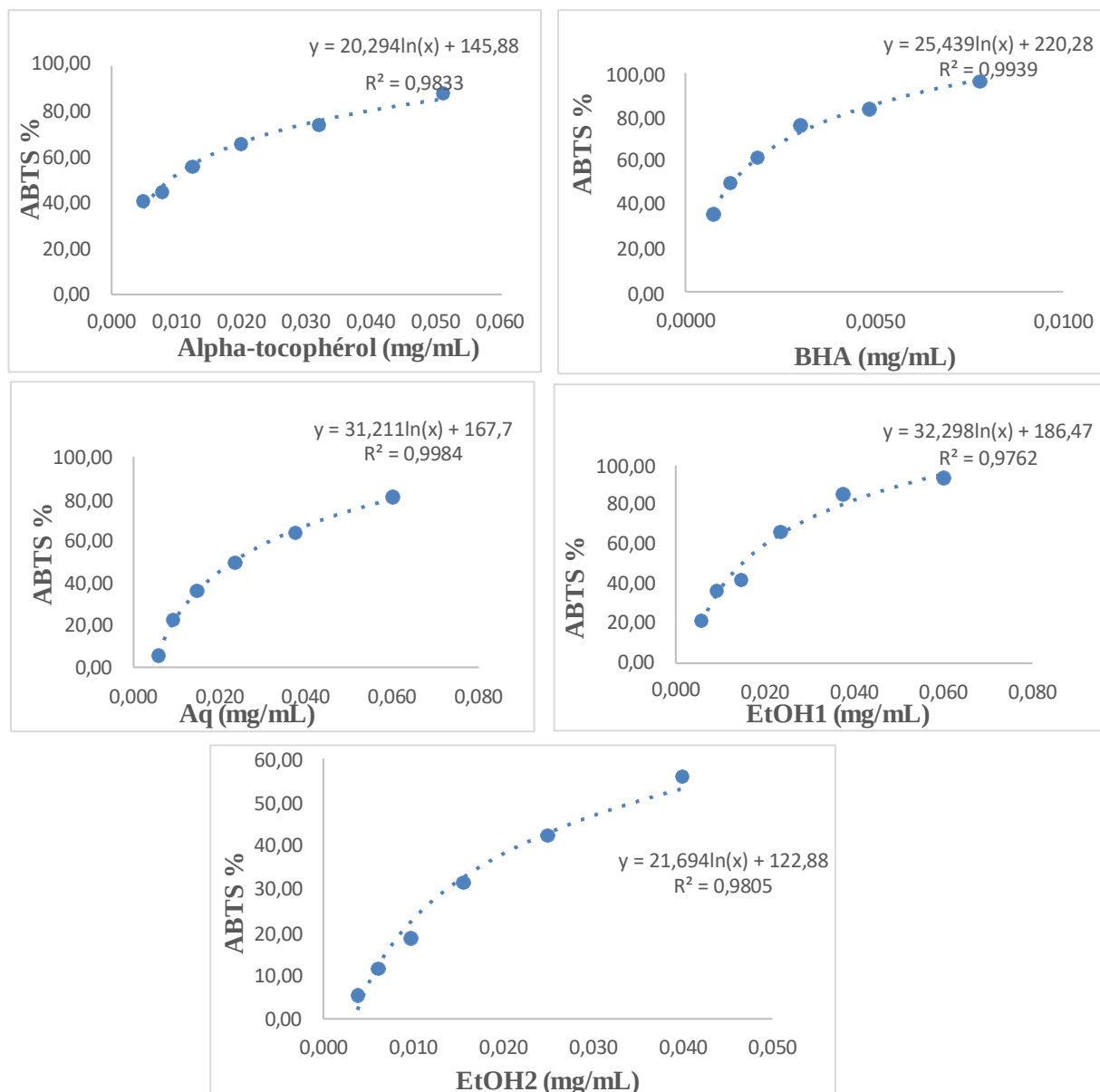


Figure n°14: Pouvoir antiradicalaire des molécules de référence et des extraits de la plante *Viola odorata* sur le radical l'ABTS.

4.4 La capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale des trois extraits est représenté dans le **tableau n°14**. Les résultats obtenus sont exprimés respectivement en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$). La capacité antioxydante totale des extraits

Résultats et interprétation

Préparés a été calculé à partir des équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure n°15**).

Tableau n°14: La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits des fleurs de la plante *Viola odorata*.

Extraits	Capacité antioxydante totale (µg EAG/mg E)
Aq	27,814 ± 0,017
EtOH1	42,508 ± 0,008
EtOH2	39,269 ± 0,013

L'effet des trois extraits sur le pouvoir réducteur du molybdène (Mo) dans le test CAT est représenté dans le **tableau n°14**. L'ensemble des extraits a montré capacité antioxydante totale remarquable. L'extrait **EtOH1** présente une capacité antioxydante de 42,508 µg EAG/mg E, Suivi de l'extrait de **EtOH2** avec une valeur de 39,269 µg EAG/mg E. l'extrait Aq montre la plus faible capacité 27,814 µg EAG/mg E.

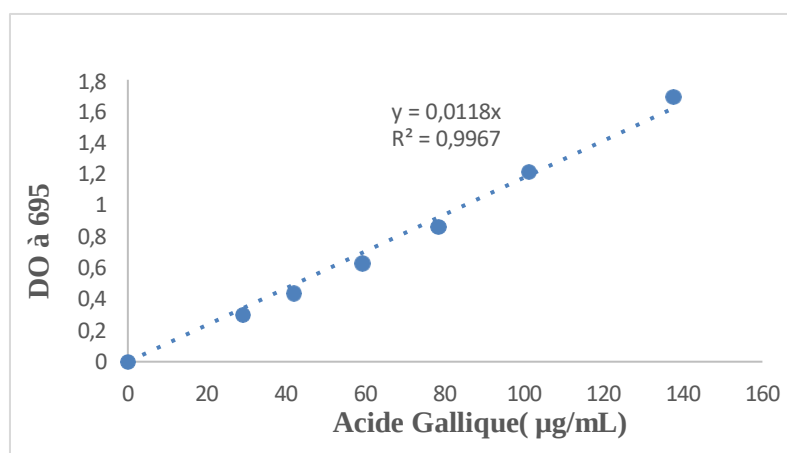


Figure n°15: Courbe étalon de l'acide gallique pour le test CAT

5.Effets anti-inflammatoires des extraits des fleurs *Viola odorata*

L'activité anti-inflammatoire des trois extraits de la plante étudiée a été évaluée à travers leur capacité à inhiber l'activité inhibitrice de la lipoxycgénase. L'acide nordihydroguaiarétique (NDGA), est utilisé comme inhibiteur de référence. D'après les résultats indiqués dans le **tableau n°15** et les **figures n°16** et **n°17** le NDGA a présenté un pourcentage d'inhibition de

69,1 % à une concentration de 0,123 mg/mL. Par ailleurs, ce composé a montré une valeur d'IC₅₀ de 0,01 mg/mL, témoignant de sa forte activité inhibitrice vis-à-vis de la lipoxycgénase.

Tableau n°15 : Effet du NDGA sur l'activité de la lipoxycgénase

	Concentration (mg/mL)								IC ₅₀ (mg/mL)
	0,002	0,004	0,016	0,026	0,042	0,067	0,077	0,123	0,01
Pourcentage d'inhibition de LOX	34,27 ± 1,87	41,12 ± 0,65	50,45 ± 0,18	54,64 ± 0,81	59,06 ± 2,25	63,81 ± 1,13	66,34 ± 1,97	69,1 ± 0,60	

Les résultats de l'effet des extraits de la plante étudiée sur l'activité de la lipoxycgénase, exprimés en pourcentage d'inhibition et en valeurs d'IC₅₀, sont présentés dans la **figure n°16** et la **figure n°17**. Tous les extraits ont montré une activité inhibitrice notable vis-à-vis de la lipoxycgénase mais qui reste inférieur à celle de la molécule de référence (NDGA). L'extrait préparé par décoction EtOH1 a présenté le pourcentage d'inhibition le plus élevé, atteignant 73,35 % à la concentration de 0,21 mg/mL, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,07 mg/mL, suivi par l'extrait EtOH2, qui a enregistré un pourcentage d'inhibition de 59,05 % à la concentration de 0,33 mg/mL, avec une IC₅₀ de 0,12 mg/mL. En revanche, l'extrait Aq a montré l'activité inhibitrice la plus faible, avec un pourcentage d'inhibition de 51,02 % à la même concentration 0,33mg/mL et une IC₅₀ de 0,3 mg/mL.

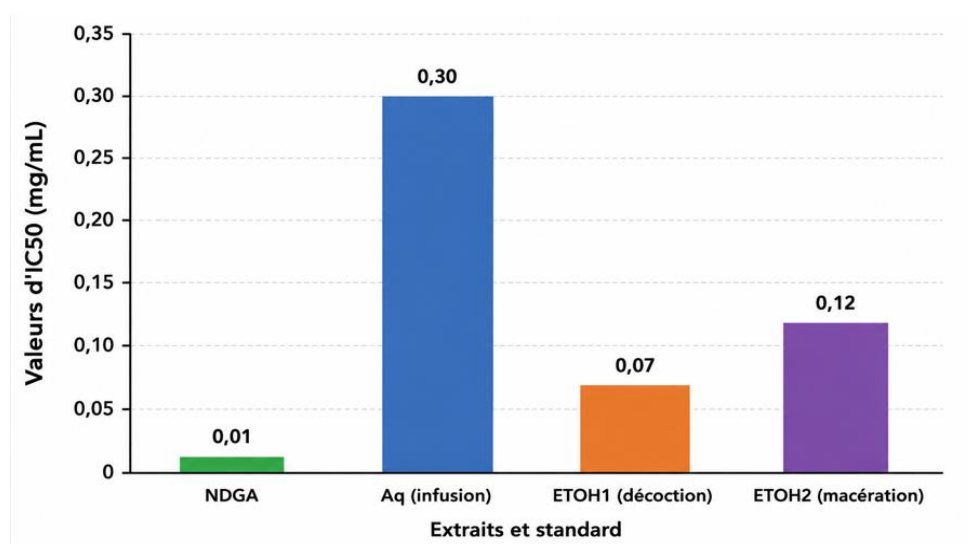


Figure n°16 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits de *Viola odorata* et du NDGA sur l'activité de la lipoxycgénase

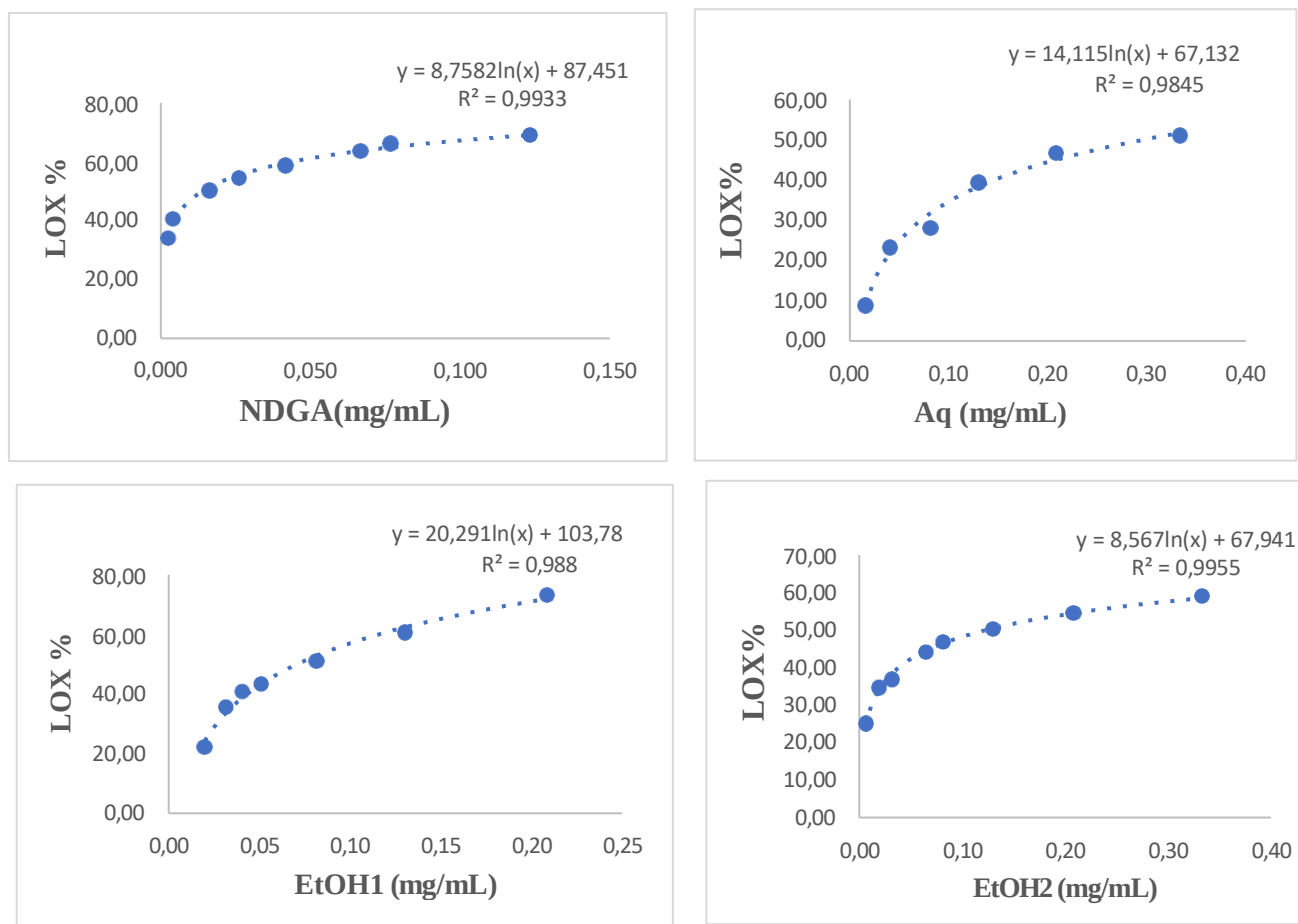


Figure n°17 : Effets du NDGA et des extraits de la plante *Viola odorata* sur l'activité de la lipoxygénase.

Discussion

La présente étude a porté sur l'analyse phytochimique, et l'évaluation *in vitro* des activités antioxydante (tests DPPH, FRAP, ABTS et CAT) et anti-inflammatoire (anti-lipoxygénase) des extraits de fleurs de la plante *Viola odorata*.

L'analyse des rendements d'extraction a révélé une variabilité entre les différents extraits obtenus. L'extrait EtOH2 (macération) a présenté le rendement le plus élevé (22,8 %) suivi par l'extrait EtOH1 (décoction) (15 %) et l'extrait Aq (infusion) (10,98 %). Les résultats rapportés par **Tiwari et al., (2021)** d'une macération hydroalcoolique de fleurs de *Viola odorata*, ont montré un rendement plus faible 9,33 %. Par ailleurs, **Putra et Surahmida (2023)** ont rapporté un rendement de 26,70 % pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Viola odorata*. Ces variations peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant utilisé, la méthode d'extraction employée, le temps d'extraction, ainsi qu'au matériel végétal utilisé.

Les analyses phytochimiques réalisées sur les extraits des fleurs séchées de *Viola odorata* obtenus par les trois méthodes d'extraction ont mis en évidence la présence de tanins, de flavonoïdes et de quinones libres dans l'ensemble des extraits, tandis que les terpénoïdes et les anthraquinones étaient absents. Concernant les autres métabolites secondaires, les saponosides ont été détectés uniquement dans l'extrait obtenu EtOH1. Ces résultats présentent certaines similitudes avec ceux rapportés par **Siddiqi et al. (2012)**, qui après extraction par macération hydroalcoolique utilisant du le mélange eau-méthanol, ont mis en évidence la présence d'alcaloïdes, de saponines, de tanins, de composés phénoliques, de coumarines et de flavonoïdes, ainsi que l'absence de terpénoïdes et d'anthraquinones. Par ailleurs, **Putra et Surahmida (2023)**, ont rapporté la présence des saponosides et des tanins, ainsi que l'absence des flavonoïdes, des alcaloïdes et des terpénoïdes d'un extrait méthanolique préparé par macération.

Le dosage phytochimique des extraits obtenus à partir des fleurs séchées de *Viola odorata* a révélé des teneurs élevées en polyphénols, flavonoïdes et tanins, avec une concentration particulièrement importante dans l'extrait obtenu par infusion Aq (103,64 µg EAG/mg E ; 17 µg EC/mg E ; 21,2 µg EC/mg E), suivi par l'extrait EtOH1 (69,35 µg EAG/mg E ; 16,34 µg EC/mg E ; 16,46 µg EC/mg E) et l'extrait EtOH2 (61,83 µg EAG/mg E ; 14,10 µg EC/mg E ; 17,19 µg EC/mg E). Les fortes teneurs observées dans l'extrait Aq (infusion) suggère que l'extraction à chaud favorise la libération et la solubilisation des composés phénoliques présents dans les fleurs de *Viola odorata*. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Amal M. El-Feky et Ahmed A. El-Rashedy (2025)**, qui ont déterminé une concentration en

Composés phénoliques totaux de $81,34 \pm 0,17$ mg EAG/g dans un extrait méthanolique des fleurs de *Viola Odorata*. Par ailleurs, **Ebrahimzadeh et al. (2010)** ont rapporté une teneur en flavonoïdes totaux de 22,8 mg/g pour *Viola odorata*. Des teneurs plus faibles en proanthocyanidines (1,431 mg CE/g) ont été rapportées par **Jamshed et al. (2019)** dans des extraits méthanoliques de feuilles de *Viola odorata*.

Dans le but d'étudier l'activité antioxydante des extraits des fleurs séchées de *Viola odorata*, nous avons évalué leur effet antiradicalaire sur le radical libre DPPH et ABTS, leur pouvoir réducteur du fer (FRAP), ainsi que leur capacité antioxydante totale (CAT).

Les résultats obtenus pour l'activité antiradicalaire contre le DPPH ont montré que les trois extraits présentent une capacité de piégeage des radicaux libres. L'extrait EtOH1 a révélé la plus fiable valeur d'IC₅₀ (0,122 mg/mL) suivi par l'extrait EtOH2 (0,151 mg/mL) et l'extrait Aq (0,185 mg/mL). Par ailleurs, ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Alipanah et al. (2018)**, qui, en utilisant une extraction hydroalcoolique par macération avec un mélange eau-éthanol (50:50, v/v), ont obtenu une valeur d'IC₅₀ de 0,131 mg/mL.

L'ensemble des extraits ont montré un pouvoir réducteur du fer très remarquable, dont les valeurs d'EC₅₀ déterminées varient entre 0,188 et 0,335 mg/mL. Étant donné qu'une faible valeur d'EC₅₀ traduit une activité réductrice plus importante, l'extrait **EtOH1** montre le meilleur pouvoir réducteur (EC₅₀ = 0,188 mg/mL), supérieur à celui du BHA (EC₅₀ = 0,191 mg/mL) et de l'acide ascorbique (EC₅₀ = 0,256 mg/mL). En comparaison avec les résultats rapportés par **Ebrahimzadeh et al. (2010)**, qui ont utilisé une extraction méthanolique par percolation à température ambiante suivie d'une concentration sous vide et d'une lyophilisation, il apparaît que *Viola odorata* présentait une absorbance approximative de 0,5 à une concentration proche de 100 µg/mL dans le test du pouvoir réducteur. Cette observation suggère une activité réductrice plus importante que celle observée dans notre étude, puisque des concentrations plus faibles permettaient d'atteindre une réponse réductrice notable.

Les résultats du test ABTS ont montré que les extraits de *Viola odorata* présentent une activité antioxydante importante. En termes de valeurs d'IC₅₀, les résultats obtenus sont globalement intéressants, avec des valeurs qui varient de 0,014 à 0,034 mg/mL. La plus faible valeur enregistrée pour l'extrait EtOH1 est relativement proche de celle du contrôle positif, alpha-tocophérol. Des résultats similaires ont été rapportés par **Jamshed et al. (2019)**, qui, en

utilisant une extraction des feuilles de *Viola odorata* par macération hydroalcoolique au méthanol à 70 %, ont obtenu une valeur d'IC₅₀ de 0,024 mg/mL dans le test ABTS.

Les résultats du test CAT ont montré que l'extrait Aq présente la meilleure activité antioxydante, avec une capacité de 26,924 µg EAG/mg E, suivi de l'extrait EtOH2 (38,011 µg EAG/mg E) puis de l'extrait EtOH1 (41,147 µg EAG/mg E). Selon la littérature, les travaux de **Doğan et al., (2023)** sur *Viola odorata* ont rapporté une capacité antioxydante totale de 6,752 mmol Trolox Eq/L, traduisant également une capacité antioxydante importante. Bien qu'une comparaison quantitative directe ne soit pas possible en raison des différences méthodologiques et des unités utilisées, ces observations montrent globalement que *Viola odorata* possède un potentiel antioxydant élevé.

Afin d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire des extraits des fleurs séchées de *Viola odorata*, leur capacité à inhiber l'activité de la lipoxigénase (LOX), une enzyme clé impliquée dans les processus inflammatoires, a été étudiée. Les résultats obtenus ont montré que le NDGA (acide nordihydroguaiarétique), utilisé comme inhibiteur de référence, a présenté une activité inhibitrice supérieure à celle de l'ensemble des extraits testés.

Par ailleurs, des différences significatives ont été observées entre les extraits selon la méthode d'extraction employée. L'extrait EtOH1 a montré l'activité inhibitrice la plus élevée, avec un pourcentage d'inhibition de 73,35 % à la concentration de 0,21 mg/mL et une valeur d'IC₅₀ de 0,07 mg/mL. Cette faible valeur d'IC₅₀ traduit une forte inhibition de l'enzyme lipoxigénase par cet extrait, par conséquent, un potentiel anti-inflammatoire important.

L'extrait EtOH2 a également présenté une activité notable, avec un pourcentage d'inhibition de 59,05 % à 0,33 mg/mL et une IC₅₀ de 0,12 mg/mL. En revanche, l'extrait Aq a affiché l'activité la plus faible, avec un pourcentage d'inhibition de 51,02 % à 0,33 mg/mL et une IC₅₀ de 0,3 mg/mL.

En comparant nos résultats à ceux rapportés par **El-Feky et El-Rashedy (2025)**, une activité inhibitrice a été observée pour l'extrait méthanolique des fleurs de *V. odorata*, qui a présenté une valeur d'IC₅₀ de 1,024 µg/mL vis-à-vis de la 5-lipoxigénase. L'étude de **Chiavaroli et al. (2026)**, bien que les auteurs n'aient pas évalué directement l'activité inhibitrice de la lipoxigénase (LOX), ils ont mis en évidence le potentiel anti-inflammatoire de *Viola odorata*. En effet, l'extrait obtenu par macération méthanolique à froid (*cold maceration*) a présenté une forte capacité d'inhibition enzymatique, suggérant ainsi son intérêt potentiel dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques et dégénératives. Cette activité a été

Discussion

Partiellement confirmée par la capacité des extraits à réduire la surexpression de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et de l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS ou NOS-2) induite par le lipopolysaccharide (LPS), deux médiateurs fortement impliqués dans les processus inflammatoires.

Conclusion

Conclusion

À la lumière des résultats obtenus, les extraits de fleurs de *Viola odorata* ont présenté des profils phytochimiques et des activités biologiques variables en fonction de la méthode d'extraction employée. L'extrait aqueux (Aq) obtenu par infusion s'est distingué par les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés, comparativement aux extraits issus de macération EtOH2 et de décoction EtOH1.

En revanche, l'extrait EtOH1a montré les meilleures activités antioxydantes dans les essais de piégeage du radical DPPH, du radical ABTS, du pouvoir réducteur du fer (FRAP) et de la capacité antioxydante totale. Concernant l'activité anti-inflammatoire, l'extrait EtOH1 a révélé le potentiel inhibiteur le plus important vis-à-vis de l'enzyme lipoxigénase (LOX). Dans l'ensemble, ces résultats démontrent que la méthode et le solvant d'extraction influence la composition phytochimique ainsi que les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de *Viola odorata*.

Ces résultats préliminaires nécessitent d'autres études qui s'intéressent à :

- Identifier et caractériser les composés bioactifs responsables de l'activité antioxydante des extraits de *Viola odorata* à l'aide de techniques analytiques avancées (HPLC, LC-MS).
- Étudier d'autres activités pharmacologiques de la plante, *in vivo* et *in vitro* notamment les activités antimicrobiennes, antidiabétiques et anticancéreuses.
- Réaliser des études de toxicité et d'innocuité des extraits.

Références
bibliographiques

- Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., & Hezmee, M. N. M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World*, 11(5), 627–635.
Adsorbent Chromatographic Column. *Annals of Chromatography and Separation*
- Akhtar, M. T., Lu, Z., Ren, S.-X., Zou, H.-L., Noor, I., & Jin, B. (2026). Copper homeostasis: Crosstalk with plant secondary metabolism and stress responses. *Plant Science*, 362, 112795.
- Alipanah, H., Bigdeli, M. R., & Esmaeili, M. A. (2018). Inhibitory effect of *Viola odorata* extract on tumor growth and metastasis in 4T1 breast cancer model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1), 276–291.
Analysis, 10(3), 178–182.
- Andrianarison, E. R., Andrianaivoravelona, O. J., Rakotosaona, R., Ranaivoson, N. A., & Andrianarison, R. J. (2015). Screening phytochimique et activité antioxydante de fruits Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.
- Bashir, F., Akhtar, J., Anjum, N., & Alam, S. (2021). *Banafsha (Viola odorata L.), an important drug of Unani system of medicine with recent advances*. International Journal of Unani and Integrative Medicine, 5(2), 73–78.
- Bernard Axelrod, Thomas M. Cheesbrough, Simo Laakso, (1981),[53] Lipoxygenase from soybeans: EC 1.13.11.12 Linoleate:oxygen oxidoreductase, Methods in Enzymology, Academic Press,(71),441-451.
- Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Baini, G., Cappellucci, G., & Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From theory to practice. *Foods*, 10(11), 2595..
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés
- Burlacu, R., Bourdin, V., Blin, P., Camaioni, F., Clairaz, B., Lantéri-Minet, M., Laroche, F., Raineri, F., Perrot, S., Stahl, J.-P., Thurin, N. H., & Mouly, S. (2025). Anti-inflammatoires non stéroïdiens en prescription médicale facultative : mise au point dans la prise en charge de la douleur aiguë. *Thérapie*, 80, 449–468.cc
capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application
- Casciaro, B., Mangiardi, L., Cappiello, F., Romeo, I., Loffredo, M. R., Iazzetti, A., Calcaterra, A., Goggiamani, A., Ghirga, F., Mangoni, M. L., Botta, B., & Quaglio, D. (2020). Naturally-occurring alkaloids of plant origin as potential antimicrobials against antibiotic-resistant infections. *Molecules*, 25(16), 3619.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218.

Références bibliographiques

- Chiavaroli, A., Ak, G., Zengin, G., Cetiz, M. V., Emre, G., Caprioli, G., Acquaticci, L., Angeloni, S., Orlando, G., Menghini, L., Gabriele, M., Di Simone, S. C., & Ferrante, C. (2026). *Viola odorata* extracts: Phytochemical profiling, antioxidant capacity, enzyme inhibition, and COX-2/NOS-2-mediated anti-inflammatory effects. *ChemistrySelect*, 11(5), e05548.
composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie*
- Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., Vilela, A., & Gonçalves, B. (2025). A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: Functional properties, health benefits, and sensory qualities. *Molecules*, 30(4), 0800.
d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox. Université Mentouri -Constantine
- Dasa, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dungan, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 133, 330–339.
de « rotra » ou *Eugenia jambolana* Lam. consommés par les habitants des Hautes Terres de Madagascar. *Mada-Hary*, 4, 1–12.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 295–320).
- Dhiman, S., Singla, S., Kumar, I., Palia, P., Kumar, P., & Goyal, S. (2023). *Protection of Viola odorata L. against neurodegenerative diseases: Potential of the extract and major phytoconstituents*. *South African Journal of Botany*, 158, 379–388.
- Duncan, H.F., Cooper, P.R., 2020. Dental tissue repair : future biologically based.
- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F., & Bekhradnia, A. R. (2010). *Antioxidant and free radical scavenging activity of H. officinalis L. var. angustifolius, V. odorata, B. hyrcana and C. speciosum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 29–34.
- Élie, F. (2022). *Les phénols et les polyphénols*.
- Faure, S. (2009). Pharmacothérapeutique pratique : fiche. *Actualités Pharmaceutiques*, (487), juillet–août.
- Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L. (2007). Free-radical
- Feyzabadi, Z., Ghorbani, F., & Zarshenas, M. M. (2017). *A critical review on phytochemistry, pharmacology of Viola odorata L. and related multipotential products in traditional Persian medicine*. *Phytotherapy Research*, 31(11), 1669–1675
- Gireeja Walke, G., Sagar S. Gaurkar, S. S., Roshan Prasad, R., Tejaswee Lohakare, T., & Mayur Wanjari, M. (2023). *The impact of oxidative stress on male reproductive function: Exploring the role of antioxidant supplementation*. *Cureus*, 15(6).

Références bibliographiques

- Graham J. Burton, G. J., & Eric Jauniaux, E. (2011). *Oxidative stress*. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 25(3), 287–299.
- Gregory M. Barton, G. M. (2008). *A calculated response: Control of inflammation by the innate immune system*. Journal of Clinical Investigation, 118(2), 413–420
- Hannoodée, S., & Nasuruddin, D. N. (2025). Acute inflammatory response. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Bookshelf ID: NBK556083.
- Harbone, J. B. (1998). A guide to modern techniques of plant analysis. *Pytochemical*
- Henrotin Y., Deby-Dupont G., Reginster J Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation, Rev Med liegne , 56(6) :433-442.
- in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, In N. Springer (Ed.), *Phenolic compound biochemistry* (pp. 151–196). *Industriel*, 4, 26–39.
- Jamshed H., Siddiqi H.S., Gilani A.-u.-H., Arslan J., Qasim M. et Gul B. (2019). *Studies on antioxidant, hepatoprotective, and vasculoprotective potential of Viola odorata and Wrightia tinctoria*. Phytotherapy Research, 33(10), 2573–2588.
- Khalili, A. (2005). Extraction et effet antibactérien d'extraits polyphénoliques bruts de *Limonium pruinum*. Doctoral dissertation . Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, Algérie.
- Kıran, T. R., Otlı, Ö., & Karabulut, A. B. (2023). *Oxidative stress and antioxidants in health and disease*. Journal of Laboratory Medicine, 47(1), 1–11
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). *Oxidative stress and antioxidants—A critical review on in vitro antioxidant assays*. Antioxidants, 11(12), 2388.
- Kouame, J. A. (2009). *etudes des proprietes cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de guiera senegalensis j. f. Gmel (Combretaceae)*. Universite de Ouagadougou.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., et Nithyanandam, R. (2011). *A review of the antioxidant potential of medicinal plant species*. Food and Bioproducts Processing, 89(3), 217-233.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- Kumar, Sunil, Kumar, D., Jusha, M., Saroha, K., Singh, N., & Vashishta, B. (2008).
- Kumar, V., Sharma, A., Kohli, S. K., Bali, S., Sharma, M., Kumar, R., Bhardwaj, R., & Thukral, A. K. (2019). Differential distribution of polyphenols in plants using multivariate techniques. *Biotechnology Research and Innovation*, 3(1), 1–21.
- L. P., Vieira, I. J. C., & Oliveira, D. B. (2020). *Plants as sources of anti-inflammatory agents*. Molecules, 25(16), 3726.
- Locatelli, M., Gindro, R., Travaglia, F., Coisson, J. D., Rinaldi, M., & Arlorio, M. (2009).
- Lončarić, M.; Strelec, I.; Pavić, V.; Šubarić, D.; Rastija, V.; Molnar, M. (2020),

Références bibliographiques

- Lipoxygenase Inhibition Activity of Coumarin Derivatives—QSAR and Molecular Docking Study. *Pharmaceuticals*, 13, 154. <https://doi.org/10.3390/ph13070154>.
- M. A., & Al-Hiary, M. (2019). Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397–1400.
 - Manarim.G.R, & Aguiar.C.L, D. (2016). Removal of Pigments from Sugarcane Cells by Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435.
 - Mekkiou, R. (2005). *Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires* methanolic fruit extract. *Acta Pharmaceutica*, 58(2), 215–221.
Methods, 3rd Edition. Published by Chapman and Hall, London.
Numéro Spécial, 79–82.
 - Nunes, C. R., Arantes, M. B., Pereira, S. M. F., da Cruz, L. L., Passos, M. de S., de Moraes, Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F. (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en anesthésie réanimation*, 17, 228–237.
 - Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier Des Techniques de l'INRA, In:*
 - Pietta, P.-G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
 - Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100, 1511–1516.
 - Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug*
 - Putra, S. A. A. F., & Surahmida. (2023). Analisis rendemen dan skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun violces (*Viola odorata*). *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 2(3), 591–598.
 - **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Rice-Evans, C., & Baker, L. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
 - Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). From nature to lab: A review of secondary metabolite biosynthetic pathways, environmental influences, and in vitro approaches. *Metabolites*, 13(8), 895.
 - Saleem, U., Hira, S., Anwar, F., Shah, M. A., Bashir, S., Baty, R. S., Badr, R. H., Blundell, R., Batiha, G. E.-S., & Ahmad, B. (2021). *Pharmacological screening of Viola odorata L. for memory-enhancing effect via modulation of oxidative stress and inflammatory*

- biomarkers. *Frontiers in Pharmacology*, 12, Article 664832..
- scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast
- Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (Eds.). (2010). *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press. pp.1-496.
 - Siddiqi, H. S., Mehmood, M. H., Rehman, N. U., & Gilani, A. H. (2012). *Studies on the antihypertensive and antidiyslipidemic activities of Viola odorata leaves extract*. *Lipids in Health and Disease*, 11(1), 6
 - Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, Sircar, J. C., Schwender, C. F., & Johnson, E. A. (1983). *Soybean lipoxygenase inhibition by nonsteroidal antiinflammatory drugs*. *Prostaglandins*, 25(3), 393–396
 - Soliman, A. M., & Barreda, D. R. (2023). Acute inflammation in tissue healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 641.
- Study of the DPPH{radical dot}-scavenging activity: Development of a free software for
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.
- Techniques*, 2(1), 1–5.
- the correct interpretation of data. *Food Chemistry*, 114(3), 889–897.
- Tindaland Caussel, London*, 244–248.
- Tiwari, K., Bhatt, S., & Jain, N. (2021). Extraction, phytochemical screening and antioxidant potential of hydroalcoholic extract of *Viola odorata* Linn. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(64B), 673–680.
- to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337–341.
- Trease, G. E., & Evans, W. C. (1989). A textbook of Pharmacognosy. 13thedn. *Braillier*,
 - Valko M., Rhodes C. J., Moncol J. M., Izakovićand M. Mazur., Ma Q. (2010). Transcriptional responses to oxidative stress : Pathological implications. *Pharmacol Ther*, 125 :376-393.
 - Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds.
 - Wang, X., Dong, B., Gan, Q., Li, J., Wu, P., Guan, Y., & Wang, J. (2025). *Unraveling the vicious cycle: Oxidative stress and neurotoxicity in neurodegenerative diseases*. *FASEB BioAdvances*, 7, e70041.
 - Weill, B., Batteux, F. & Dhainaut, J. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.
 - Wieczorek, P. P., Witkowska, D., Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Oterman, M., & Zielińska, K. (2015). Bioactive alkaloids of hallucinogenic mushrooms. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 46, pp. 105–130). Elsevier.
 - Yuan, G., Wahlqvist, M. L., He, G., Yang, M., & Li, D. (2006). Natural products and anti-

Références bibliographiques

- inflammatory activity. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(2), 143–152.
- Zaigham, M., Hamiduddin, Naquibuddin, M. D., & Rather, G. J. (2019). *Phytochemical profile and pharmacological activities of Banafsha (Viola odorata Linn): An important herb of Unani medicine*. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 5(3–4).
 - Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555–559.