

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2017

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

YAHOUI Hind & MERIMI Ahlam

Thème

*Activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait
hydro-alcoolique d' Ajuga iva (ivette musquée)*

Soutenu le : 18/ 09/ 2018

Devant le jury composé de :

<i>M. RAI A.</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. ADRAR N.</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. TIGHILET K.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

« Les plantes semblent avoir été semées avec profusion sur la terre, comme les étoiles dans le ciel, pour inviter l'homme par l'attrait du plaisir et de la curiosité à l'étude de la nature »

Jean Jacques ROUSSEAU

Remerciement

Tout d'abord Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail.

En tout premier lieu Nous remercions notre promoteur M. ADRAR N. de nous avoir proposée ce sujet, de nous avoir guidée, soutenue et encouragée, pour ces précieux conseils et soutien tout au long de notre travail.

Nous remercions M. RAI A. de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance. A M. TIGHILET K. d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail, qu'il trouve ici notre sincère gratitude.

Enfin à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, Nous vous remercions du fond du cœur.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes parents pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mon fiancé daniël merci de m'avoir accompagné jusqu'à la concrétisation de ce travail. Saches que je t'aime profondément, que Dieu bénisse notre union.

A mes sœurs Hayat, Fahima , Nabila et ma petite adorable Nawal. A mes très chères frères Mohamed, Adel, Merzak et Rabah pour qui je Souhaite que du bonheur et de réussite dans leur vie.

*A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie.
A tous ceux qui me sont chères et en fin A mon binôme Hind.*

MERIMI Ahlam.

Dédicace

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents
Abdelkadar et Rbiha qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes
années d'étude.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à
mes sœurs : Soumia, Sara, Hadjer, Noussa et mon frère Souhaib et tout
la famille YAHOUÏ et SAMMA.*

*Je dédie aussi ce travail à mon mari, je le remercie pour son aide
précieuse, son soutien et son amour.*

*A mon binôme Ahlam , à tous ceux qui me sont chères à tous ceux qui
m'aiment à tous ceux que j'aime. Je dédie ce travail.*

YAHOUÏ Hind.

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
I. <i>Ajuga iva</i>	2
I.1. Généralités.....	2
I.2. Description et habitat	2
I.3. Classification d' <i>Ajuga iva</i>	3
I.4. Propriétés biologiques	3
I.4.1.Utilisation traditionnelle	3
I.4.2. Propriétés prouvées par l'expérimentation.....	4
I.5.Composition chimique d' <i>Ajuga iva</i>	5
I.6.Toxicité	5
II. Stress oxydant	6
II.1. Définition	6
II.2. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène	7
II.3. Sources des espèces réactives d'oxygène	8
II.4. Rôles physiologiques des espèces réactives d'oxygène	9
II.5.Dommages oxydatifs	10
II-6 Défense anti-oxydante	11
II.7.Mode d'action d'un antioxydant	12
II.8.Les antioxydants naturels et de synthèse	13
III. L'inflammation.....	14
III.1. Définition.....	14
III. 2.Cause de l'inflammation.....	15
III. 3. Cellules de l'inflammation	15

III. 4. Formes cliniques de l'inflammation.....	16
III. 5. Les médiateurs d'inflammation.....	17
III. 6. Les pathologies inflammatoires.....	19
III. 7. Les anti-inflammatoires.....	19
III. 7.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	19
III. 7.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	20
III. 7.3. Anti-inflammatoires naturelles.....	20
III.8. Relation entre le stress oxydatif et l'inflammation.....	21
Partie expérimentale	
I.1. Matériel.....	24
I.1.1. Matériel Végétale.....	24
I.1.2. Réactifs chimiques et matériel instrumentale.....	26
I.2. Méthodes.....	27
I.2.1. Extraction assistée par ultrasons.....	27
I.2.2. Etude de l'activité anti-oxydante d'extrait éthanolique d' <i>Ajuga iva</i>	29
I.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait.....	31
I.2.4. Analyse statistique.....	32
II.1. Rendement d'extraction.....	33
II.2. Activité antioxydant de l'extrait éthanolique d' <i>Ajuga iva</i>	36
II.2.1. Test au DPPH.....	36
III.3. Activité Anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	41
III.3.1. Evaluation de l'effet des extraits éthanoliques des feuilles d' <i>Ajuga iva</i> sur la stabilisation de la membrane des globules rouges.....	41
Conclusion et perspectives.....	44

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

AI : *Ajuga iva*.

STZ : Streptozotocine.

ROS : Espèces réactives d'oxygène.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

OH[•] : Radical hydroxyle.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

1O₂ : Oxygène singulet.

NAPPH : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate hydrogénase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATP : Adénine tri phosphate.

BHT: Butylhydroxylanizole.

BHA : Butylhydroxytoluéné.

PNN : Polynucléaires neutrophiles.

C3a : Protéine 3 a du complément.

C5a : Protéine 5a du complément.

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

A : Absorption.

UV : Ultra-violet.

R : Rendement.

IC 50 : Concentration inhibitrice a 50%.

COX : Cyclo-oxygénase.

MO : Macrophages.

Cl⁻ : Halogène.

HOCl : Acide hypochloreux.

HRBC : Human red blood cell

SCE : Fluide supercritique.

PLE : Fluide pressurisé.

EtOH : Extrait éthanolique.

ARP : Apport anti-radicalaire.

PC : Poids corporelle.

DPPH[•]: 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle.

Liste des tableaux

Tableau I : Les causes de l'inflammation.....	15
Tableau II : Exemples de pathologies liées à l'inflammation	19
Tableau III : Situation géographique de station de récolte	25
Tableau IV : le rendement de l'extrait d' <i>Ajuga iva</i>	36
Tableau V : Activité anti-radicalaire d'extraits d' <i>Ajuga iva</i> et du BHA	41

Liste des figures

Figure 01 : Différentes parties d' <i>Ajuga iva</i> L.	3
Figure 02 : Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres.	6
Figure 03 : Les radicaux libres et les antioxydants.....	8
Figure 04 : Origines des ROS.....	9
Figure 05 : Lésions cellulaires induites par les radicaux libres.....	11
Figure 06 : la balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	12
Figure 07 : les signes cliniques de l'inflammation.	14
Figure 08 : La réaction inflammatoire au point de l'infection.....	17
Figure 09 : Le stress oxydant est la cause ou la conséquence de l'inflammation.....	23
Figure 10 : Photographie d' <i>Ajuga iva</i> et le lieu de sa récolte.	24
Figure 11 : La carte géographique de la région de récolte.....	25
Figure 12 : Séchage d' <i>Ajuga iva</i>	26
Figure 13 : Poudre d' <i>Ajuga iva</i>	26
Figure 14 : Représentation schématique de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation.....	27
Figure 15 : Le bain à ultra-sons (SELECTA).	28
Figure 16 : Forme libre et réduite du DPPH.	29
Figure 17 : Test au DPPH.	30
Figure 18 : Rendement d' <i>Ajuga iva</i> extrait par différentes méthodes d'extractions.....	37
Figure 19 : Activité scavenger du DPPH+• de BHA à différentes concentrations.....	39
Figure 20 : Activité scavenger du DPPH+• d' <i>Ajuga iva</i> à différentes concentrations.	40
Figure 21 : La concentration d'extrait d' <i>Ajuga iva</i> et de BHA qui inhibent 50 % du DPPH..	41
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge induit par différentes concentrations d'extrait éthanolique d' <i>Ajuga iva</i>	44
Figure 23 : Effet de l'extrait éthanolique d' <i>Ajuga iva</i> et du standard Indométhacine à 200 µg/ml sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par la chaleur.	45

Liste des Annexes

- Figure1** : Activité scavenging de différentes concentrations d'*Ajuga iva*. Annexe 1
- Figure2** : Activité scavenging de différentes concentrations du standard BHA. Annexe 1
- Figure 3:** image montre le changement de couleur du DPPH+• après l'addition à différentes concentrations d'extrait d'*Ajuga iva*. Annexe 2
- Figure 4** :Une image montre le changement de couleur du DPPH+• après l'addition à différentes concentrations de BHA. Annexe 2
- Figure 5:** l'inhibition d'hémolyse des globules rouge induit par différentes concentrations d'extrait éthanolique d'*Ajuga iva*. Annexe 2

Introduction

Introduction

L'inflammation est un mécanisme de défense indispensable pour l'intégrité de l'organisme. Cependant, elle se trouve impliquée dans un très grand nombre de pathologies humaines. D'une autre part, le stress oxydant est également à l'origine de plusieurs maladies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardiovasculaires et l'arthrite rhumatoïde. De ce fait, la recherche de substances d'origine végétale douées d'activités anti-inflammatoires et/ou antioxydant s'avère très utile pour l'amélioration de la santé humaine tout en évitant les effets indésirables des molécules de synthèse (Meziti, 2008).

En Algérie, beaucoup de plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter les différentes maladies, Parmi ces plantes, *Ajuga iva*, connue sous le nom commun Chendgoura, est largement utilisée dans les régions semi arides et particulièrement dans l'Est Algérien (Halimi, 2004 ; Bendif et *al.*, 2017). Malgré son utilisation très vaste dans la médecine traditionnelle, *A. iva* reste très peu étudiée et spécialement dans la lutte contre le stress oxydatif. Pour ce faire, l'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* a été réalisée par le test DPPH dans un premier temps. L'activité anti-inflammatoire de même extrait a été évaluée via le teste de stabilisation de la membrane érythrocytaire dans un deuxième temps.

Ce mémoire comporte deux parties, la première partie est un recueil bibliographique portant sur le stress oxydatif et l'inflammation ensuite la relation entre les deux. La deuxième partie est la partie expérimentale, elle comporte le chapitre matériel et méthodes qui consiste en l'évaluation in vitro de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire des extraits hydro-alcoolique de *A. iva*. Les résultats obtenus sont résumés et discutés dans le chapitre résultats et discussion.

Synthèse bibliographique

I. *Ajuga iva*

I.1. Généralités

Le nom *Ajuga* vient du mot latin "Jugum": joug. Avec le suffixe "a": sans joug, du fait que la corolle est dépourvue de lèvre supérieure. *Iva*, est un ancien nom féminin latin qui est utilisé pour la première fois pour cette plante (Ghedira et al., 1991). En Algérie *A. iva*, est connu sous le nom de «Chendgoura» en Arabe (Taleb-Senouci et al., 2009); Taftelba en Berber; Ivette, Petit if, Bugle en Français; Hero bivy, Musky bugle en Anglais (Halimi, 2004; Ghedira et al., 1991).

I.2. Description et habitat

Le genre *Ajuga* (Lamiaceae) comprend 40- 50 espèces (Diafat et al., 2016). C'est une petite plante annuelle herbacée, vivace de 6-20cm de hauteur, ligneuse à la base, à odeur de musc; tiges étalées- diffuses, rameuses, très feuillues de 5 à 50 cm de feuilles opposées; feuilles sessiles, persistantes, linéaires-lancéolées, enroulées aux bords, entières ou un peu dentées au sommet; fleurs purpurines de 15mm à deux lèvres et tubulaire, et surtout bleu, violet ou de couleur jaune (figure1), elle fleurit entre mai et juin (Halimi, 2004; Ghedira et al., 1991).

L'ivette musquée pousse dans différentes parties du monde, principalement dans les zones tempérées et chaudes, *A. iva* est une espèce commune en Afrique du Nord qui est largement distribué dans la région méditerranéenne, particulièrement au Maroc, en Tunisie, en Egypte, en Europe du Sud et très répandue dans les pelouses et les forêts du tell algérien (Halimi, 2004). De nombreuses plantes d'*Ajuga* sont utilisées en horticulture comme couverture de sol ou de la frontière, et dans les jardins de rocaille, mais certains sont considérés comme des mauvaises herbes (Bendif et al., 2017).



Figure 01 : Différentes parties d'*Ajuga iva* L. (Halimi, 2004).

I.3. Classification d'*Ajuga iva*

- Règne : plantae
- Embranchement : Spermaphytes
- S/Embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Lamiales/ tubiflorae
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Ajuga*
- Espèce : *Ajuga iva* (L.) Schreb. (Ghedira et al., 1991; Halimi, 2004).

I.4. Propriétés biologiques

I.4.1. Utilisation traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle algérienne, la partie aérienne d'*Ajuga iva* (L.) Schreber (AI) a été utilisée pour une variété des maladies et troubles mentaux, tels que diabète, estomac et troubles intestinales, entérite, sinusite, des maux de tête, rhumatisme, la goutte, l'asthme, le paludisme, les ulcères, Antibactérien et anti-appétant (Taleb-Senouci et al., 2009; Chenni et al., 2007; Halimi, 2004).

Dans la pharmacopée marocaine la plante entière, en décoction ou en poudre, est connu pour ses nombreux effets bénéfiques en tant que panacée (remède universel) et spécifiquement pour les troubles gastro-intestinaux (El Hilaly et *al.*, 2004). Comme un traitement de longue durée (plusieurs semaines) dans le cas de stérilité féminine, et contre les douleurs rhumatismales, les règles douloureuses, antidiabétique, anticancéreuse, vermifuge et réchauffant (Diafat et *al.*, 2016).

Plusieurs espèces d'*Ajuga* ont été utilisées aussi en médecine traditionnelle africaine et asiatique, à l'est Afrique, les plantes du ce genre ont été employées comme remède contre la fièvre, les maux de dents, la dysenterie et l'hypertension artérielle, et dans la pharmacopée chinoise, ils sont connus pour leur effet diurétique et anthelminthique (El-Hilaly et *al.*, 2004 ; Halimi, 2004).

I.4.2. Propriétés prouvées par l'expérimentation

Certaines études ont prouvé que cette plante présenté une gamme d'activités biologiques et pharmacologiques, qui peuvent justifier son utilisation thérapeutique dans le cadre traditionnel algérien.

❖ **Bouderbala et *al.*, (2010)** ont testé l'effet des iridoïdes extraites de l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* sur la peroxydation lipidique dans les globules rouges et les tissus associés à une augmentation de l'activités d'enzymes antioxydants chez les rats nourris avec un régime enrichi en cholestérol et conclu que l'iridoïdes peut jouer un rôle important dans la suppression du stress oxydatif causé par le cholestérol alimentaire et par conséquent, peut être utile pour la prévention et / ou le traitement précoce de l'hypercholestérolémie.

❖ Le screening pharmacologique réalisé *in vivo* et *in vitro* démontre qu'*Ajuga iva* est dotée d'un large spectre d'activités pharmacologiques; elle est anti-hypertensive; vasodilatatrice (**El-Hilaly et *al.*, 2004**).

❖ **Hamden et *al.*, (2008)** ont montré aussi que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* possède un effet antioxydant, il exerce une action contre la peroxydation lipidique des tissus chez les rats diabétiques.

❖ En 2009, Taleb- senouci a étudié l'effet antioxydant possible d'un extrait aqueux d'*Ajuga iva* sur les rats rendus diabétiques par la streptozotocine (STZ) cette étude indique que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* améliore le statut antioxydant en réduisant la peroxydation des lipides et en améliorant les activités des enzymes antioxydants dans le plasma, érythrocytes et tissus de rats diabétiques.

I.5.Composition chimique d'*Ajuga iva*

Les études phytochimiques sur *A. iva* ont révélé la présence de plusieurs flavonoïdes, tanins, terpènes, stéroïdes, caféine (caféique chlorogénique) et les constituants de l'huile essentielle et d'autre principe comme l'ajugarine (Beloued, 2012 ; El Hilaly et al., 2004). Elle contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques, les néo-clérodane diterpénoïdes et d'autres substances (Halimi, 2004 et Coll et al., 2008). L'activité pharmacologique de cette plante est due principalement à tous les flavonoïdes, et le polyphénol présent dans les feuilles et les fruits (Diafat et al., 2016).

I.6.Toxicité

La consommation de l'ivette par des personnes normales ; n'aboutit pas à la réduction de leurs glycémies, alors qu'elle a un effet hypoglycémiant chez les personnes diabétiques (El Hilaly et al., 2004). Par voie orale, la DL50 est supérieure à 14g/kg PC tandis que celle de la voie intra-péritonéale est d'environ 3.6g/kg PC. Quant au traitement chronique (jusqu'à 600 mg/Kg PC) n'occasionne aucun effet néfaste sur les paramètres biochimiques et hématologiques. L'analyse histologiques des organes vitaux reflète des structures anatomomorphologiques normales (El Hilaly et al., 2007), les DL50 montrent que les flavonoïdes d'*Ajuga iva* ne sont pas toxiques du fait de leurs valeurs élevées (3600 mg/kg pour les souris et 4800 mg/kg pour les rats) (Bennaghmouch et al., 2001).

II. Stress oxydant

Radicaux libres, espèces réactives d'oxygène (ROS), stress oxydant et antioxydants, deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels et même pour le grand public.

II.1. Définition

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants (Atamer *et al.*, 2008 ; Barouki, 2006 ; Rioux, 2009) (Figure 02). Dans des conditions physiologiques, la production des (ROS) est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : la balance antioxydants / pro-oxydants est en équilibre (Favier, 2006). Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques (Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007), en raison d'une surproduction radicalaire causé par le tabac, alcool, pollution, ...etc ; ou d'une diminution des capacités antioxydants (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre production des radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Bendif, 2017 ; Favier, 2003). Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires : protéines, lipides et acides nucléiques provoquant la mort cellulaire (Belaïch et Boujraf, 2016).



Figure 02 : Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres (Belaïch et Boujraf, 2016).

II.2. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène

La cellule est soumise à la production plus ou moins intense d'espèces atomiques activées de l'oxygène (Grandjean, 2005), regroupent les radicaux libres de l'oxygènes comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), ou le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante et qui peuvent être des précurseurs de radicaux tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2) (Morris et *al.*, 1995 ; Favier, 2003 ; Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Haleng et *al.*, 2007 ; Favier, 2006).

Par définition, On appelle radical libre tout corps qui contient un ou plusieurs, électrons libres (célibataires) le rendant très réactif (Figure 03). Le dérivé radicalaire, et donc le danger potentiel qu'il représente du fait de l'un électron célibataire, est très instable et il va réagir le plus rapidement possible avec l'environnement pour se stabiliser (Leverve, 2009), Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques (Tremellen, 2008 ; Rioux, 2009).

De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne. Soit en cédant l'électron célibataire à un autre composé (oxydation), soit en récupérant une (réduction). Dans tous les cas, le composé nouvellement agressé va se retrouver à son tour déstabilisé avec un électron non apparié et, à son tour, il va chercher une victime. Plus le composé est instable, plus il réagit vite et plus il est dangereux (Leverne, 2009).

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (Rioux, 2009 ; Zou et *al.*, 2008).

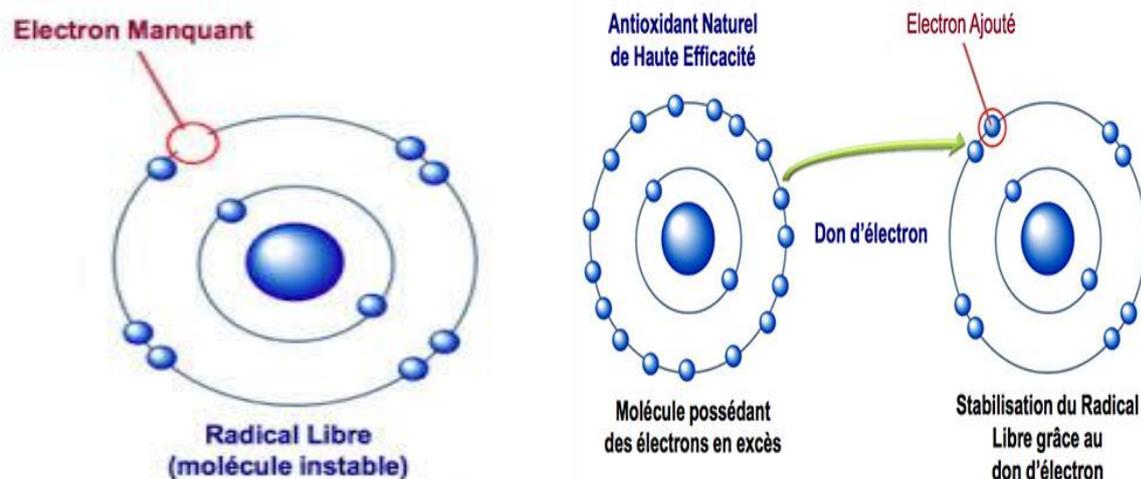


Figure 03: Les radicaux libres et les antioxydants (Anonyme 1).

II.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène

Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ROS dans notre organisme (Haleng *et al.*, 2007).

On distingue deux sources de radicaux libres (Figure 04)

- **Endogènes** : comme les réactions enzymatiques (la NAPPH-oxydase présente dans la membrane plasmique de différentes cellules, notamment celles impliquées dans la réponse inflammatoire (Leverve, 2009) ; lipoxgénase et la xanthine oxydase (enzyme dans le foie), mitochondries, phagocytoses, peroxyosomes, métaux de transition, exercice physique intense, inflammation... (Barouki, 2006).
- **Exogènes** : comme la pollution, alcool, soleil, tabagisme, ozone et produits chimiques (Barouki, 2006 ; Bendif, 2017), une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Valko *et al.*, 2007).

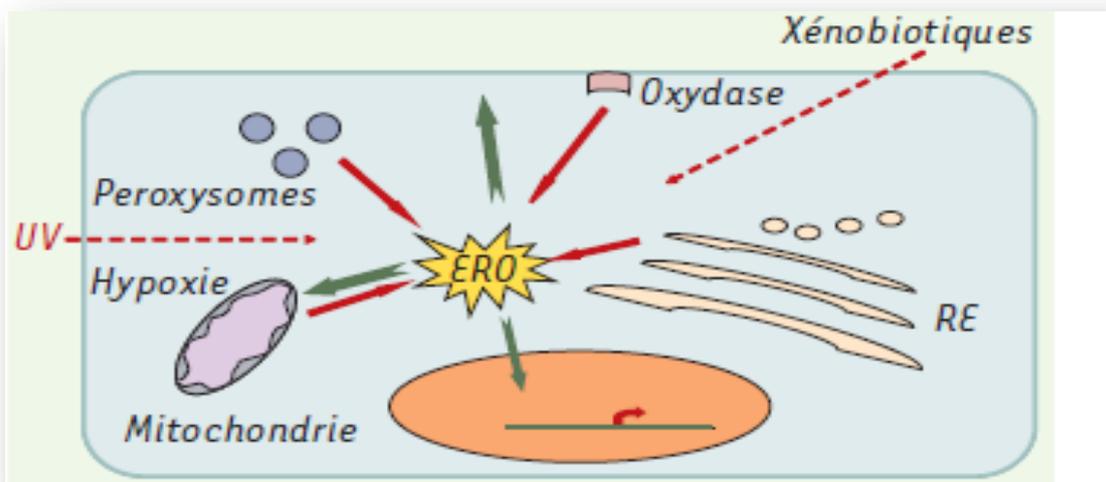


Figure 04 : Origines des ROS (Barouki, 2006).

II.4. Rôles physiologiques des ROS

A dose raisonnable, les ROS sont des éléments indispensables à la vie car ils remplissent de nombreuses fonctions physiologiques au cours de la croissance ou de la défense de l'organisme. La mort cellulaire programmée est l'une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif. Elle est considérée comme un phénomène naturel qui se produit pendant le développement normal (Belaïch, 2016).

La notion de régulation, et non d'inhibition totale, est importante, car l'avènement de la biologie moléculaire et de la génomique a permis de montrer que les ROS, tout comme les antioxydants, ont un rôle clé dans la régulation de l'apoptose (suicide programmé de cellules évoluant vers un état cancéreux), dans l'expression de certains facteurs de transcription ou comme modulateurs de l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydants (Pincemail et *al.*, 2001). Et font également partie intégrante de notre arsenal de défense contre toute agression extérieure, infectieuse au niveau des cellules immunitaires ou chimiques dans les hépatocytes (Favier, 2003).

L'inflammation est étroitement liée à un état d'oxydoréduction particulier comportant une production de radicaux libres (Leverne, 2009). Donc Le rôle des ROS est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration (Haleng et *al.*, 2007). L'organisme ne cherche donc pas à les détruire mais à contrôler leur niveau pour éviter le stress oxydant (Favier, 2003).

II.5. Dommages oxydatifs

De par leur caractère instable ou oxydant, les ROS interagiront avec toute une série de substrats biologiques présents dans l'environnement où elles sont produites. Les ROS seront à la base de dégâts cellulaires importants en provoquant des mutations au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN), en inactivant des protéines ou encore en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire ou des lipoprotéines, mais aussi des lésions secondaires dues aux caractères cytotoxiques et mutagènes des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003 ; Barouki, 2006 ; Pincemail et *al.*, 2001). Et peuvent engendrer une inhibition de la respiration mitochondriale aboutissant à une chute de production d'ATP et une inactivation des canaux calciques, une surcharge calcique intracellulaire accélérant la production des espèces oxygénées réactives, ce qui aboutit à une stimulation de la réaction inflammatoire et une pérennisation de l'atteinte de l'intégrité endothéliale (Beaudeux et *al.*, 2006) (Figure 05).

En effet, un stress oxydant dit « léger » entraîne une prolifération cellulaire accrue, un stress oxydant « moyen » provoque une apoptose cellulaire, un stress oxydant « fort » induit une nécrose cellulaire et enfin un stress oxydant « majeur » est responsable de modifications membranaires à l'origine de lyses cellulaires. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (Favier, 2003).

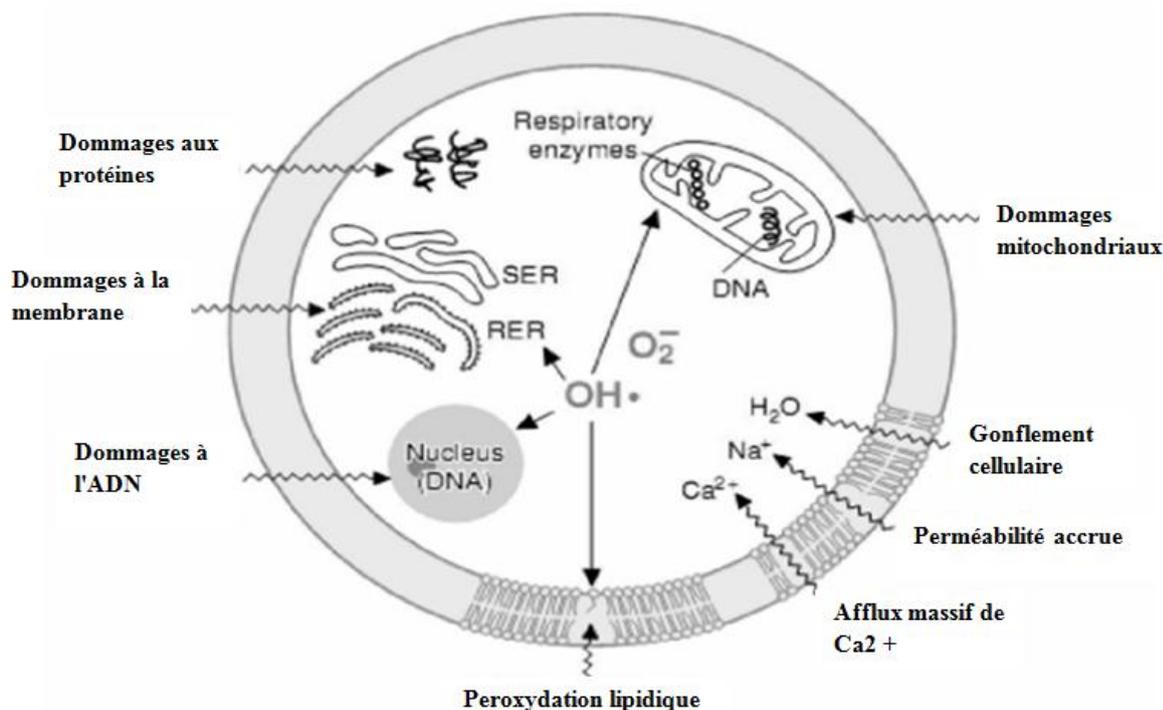


Figure 05 : Lésions cellulaires induites par les radicaux libres (Anonyme 2).

II-6 Défense anti-oxydante

Sous le vocable «antioxydant», on regroupe toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, qui est capable de retarder, prévenir, neutraliser ou de réduire les dommages de l'oxydation causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des ROS (Halliwell, 1999).

Pour se protéger des effets délétères des ROS, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (Haleng et *al.*, 2007 ; Reimund., 2002). L'importance des dommages oxydatifs est étroitement liée à l'efficacité des défenses anti-oxydatives (Zeghar et Sahnoun, 2013) (Figure 06).

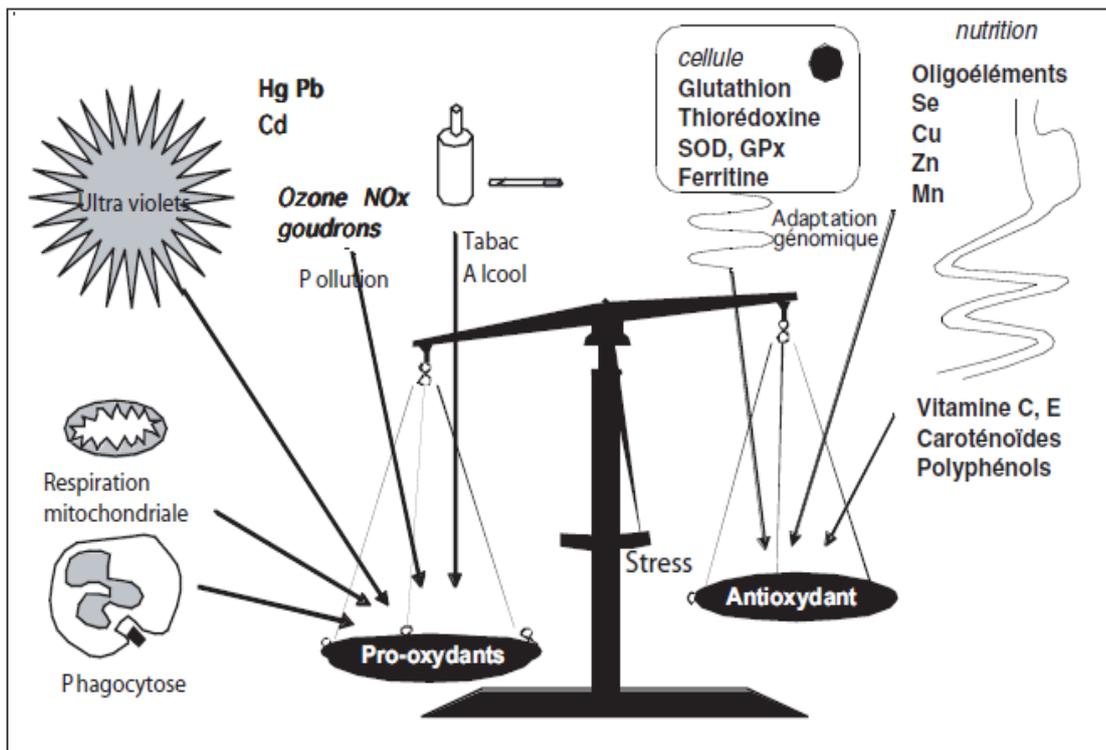


Figure 06: la balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

II.7. Mode d'action d'un antioxydant

On peut envisager sous le titre d'« antioxydants » au sens large, l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003 ; Halliwell, 1996).

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories

- **Système de défense primaire** Ex : la catalase, le glutathion, ces antioxydants préviennent la production des ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation, ils agissent donc en prévention (Bendif, 2017).
- **Système de défense secondaire** Ex : les tocophérols, ces molécules sont dites «chain breaking», elles réagissent avec les ROO° et / ou les R° , bloquant ainsi les réactions de propagation. Ce type d'antioxydant permet d'éviter le passage de formes peu réactives (O_2^-) à très réactives (OH°) (Bendif, 2017).

II.8. Les antioxydants naturels et de synthèse

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont les tocophérols, la vitamine C et les caroténoïdes. De nombreuses études ont mis en évidence des composés antioxydants dans divers végétaux comme par exemple le romarin, la cosse de riz, le thé, la graine de sésame ou de colza, le gingembre, etc (Bidié, 2011).

Les aminoacides et les peptides sont connus pour complexer les métaux. Mais on admet que ce sont aussi des antioxydants par rupture de chaîne. L'acide phytique et les phytates sont connus pour leurs propriétés antioxydants dans les aliments à base de céréales. Les phospholipides inhibent l'oxydation des lipides (Saito et Ishihara, 1997).

Les antioxydants non nutritionnels comprennent des produits naturels extraits de plantes, utilisés tels quels ou après modifications chimiques, des produits extraits d'animaux terrestres ou marins (enzymes ou protéines antioxydants), des produits de synthèse limitant les enzymes, chélatant le fer ou piégeant les radicaux (Favier, 2003). Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) sont des antioxydants synthétiques lipophiles. Le BHA et le BHT sont les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont principalement employés comme conservateurs, à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. Néanmoins, leur utilisation reste controversée, les produits de dégradation du BHA et du BHT étant suspectés d'être cancérogènes. De plus, dans le domaine alimentaire, des réactions d'hypersensibilité ont été recensées pour les gallates, le BHA et le BHT. Enfin, des réactions allergiques (de type urticaire) ont été observées chez certains sujets sensibles au BHA et BHT. A ce jour, aucun texte ne mentionne ni ne règlemente l'utilisation de tels antioxydants (Zerargui, 2015).

III.1. L'inflammation

III.1.1. Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. L'inflammation est un processus habituellement bénéfique, son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires (Hellal, 2007). Cette réponse est caractérisée traditionnellement par les 4 mots latins color, dolor, rubor et tumor signifiant : chaleur, rougeur, gonflement et douleur qui caractérisent les différentes étapes de la réponse inflammatoire (Figure 07) (Russo-Marie *et al.*, 1998 ; Hamdan, 2010).

Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. La réaction inflammatoire peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ. Elle est la réponse typique du système immunitaire inné. Et peut aussi être chronique et ainsi durer des semaines, voire des années. (Zerbato, 2010). Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulation anormale du processus inflammatoire (Hellal, 2007 ; Engler, 1995).

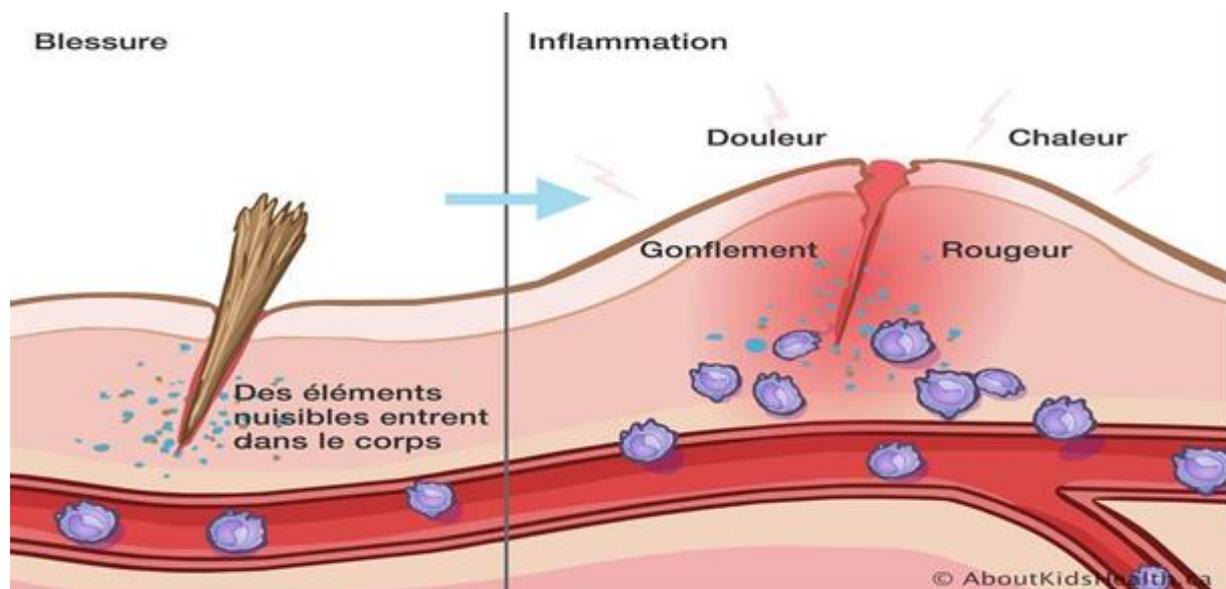


Figure 07 : les signes cliniques de l'inflammation (Anonyme 3).

III.1.2.Cause de l'inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique complexe à des stimuli nocifs et à des conditions telles que des agents pathogènes ou des molécules endogènes qui entraînent des lésions tissulaires et cellulaires (Viladomiu *et al.*, 2016). On peut classer ces causes en deux grands groupes (tableau I):

Tableau I : Les causes de l'inflammation (Diebold *et al.*, 1995 ; Weill et Batteux, 2003).

Éléments physiques	Éléments solides exogènes ou endogènes
La chaleur (brûlure) ; Le froid (gelure) ; Les rayonnements ionisants.	Les pathogènes microbiens ; Le dard d'insecte ou des microcristaux ; Des produits chimiques (acide, base, toxique) ; Des produits biologiques (toxine, produits de dégradation tissulaire) ; Des composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques et cytokines).

III.1.3. Cellules de l'inflammation

III.1.3.1. Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales, situées dans l'endothélium des vaisseaux de petits et moyens calibres, participent à de nombreux systèmes de régulation dans l'organisme. Elles participent en effet, à la jonction entre les cellules, au tonus vasculaire et à la vasomotricité, au contrôle de l'équilibre fibrineux,... Dans l'inflammation, ces cellules jouent un rôle de réparation par la production de protéines matricielles et de protéases (Hurtado *et al.*, 2014).

III.1.3.2.Les monocytes et macrophages

Les monocytes, macrophages circulants et macrophages tissulaires, constituent la phagocytose mononucléée. Phago- tenant son origine du grec phagein, signifie manger (Boyaval, 2016). La phagocytose est en effet le mécanisme de défense utilisé par les macrophages et phagocytes principalement afin de détruire une particule étrangère à l'organisme. Le principe est l'englobement de la particule étrangère comme si les cellules

immunitaires la « mangeaient » et la digéraient. Les monocytes ont une durée de vie relativement courte, de 24 heures environ. Les macrophages tissulaires, eux, vivent entre 2 et 4 mois. L'activation des macrophages a pour conséquence, la digestion du matériel phagocyté dans sa plus grande partie, le reste étant pris en charge par les lymphocytes T, et la libération de nombreux produits de sécrétion intervenant dans les mécanismes de l'inflammation (enzymes, cytokines, radicaux libres,...) (Hurtado et *al.*, 2014).

III.1.3.3. Les polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles ou (PNN), sont les premières à être sollicitées vers un foyer infectieux ou inflammatoire. Passant par la circulation sanguine, leurs rôle est de maintenir l'homéostasie tissulaire en participant à l'élimination de l'agent pathogène (Van Gisbergen, 2005).

En cas de foyer inflammatoire, différents stimuli notamment des cytokines, sont libérés afin de recruter un maximum de PNN du sang et des PNN mis en réserve dans un compartiment médullaire. Après avoir joué leur rôle au niveau du tissu enflammé, là aussi les PNN mourront par apoptose. Il est toutefois à noter, qu'une activation excessive des PNN peut conduire à des lésions tissulaires sévères, retrouvées dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques (Hurtado et *al.*, 2014).

III.1.3.4. Les autres cellules

D'autres cellules sont impliquées dans les mécanismes inflammatoires, telles que les plaquettes, activées dès leur passage dans les vaisseaux où siège une inflammation ; les fibroblastes qui participent aux phénomènes de cicatrisation par la production de constituants de la matrice cellulaire (collagène, protéoglycanes, élastine,...) ; les polynucléaires éosinophiles favorisant l'inflammation ; les basophiles (cellules circulantes) et le mastocytes (cellules tissulaires) synthétisent des médiateurs de l'inflammation ; les lymphocytes intervenant dans les mécanismes d'immunité acquise (Boyaval, 2016).

III.1.4. Formes cliniques de l'inflammation

L'inflammation est considérée comme une mesure de protection prise par l'organisme pour éliminer les stimuli nuisibles et commencer le processus de réparation. Elle est classée comme aiguë ou chronique, selon qu'il s'agit d'une réponse courte ou prolongée, respectivement (De Cássia Da Silveira E Sá et *al.*, 2014).

III.1.4.1. Inflammation aigüe

L'inflammation aigüe est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle dure de quelques jours à quelques semaines et peut être divisée en trois grandes phases ; une phase vasculaire immédiate ; une phase cellulaire consécutive et une phase de résolution et de cicatrisation (Weill et Batteux, 2003 ; Charles et *al.*, 2010) (Figure 08).

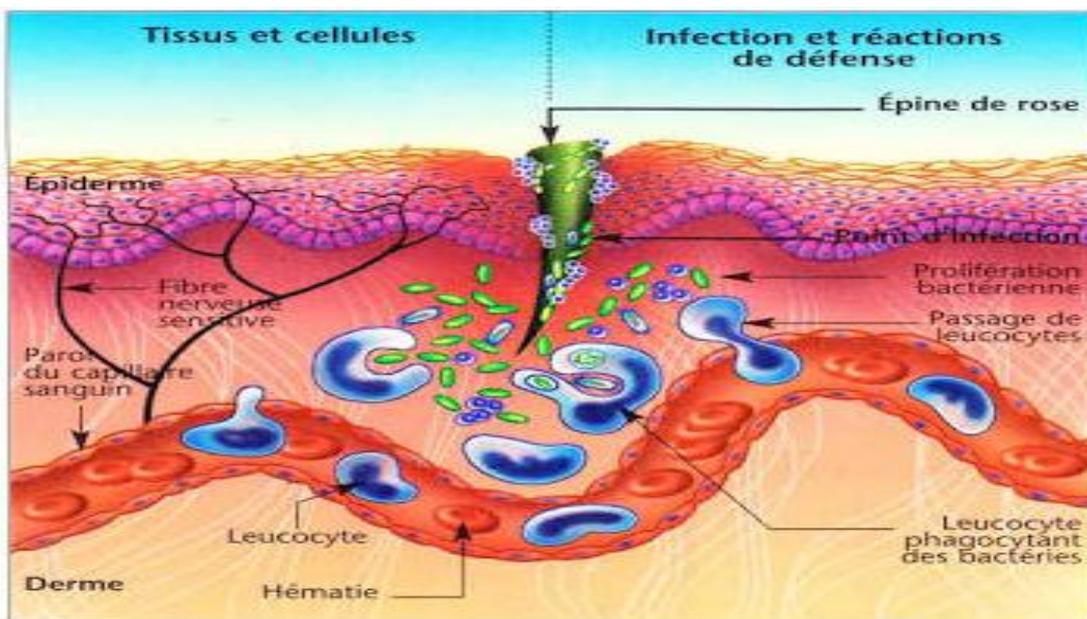


Figure 08 : La réaction inflammatoire au point de l'infection (Anonyme 4).

III.1.4.2. L'Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une inflammation prolongée, définie par la présence de cellules immunitaires. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années (Iwalewa et *al.*, 2007 ; Charles et *al.*, 2010). Dans l'inflammation chronique, les phénomènes d'inflammation, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation, à la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aigüe. Les tissus ne se régénèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologique s'installe (Weill et Batteux, 2003).

III.1.5. Les médiateurs d'inflammation

III.1.5.1. Médiateurs solubles

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules ; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et

intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (Duyckaerts, 2003 ; Charles et *al.*, 2010).

Les protéases plasmatiques comprennent le complément (activation par la voie classique ou par la voie alterne en fonction des stimuli, produisant des fragments chimiotactiques tels que le C3a et le C5a), les quinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires (Henrotin et *al.*, 2001).

III.1.5.2.Médiateurs cellulaires

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les (PNN) qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales (White, 1999).

Dans le site inflammatoire, ces polynucléaires neutrophiles s'activent et dégranulent, en réponse à différents médiateurs solubles (C5a, leucotriènes, facteurs d'activation des plaquettes, histamine), augmentent leur production d'enzymes oxydatives et leur capacité à phagocytose sous l'effet des leucotriènes, de facteurs de croissance hémopoïétiques tels que le G-CSF et le GM-CSF, du TNF et de l'Interleukine 8 (Raymondjean, 2007).

D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs pro-inflammatoires. Les éosinophiles sont également recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée. Les plaquettes contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine. Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines pro-inflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PNNs par la production d'immunoglobulines par les lymphocytes B (Iwalewa et *al.*, 2007).

III.1.6. Les pathologies inflammatoires

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysfonctionnement immunitaire. Ces affections récemment regroupées sous le terme d'IMID (*Immune Mediated Inflammatory Diseases*) comprennent trois grandes entités nosologiques : les maladies auto-immunes systémiques (non spécifiques d'organe) et localisées (spécifiques d'organe), les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Sibilia, 2007).

Selon le lien de l'inflammation à la pathologie on peut classer les pathologies inflammatoires en trois types (tableau II) :

Tableau II : Exemples de pathologies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation
Asthme, polyarthrite rhumatoïde, artériosclérose, arthrose, goutte, thyroïdite d'Hashimoto, maladie d'Alzheimer, lupus érythémateux disséminé, eczéma, maladie de Crohn.
Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation contribue à la pathologie
Hépatite C, syndrome de sepsis, dysenterie bactérienne, tuberculose.
Maladies d'origines diverses dans lesquelles la fibrose post-inflammatoire est la cause principale de la pathologie
Fibrose pulmonaire, Bilharziose, cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique, rejet d'allogreffe chronique.

III.1.7. Les anti-inflammatoires

III.1.7.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) regroupent un ensemble des molécules présentant des propriétés anti inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques les plus connus sont, l'aspirine ou l'ibuprofène, dont l'effet majeur une réduction de l'œdème inflammatoire (Malm et Borisch, 2015). Dans la majorité des cas, ces molécules sont utilisées pour lutter contre une fièvre ou des douleurs diverses. Leur efficacité est liée à leur mécanisme d'action principal qui est une inhibition de la cyclo-oxygénase (COX), enzyme responsable de la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane (Risser et *al.*, 2009 ; Bacchi et *al.*, 2012).

En dépit d'un mode d'action commun, certains AINS ont moins d'effets indésirables que d'autres. Ces différences pourraient s'expliquer par des différences d'affinité pour les deux principales isoformes de cyclo-oxygénases: la COX 1 et la COX 2. La COX 1 est constitutive et participe à la formation physiologique des prostaglandines et de leurs dérivés. Au contraire, la COX 2 est essentiellement une enzyme inductible, en dehors de rares tissus comme l'ovaire et certaines zones cérébrales où elle est constitutive, apparaissant en particulier lors de processus inflammatoires. Il serait donc théoriquement idéal, pour traiter un phénomène inflammatoire, de bloquer sélectivement la COX 2, en évitant le blocage de la COX 1 responsable en particulier de la gastrototoxicité des AINS (Lipsky et *al.*, 2000 ; Risser et *al.*, 2009).

II.1.7.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles, le cortisol et la cortisone, qui peuvent avoir un effet court, l'exemple de prednisone, prednisolone, méthylprednisolone. Ou un effet intermédiaire ou prolongé, exemple de bêtaméthasone. Les glucocorticoïdes ont, comme les AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines. Cette action s'exerce principalement sur la phospholipase A2, en amont du métabolisme de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase (Barnes, 1998 ; Rhen et Cidlowski, 2005).

III.1.7.3. Anti-inflammatoires naturelles

La médecine traditionnelle est essentiellement basée sur l'utilisation des plantes médicinales et aussi des remèdes d'origine animal même s'ils sont beaucoup moins nombreux que ceux qui sont d'origines végétal (Tchibozo et Motte-Florac, 2004 ; Sawadogo et *al.*, 2008). D'une part, les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs sont responsables de l'activité anti-inflammatoire. On peut citer comme exemples : le *Zygophyllum goetulum* (aaggaya) utilisé traditionnellement comme anti inflammatoire anti-diabétique au Maroc (Khabbal et *al.*, 2006). Et parmi les plantes de la médecine traditionnelle chinoise, on trouve les extraits de *Tripterygium wilfordii* (Mandarin) et de *Siegesbeckia orientalis sp* (herbe Saint-Paul) qui interviendraient dans l'arthrite rhumatoïde par des effets anti-inflammatoire, immunostimulant et antirhumatismal (Babulka, 2007).

D'autre part, les traitements anti inflammatoires d'origine animale basée sur l'utilisation des produits de telle et telle espèce animale par exemple les produits et les sous-produits de

crocodile (la peau: dorsale et ventrale), du museau, des pattes, des os, de la graisse, des crottes, des dents, du foie, des poumons, du cœur, du pénis) ; qui sont utilisés en médecine traditionnelle au nord du Bénin comme remèdes pour guérir des maladies dont l'asthme, l'hernie inguinale, l'ictère, la rougeole, le rhumatisme, l'otite, le panaris, la douleur, etc. (Kpéra et *al.*, 2004), on trouve aussi le lait de chameau qui est utilisé traditionnellement en Inde pour le traitement de la jaunisse, de la tuberculose, de l'asthme et de l'anémie (AL-ashqar et *al.*, 2015).

Cependant, la médecine traditionnelle comporte un certain nombre de risques : toxicité et interaction avec les médicaments pharmacologiques. De ce fait, plusieurs études se sont intéressées aux remèdes traditionnels (Hmamouchi et *al.*, 2012).

III.1.8. Relation entre le stress oxydatif et l'inflammation

Les ROS sont responsables de dénaturation et de dégradation de molécules biologiques et sont impliquées dans les lésions tissulaires observés au cours des processus inflammatoires. Elles sont produites au cours de divers processus biologiques par un grand nombre de cellules et en particulier par les cellules phagocytaires, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les macrophages (MO) ; ces cellules jouent un rôle prépondérant dans les mécanismes inflammatoires, dans la mesure où ils sont la première ligne de défense contre les agents infectieux. Il semble donc que le stress oxydatif soit étroitement lié à l'inflammation (Pasquier et *al.*, 1995).

III.1.8.1. Formes réactives de l'oxygène produites par les polynucléaires neutrophiles

Certains stimuli déclenchent une consommation d'oxygène et une production brutale de formes réactives de l'oxygène. Ce phénomène a été défini sous le terme d'« explosion oxydative ». Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003). L'oxygène consommé est converti enzymatiquement en anion superoxyde (O_2^-) par le transfert univalent de 2 électrons à partir du NADPH cellulaire provenant de la voie des hexoses monophosphates. Cette réaction est catalysée par la NADPH oxydase. L' O_2^- est la source des autres ROS : le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyl OH. Hautement toxique. Par ailleurs, la myéloperoxydase libérée à partir des granules azurophiles dans la vacuole catalyse la transformation de H_2O_2 en présence d'un halogène tel Cl^- en acide hypochloreux (HOCl), composé voisin de l'eau de javel, hautement bactéricide.

D'autres réactions entre ces différentes ROS et leur environnement donnent naissance à d'autres composés toxiques (singlet d'oxygène, chloramines...). Les lésions biochimiques créées par les ROS sont multiples, induisant des peroxydations lipidiques aboutissant à une désorganisation membranaire, une atteinte protéique avec fragmentation, agrégation, oxydation des groupements sulfhydryles, une atteinte des acides nucléiques avec cassure et mutation de l'ADN. La production des ROS se fait sur la face interne de la membrane du phagosome au contact de l'agent pathogène phagocyté atteignant de hautes concentrations dans ce milieu clos qu'est le phagosome. Les ROS produites par la face externe de la membrane plasmique sont physiologiquement peu concentrées dans le milieu extracellulaire.

Cependant, produites de façon excessive ou inappropriée dans le milieu extracellulaire elles peuvent participer à la survenue de lésions tissulaires au niveau du site inflammatoire (Hurtado, 2014). Si la production de ROS est trop importante et que les systèmes naturels d'épuration sont insuffisants, les cellules sont soumises à un stress oxydatif qui entretient l'état inflammatoire (Pasquier, 1995 ; Hurtado, 2014).

III.1.8.2. Le stress oxydatif est la cause ou la conséquence de l'inflammation

Dans certaines situations particulières, le stress oxydatif peut être à l'origine d'une réaction inflammatoire, et ceci dans le cas où des ROS sont produites en excès, débordant alors les systèmes de protections enzymatiques et non enzymatiques. Les phénomènes mis en jeu dans le déclenchement d'un état inflammatoire sont complexes ; il semble que le stress oxydatif soit impliqué du fait qu'un excès de ROS est à l'origine des lésions cellulaires et que ces lésions entraînent une stimulation des phagocytes se trouvant au site inflammatoire.

Cependant, le stress oxydatif est le plus souvent la conséquence de l'inflammation, dans la mesure où des médiateurs de l'inflammation activent directement les PNN et que ceux-ci, libérant des ROS conduisent à des lésions cellulaires en dégradant les molécules les constituant.

Dans les deux cas, ces processus sont étroitement liés. Lorsque le processus inflammatoire a commencé, quel que soit l'initiateur, la présence de ROS entretient l'état inflammatoire et il semble parfois difficile de savoir quel a été le signal initial. Le stress oxydatif est donc soit la cause, soit la conséquence de l'inflammation en fonction des différentes situations et des différentes pathologies dont elle dépend (Pasquier, 1995) (figure 09).

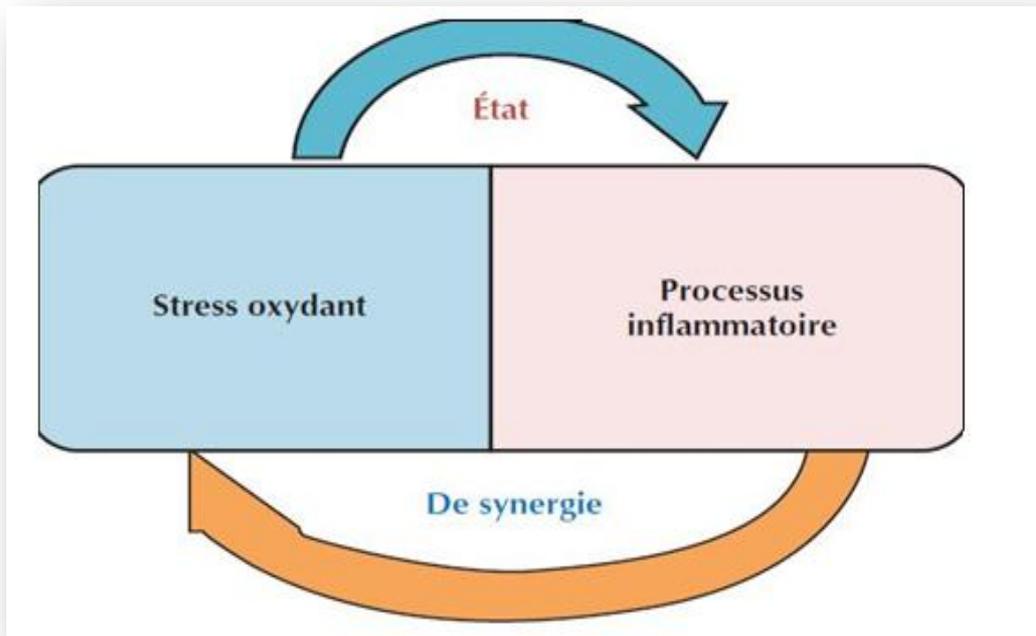


Figure 09 : Le stress oxydant est la cause ou la conséquence de l'inflammation (Belaïch, 2016).

Partie expérimentale

Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude de l'activité antioxydant, anti-inflammatoire de la plante médicinale « *Ajuga iva* », en utilisant la technique de l'inhibition de l'hémolyse provoquée des globules rouges humains (HRBC) par une éventuelle stabilisation de la membrane pour l'activité inflammatoire, et l'inhibition du radical DPPH comme test d'activité antioxydant. La partie expérimentale est réalisée au laboratoire de biochimie, Université de Bouira.

I. Matériel

I.1. Matériel Végétale

Notre étude a été portée sur la partie aérienne de la plante médicinale *Ajuga iva*.

I.1.1. Origine géographique et récolte de la plante

L'espèce sélectionnée « *A. iva* » a été récoltée dans la région de Boukrem de la ville de Lakhdaria dans la wilaya de Bouira (figure 11), durant la période de floraison (Avril, 2018), dans son habitat naturel loin de toute pollution (figure 10).



Figure 10 : Photographie d'*Ajuga iva* et le lieu de sa récolte.



Figure 11 : La carte géographique de la région de récolte (Anonyme 5).

La situation géographique de la région de récolte est représentée dans le tableau III.

Tableau III : Situation géographique de station de récolte (Anonyme 6).

Région	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Boukrem	36.5167	3.36667	Climat méditerranéen avec été chaud

I.1.2.Lavage et séchage

Les parties aériennes d'*Ajuga iva* étaient bien nettoyées et lavées avec l'eau courante afin de les débarrasser de toute poussière et matières étrangères comme le sable, le sol et d'autres impuretés, puis séchées à une température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière (figure 12) et conservées par la suite dans un endroit sec et loin de la lumière.

Le séchage avait pour but d'obtenir une meilleure extraction ; uniformiser les taux d'humidité résiduelle de nos échantillons et permettre un meilleur broyage.

I.1.3. Broyage

L'échantillon séché était réduit en poudre fine grâce à un broyeur électrique « IKA A11 Basic ». La poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives dans la poudre (Figure 13).



Figure 12 : Séchage d'*Ajuga iva*.



Figure 13 : Poudre d'*Ajuga iva*.

I.2. Réactifs chimiques et matériel instrumentale

I.2.1. Produits chimiques

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les expériences, parmi ces produits : Le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), l'Ethanol, l'eau distillée, NaH_2P_04 , Na_2HP_04 et le NaCl .

I.2.2. Matériel divers

Parmi l'appareillage utilisé : spectrophotomètre (OPTIZEN 3220UV), Bain Marie (NUVE BATH), Etuve (VENTICELL), Agitateur magnétique (LAB TECH), pH mètre (METTLER TOLEDO), Centrifugeuse (EZ SWING 3K), Balance de précision (OHAUS), Ultrasons (SELECTA), Balance analytique (KERN).

II. Méthodes

II.1. Extraction assistée par ultrasons (UAE)

L'objectif de ce mode d'extraction consistait à extraire le maximum de molécules chimiques contenues dans les parties aériennes de la plante en utilisant un solvant organique qui accélèrent l'extraction et augmentent son rendement.

➤ Principe

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression). Cette différence de pression va générer des mouvements moléculaires au sein du milieu. Lors d'un cycle de raréfaction la distance entre molécules est augmentée et au-dessus d'une certaine distance, dépendant de chaque milieu, des bulles de cavitations vont se former. Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression (Figure 14). La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (Michel, 2011).

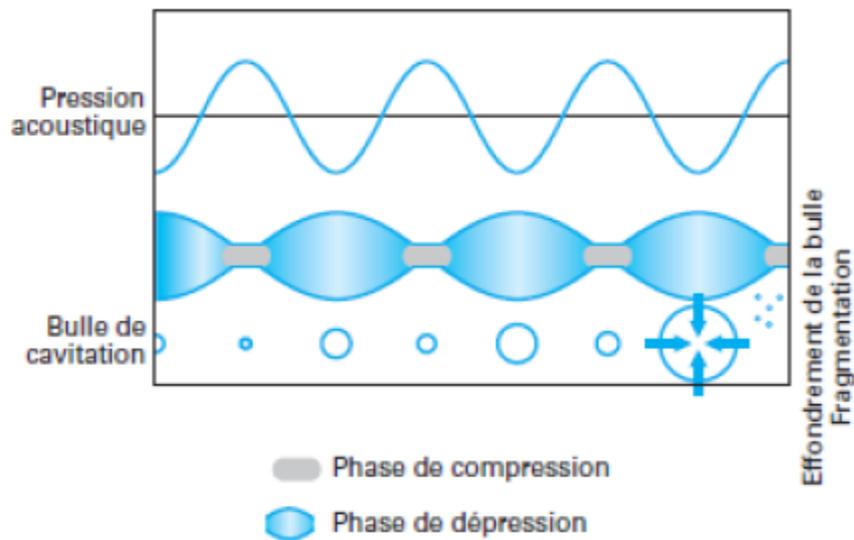


Figure 14 : Représentation schématique de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation (Pétrier et *al.*, 2008).

Lorsque les bulles de cavitation sont formées à proximité d'une surface elles deviennent asymétriques, et l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide projetés à très grande vitesse vers la surface du solide, ainsi qu'une augmentation locale de la température et de la pression. Dans le cas d'une matrice végétale, ces jets de liquides vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide (Michel, 2011).

L'UAE est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons (figure 15), ce qui par-ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur. De plus, l'effet mécanique des ultra-sons sur la matrice végétale induit une meilleure pénétration du solvant dans les cellules, ce qui améliore ainsi le transfert de masse et augmente le rendement d'extraction et la cinétique d'extraction. Cependant une dispersion non homogène de la phase solide peut contribuer à l'atténuation des ondes ultrasons, et la zone qui subit les ultrasons est alors restreinte à une zone localisée près de l'émetteur ce qui peut réduire le rendement d'extraction (Michel, 2011).

➤ **Protocole expérimental**

L'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* a été préparé selon la méthode de Lei Wei et ses collaborateurs (2014). La poudre de la plante obtenue a été mise à extraction par ultrasons (SELECTA) dans un mélange éthanol/eau (7.5:2.5V/V) à un rapport de 10 g/100 ml pendant 40 minutes à température de 30°C. L'extrait hydro-alcoolique était récupéré dans un premier temps après filtration du mélange par un papier filtre. Le solvant a été ensuite éliminé du filtrat par évaporation dans une étuve (VENTICELL) à une température optimale de 40° C.



Figure 15 : Le bain à ultra-sons (SELECTA).

➤ **Calcul du rendement**

Le pourcentage en extrait bruts sec éthanolique a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = (M / M_0) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

II.2. Etude de l'activité anti-oxydante de l'extrait

II.2.1 Test de l'inhibition du radical DPPH

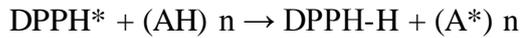
Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit Wu et ses collaborateurs (2008).

➤ **Principe**

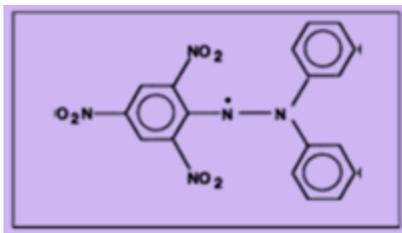
Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire,

entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002).

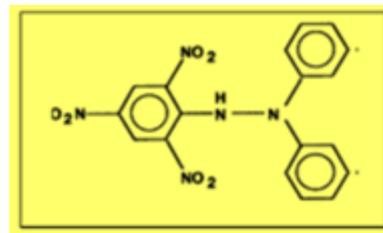
On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune) (Figure 16). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.



DPPH (radical libre).



DPPH (radical capté).

Figure 16 : Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

➤ Mode opératoire

Un millilitre de 0,1 mmol de la solution de DPPH a été mélangé avec 3 ml de diverses concentrations d'extrait (25, 50, 100, 200, 400, 800, et 1600 µg/ml) dissout dans l'éthanol. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 3 ml d'éthanol avec 1 ml de la solution éthanolique de DPPH (figure 17).



Figure 17 : Test au DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température de 31°C, le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; BHA dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité Anti-radicalaire} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait ou standard.

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues avec son écart type. Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH (Samarth et *al.*, 2008).

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti-radicalaire (Brandwilliams et *al.*, 1995).

$$\text{ARP} = 1 / \text{IC50}$$

ARP : Puissance anti radicalaire.

II.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits éthanolique d'*Ajuga iva*

II.3.1. Préparation du tampon isotonique

La solution tampon contient 0,2 g de NaH₂PO₄, 1,15 g de Na₂HPO₄ et 9 g de NaCl dans 1 litre d'eau distillée (tampon phosphate de sodium 10 mM, pH 7,4).

II.3.2. Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 3 ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à partir du laboratoire d'analyses médicales de la polyclinique ABOU BAKR BELKAID de la région de Bouira, où les prises de sang ont été effectuées, sur des volontaires (20-45 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

II.3.3. Préparation de la suspension érythrocytaire

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 tr / min pendant 10 min. Un volume de solution isotonique équivalente à celle du surnageant V= 140 µl a été utilisé pour dissoudre le sang rouge pellets.

Le volume des culots de sang rouge dissous obtenus a été mesuré et reconstitué sous la forme d'une suspension à 40% v / v avec la solution tampon isotonique (V_{sang}=1.2 ml, V_{tampon}=1.8 ml). Les globules rouges reconstitués (surnageant resuspendu) ont été utilisés tels quels (Anosik *et al.*, 2008).

II.3.4. Evaluation de la stabilisation de la membrane

Les effets de l'extrait d'*Ajuga iva* sur l'hémolyse des HRBC induit par la chaleur a été évalué en utilisant la méthode de Anosike *et al.*, (2008) avec quelques modifications.

○ Hémolyse induite par la chaleur

Des échantillons de l'extrait utilisé ont été dissous dans une solution tampon phosphate isotonique. Un ensemble de 5 tubes à centrifugation contenant respectivement 5 ml de doses graduées des extraits (100, 200, 400, 600 et 800 µg / ml) ont été disposés en quadruple (4 tubes par dose). Deux ensembles de tubes témoins contenaient 5 ml du tampon et 5 ml de 200 µg / ml d'indométhacine, respectivement. Une suspension de HRBC (0,1 ml) a été ajoutée à chacun des tubes et mélangée doucement. Une paire des tubes a été incubée à 54 ° C pendant 20 minutes

dans un bain Marie. L'autre paire a été maintenue à -10 ° C dans un congélateur pendant 20 minutes. Ensuite, les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 4 minutes et la teneur en hémoglobine du surnageant a été estimée en utilisant un spectrophotomètre (OPTIZEN 3220UV) à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse par l'extrait a été calculé ainsi :

% Inhibition de l'hémolyse = $1 - ((DO2 - DO1) / (DO3 - DO1)) \times 100$. Où

OD1 = absorbance de l'échantillon testé non chauffé.

OD2 = absorbance de l'échantillon testé chauffé.

OD3 = absorbance de l'échantillon témoin chauffée.

II.4. Analyse statistique

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart-type. L'analyse statistique a été effectuée, en utilisant le logiciel OriginPro 9.0.SR1 b76.

Le présent travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de l'ivette musquée *Ajuga iva*, une plante qui pousse dans la région de Bouira et qui est utilisée par sa population pour ses vertus médicinaux.

I. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait est défini comme étant le rapport de la quantité de substance végétale extraite sur la quantité de matière végétale utilisée. Le calcul des rendements permet non seulement d'apprécier les extraits totaux issus des espèces, mais également d'envisager la quantité d'organes à prélever en cas de besoin pour une éventuelle étude similaire ; ce qui rendrait l'utilisation rationnelle et donc durable des espèces visées.

Le tableau IV présente le rendement d'extraction d'*A. iva* par la méthode d'ultrasons en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

Tableau IV. Rendement d'extraction (%) de la partie aérienne d'*A. iva*.

Masse en gramme du matériel végétal à traiter	Masse en gramme de l'extrait sec résultant	Rendement exprimé en %.
10	1.6	16 %

Le rendement trouvé avec l'extrait éthanolique des feuilles d'*Ajuga iva* par ultrasons est de 16%. D'autres travaux sur la même espèce montrant un rendement en extrait éthanolique par macération de 6,43%. Par contre, l'extraction à l'eau et à température d'ébullition a donné un taux élevé en extrait sec (25%) (Bougandoura et al., 2011).

La figure (18) montre une comparaison entre le rendement d'extraction de notre plante par ultrasons avec le rendement obtenu par autre méthodes des travaux antérieure sur la même plante.

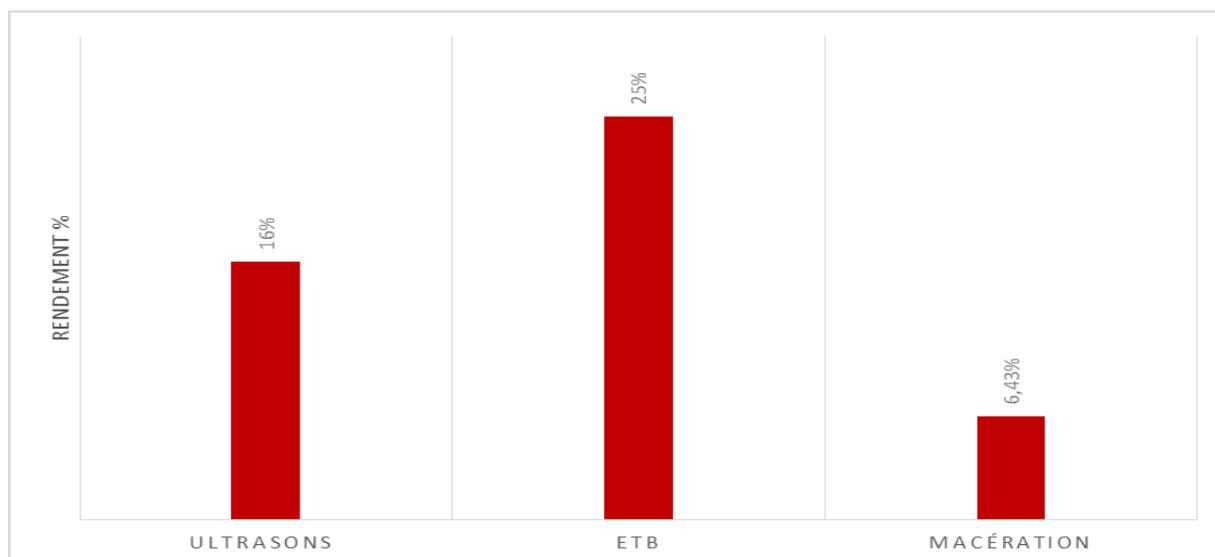


Figure 18 : Rendement d'*Ajuga iva* extrait par différentes méthodes d'extractions (Bougandoura, 2011).

Il a été démontré que pour l'extraction par les solvants à température élevée permet d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante (Majhenic *et al.*, 2007). Cependant, il reste l'extraction par ultrasons la meilleure parmi ces techniques parce qu'elle réduit le temps d'extraction et la consommation d'énergie durant l'extraction, de plus qu'elle fournit des principes actifs de haute qualité avec moins de dégradation thermique (efficacité de rendement) (Cheni, 2016).

Une étude comparative du rendement d'extraction a été réalisée par Bendif *et al.*, (2017) afin de tester les conditions optimales d'extraction d'*Ajuga iva* en utilisant des méthodes d'extraction par fluide supercritique (SCE) et par fluide pressurisé (PLE) utilisant l'application consécutive de solvants de polarité croissante comme l'acétone, l'éthanol et l'eau. Dans lesquels les extraits d'eau ont donné le rendement le plus élevé, tandis que l'éthanol et l'acétone ont donné des rendements plus faibles. Ces résultats ont montré que la polarité du solvant est d'une grande importance. En fait, comme l'eau et l'éthanol sont des solvants polaires, les composants polaires provenant de notre plante sont préférentiellement extraits.

D'après Bendif *et al.*, (2017), les rendements d'extraction par fluide supercritique (0,39%) étaient remarquablement plus faibles par rapport aux extraits par fluide pressurisé EtOH (3,01%), Eau (23,58 %) en comparaison avec nos résultats l'extraction par ultrasons avec l'éthanol (16%) est beaucoup plus mieux que celle de Bendif *et al.*, (2017) pour l'extrait

éthanolique (3.01%) est moins par rapport l'extrait aqueux (23.58%). Donc, le rendement d'extraction d'*A. iva* est fortement influencé par la méthode et le solvant d'extraction.

En comparant nos résultats à ceux des travaux antérieurs trouvées par la méthodes de macération, on les trouve meilleurs que ceux de Makni *et al.*, (2013) et Elbrecht *et al.*, (1996), sur des extraits par du méthanol d'*A. iva* (2,52%, 13,84% respectivement), en accord avec ceux de Roby *et al.*, (2013), ou les résultats ont révélé que l'éthanol était de meilleur solvant que les autres dans l'extraction des composés phénoliques de *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis* et de *Origanum ajorana*, et ceux de *Rosmarinus officinalis* et *Origanum vulgare* (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2009).

Les rendements trouvés avec les extraits aqueux d'*A.iva* par macération d'après El Hilaly *et al.*, (2004); Taleb-Senouci *et al.*,(2009); Chenniet *al.*,(2007), sont de (25% p/p). Autres résultats pour d'autres Lamiaceae tels que le thym (*Thymus vulgaris*) (14%), sauge (*Salvia officinalis*) (18%) et marjolaine (*Origanum majorana*) (%15) (Roby *et al.*, 2013), (*Thymus numidicus*) (22,77 à 28,58%) (Ben el hadj ali *et al.*, 2014).

D'après les résultats obtenus, on constate que la méthode d'extraction et le type des solvants utilisés jouent un rôle très important dans les rendements des extraits.

L'effet des solvants sur le rendement d'extraction a été signalés dans de nombreuses études (Hayouni *et al.*, 2007; Ben El Hadj Ali *et al.*, 2014). Clara *et al.*, (2010) ont montré que la polarité du solvant a une grande importance, et par conséquent à la capacité de solubiliser les constituants chimiques des échantillons. ainsi, la variation des rendements des divers extraits peuvent être attribués aux polarités des différents composés (Khlifi *et al.*, 2011).

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction de technique d'extraction et des paramètres de l'extraction solide-liquide (la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant) (Lee *et al.*, 2003).

II. Activité antioxydant de l'extrait éthanolique d'*Ajuga iva*

II.1. Test au DPPH

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux.

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydant d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande.

L'activité anti-radicalaire d'*Ajuga iva* *in vitro* a été évaluées par la mesure du taux de DPPH+• après l'addition d'extrait d'*A iva* à différentes concentrations (Annexe 2 : Figure 3), en comparaison avec le BHA (hydroxyanisolebutylé × 1,1-diméthyléthyl) -4-méthoxyphénol) qui est une molécule de référence qui provoque la réduction et la décoloration du radical libre diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) en lui donnant un hydrogène pour former le diphénylpicrylhydrazine (DPPH) (Annexe 2 : figure 4). Les résultats sont présentés dans les figures (19,20) et l'annexe 2 (figure 1,2).

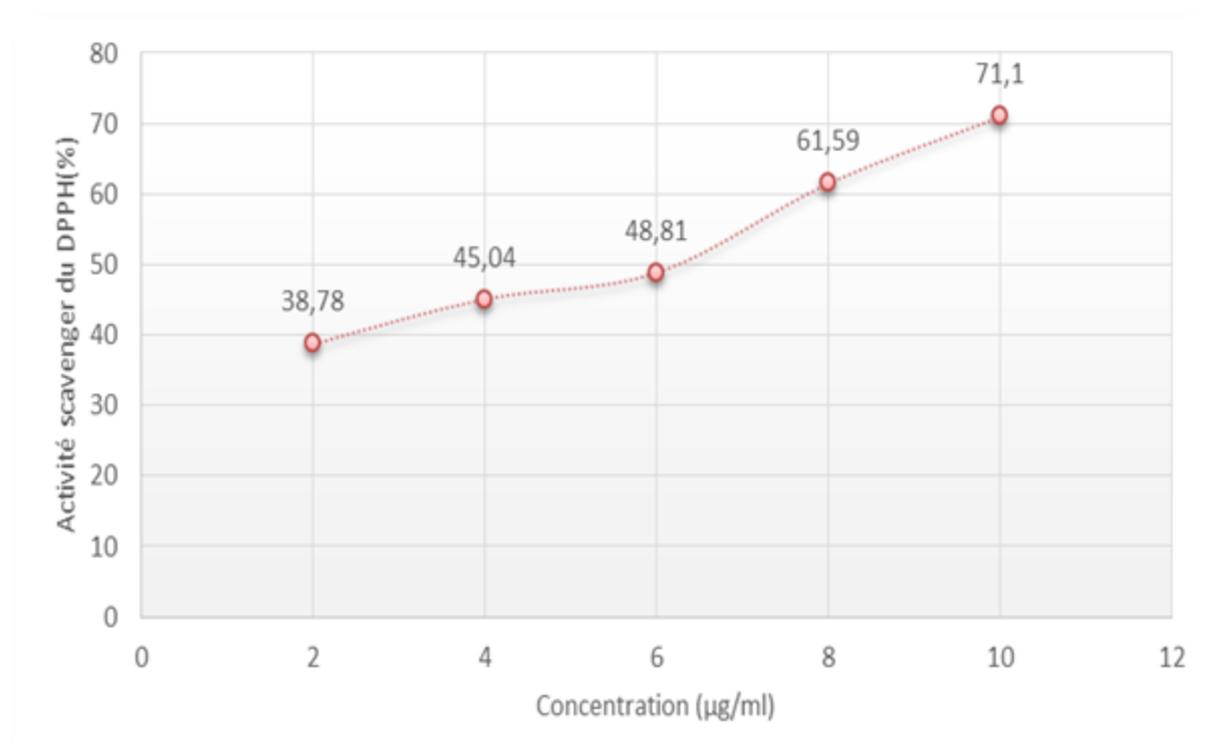


Figure 19 : Activité scavenger du DPPH+• de BHA à différentes concentrations.

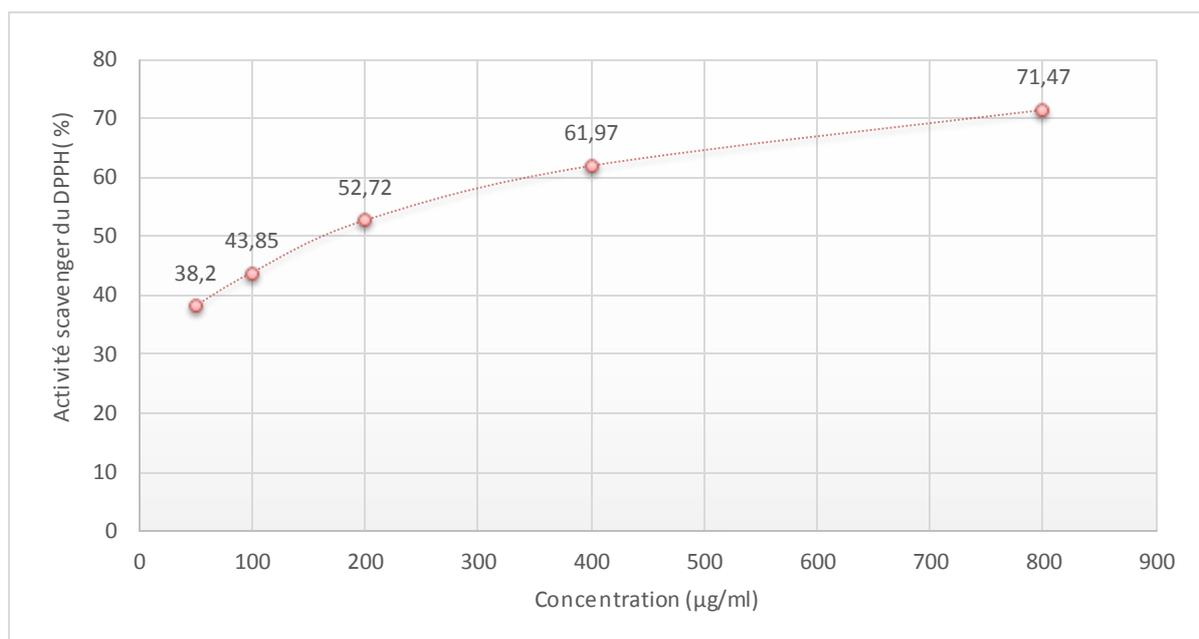


Figure 20 : Activité scavenger du DPPH⁺ d'*Ajuga iva* à différentes concentrations.

Dans cette étude, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique d'*A. iva* présentait une activité anti radicalaire dose dépendante, la plus élevée (71.47 %) a été observée à une concentration de 800 µg/ml, alors que l'effet le plus faible est de (38.2%) pour une concentration de 50 (µg /ml). Cependant, le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique d'*A. iva* reste plus faible que celui de BHA. Cette différence peut s'expliquer par le fait que notre extrait soit un extraits brute, donc renfermant d'autres composés non réducteurs que les composés actifs, par contre la BHA est un standard pure.

D'après Messaoudi et *al.*, (2012) La phase organique d'*Ajuga iva* montre l'effet inhibiteur de 64.46%, 17.15%, 17.04%, a des concentrations de : 190 µg/ml, 98 µg/ml et 49 µg/ml respectivement. Ainsi que 100 µg d'extraits de méthanol, d'eau et de chloroforme de *A. chamaepitys* (famille de lamiacée) présentaient 77,8%, 79,6% et 62,6% de capacité de piégeage de DPPH (Turkoglu *et al.*, 2010), ces valeurs sont plus élevées par rapport à notre extrait, Cependant l'extrait d'hexane de *A. bracteosa* s'est révélée être de 17,8% à 300 µg / ml (Rehman *et al.*, 2015), cette valeur est plus faible en comparaison avec nos résultat.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres : Le calcul d'IC50 qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution, et l'ARP qui est la puissance anti radicalaire (tableau V).

Tableau V : Activité anti-radicalaire d'extraits d'*Ajuga iva* et du BHA.

	IC50 (µg/ml)	APR
BHA	7.8±1.035	0.12±0.014
<i>Ajuga iva</i>	163.32±3.288	0.006±1.062

La détermination de l'activité antioxydant par le test au DPPH a révélé que l'extrait de la partie aérienne d'*Ajuga iva* a montré une IC50 de 163.32 (µg/ml) ; Le BHA a présenté une IC50 de 7.8 ± µg/ml inférieur à l'IC50 de notre extrait testé (Figure 21).

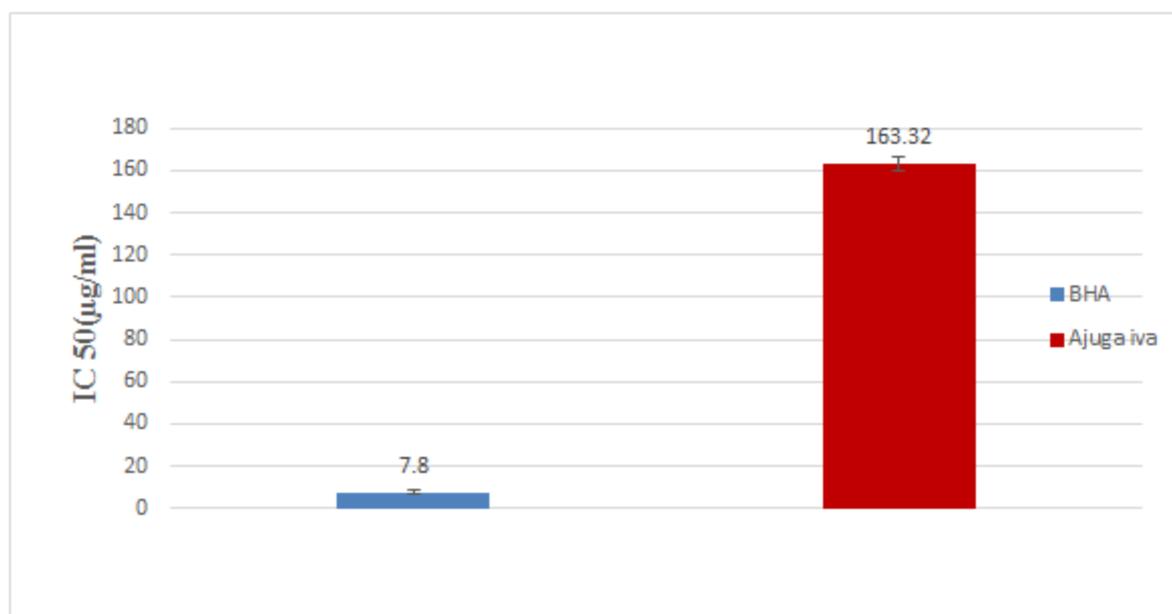


Figure 21: La concentration d'extrait d'*Ajuga iva* et de BHA qui inhibent 50 % du radical DPPH. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

L'étude comparative montre que les valeurs d'IC50 de nos extraits éthanolique correspondant à l'espèce d'*Ajuga iva* est inférieure à celles de l'extrait méthanolique de *Salvia pisdica* 4.88 mg/ml (Ozkan et al., 2010) et d'*A. Orientalis* 0,4 mg /mL (Göger et al.,2015) ainsi l'extrait aqueux de *Coleus aromaticus Benth* (210µg/ml), *Prasium majus L* (0,56 mg / ml) des espèces de la même famille des lamiacées rapporté par (kumaran et karunakaram et al., 2006) et (Chaouche et al., 2013) respectivement .alors que, ces valeurs sont plus élevées par rapport aux extrais méthanolique des autres espèces de la même famille à savoir : *Nepeta flavida* (Tep et al., 2007), *Teucrium polium* (Shariffar et al., 2009) , et *Calamintha sylvatica*

(Lopez et *al.*, 2007) avec des valeurs de 63.2µg/ml et 20.1µg/ml et de 58.44µg/ml respectivement.

L'étude réalisée par Hariri et Ouis (2016) a montré que l'IC50 de l'extrait méthanolique d'*A.iva*, préparé par macération, récolté à Mascara durant les mois Janvier, Mars et Avril 2014, est de l'ordre de 512 µg/ml.

Celle réalisée par Khodja et *al.*, (2014) faite à partir de l'extrait méthanolique d'*A.iva*, préparé par macération, récolté à Béjaïa durant le mois de Mars 2008, a donné une IC50 de 168µg/ml.

D'après Medjeldi et *al.*, (2018). L'activité antioxydant testée par la méthode DPPH a montré une IC50 de $0,43 \pm 0,03$ mg / mL des extraits de la partie aérienne d'*Ajuga iva* (L).

Les résultats ci-dessus montrent clairement que la valeur d'IC50 que nous avons obtenus est inférieur par rapport aux études réalisées par Hariri et Ouis (2016), Medjeldi et *al.*, (2018) et en accord avec Khodja et *al.*, (2014), donc *A. iva* possède un pouvoir antioxydant puissant. Ce qui indique l'efficacité de notre extrait et cela suggère que l'extrait éthanolique est un bon donneur d'hydrogène et contribue à la capacité antioxydant.

Des études phyto-chimiques sur *A. iva* ont révélé la présence de plusieurs flavonoïdes, composés polyphénoliques, tanins, terpènes et stéroïdes (Houghton et Raman, 1998). Elle contient aussi des ecdysones, iridoïdes, et d'autres substances comme l'ajugarine (Halimi, 2004). Plusieurs de ces composés sont connus pour posséder une puissante activité antioxydant. Certains de ces constituants ont déjà été isolés de cette plante (Ben Jannet et *al.* 1999). Par conséquent, l'activité antioxydant observée peut être due à la présence simultanée de ces constituants.

D'après les résultats de l'activité antioxydant de l'extrait éthanolique d'*Ajuga iva*, on déduit que les antioxydants contenus dans les extraits, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes (El Hilaly et *al.*, 2004 ; Halimi, 2004). Étaient capables de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

L'activité antioxydant des composés phénoliques et des flavonoïdes dépend des facteurs suivants : la réactivité (agents donateurs d'H et des électrons), la stabilité du radical formé, la réactivité avec d'autres antioxydants (Barreiros et *al.*, 2006).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes. Ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et *al.*, 1995).

L'action anti-oxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces des ions métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées (Cotelle, 2000).

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde (Hanasaki et *al.*, 1994; Cos et *al.*, 1998).

Les tanins sont doués d'un pouvoir antioxydant. C'est ainsi que les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et que les tanins condensés inhibent la formation des superoxydes. Ces composés inhibent les activités enzymatiques de la protéinekinase C, de la 5-lipoxygénase et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Bruneton, 1999).

Les polyphénols sont aussi capables de capturer les radicaux OH parce que ces groupes de phénols sont d'excellents agents réducteurs. L'étude réalisée par Zhao et *al.*, 2005 a rapporté que le verbascoside est capable d'inhiber la peroxydation lipidique par la chélation des ions ferreux et le piégeage du radical hydroxyle.

En raison de la forte réactivité du groupe hydroxyle des composés phénoliques, les radicaux sont rendus inactifs (Korkina et Afanas'ev, 1997). On croit généralement que les plantes qui ont plus de teneur en composés phénoliques présentent une bonne activité antioxydant, pour être précis, il existe une corrélation directe entre la teneur totale en phénol et l'activité antioxydant (Salazar et *al.*, 2008). tout varie selon la structure et le degré d'hydroxylation du cycle aromatique (Burda et Oleszek, 2001 ; Aruoma, 2002).

Il existe des preuves de plus en plus que les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, de limiter le risque de divers maladies dégénératives associées au stress oxydatif (Luqman et Rizvi, 2006 ; Pandey et Rizvi, 2009).

III. Activité Anti-inflammatoire in vitro

III.1. Evaluation de l'effet des extraits éthanoliques des feuilles d'*Ajuga iva* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire d'extrait éthanolique des feuilles d'*Ajuga iva*, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains à une température élevée, avec l'extrait ou la molécule de référence (l'indométhacine comme anti-inflammatoire de référence). Les résultats sont représentés dans les figures (22 ,23) et l'annexe 2 (figure 5).

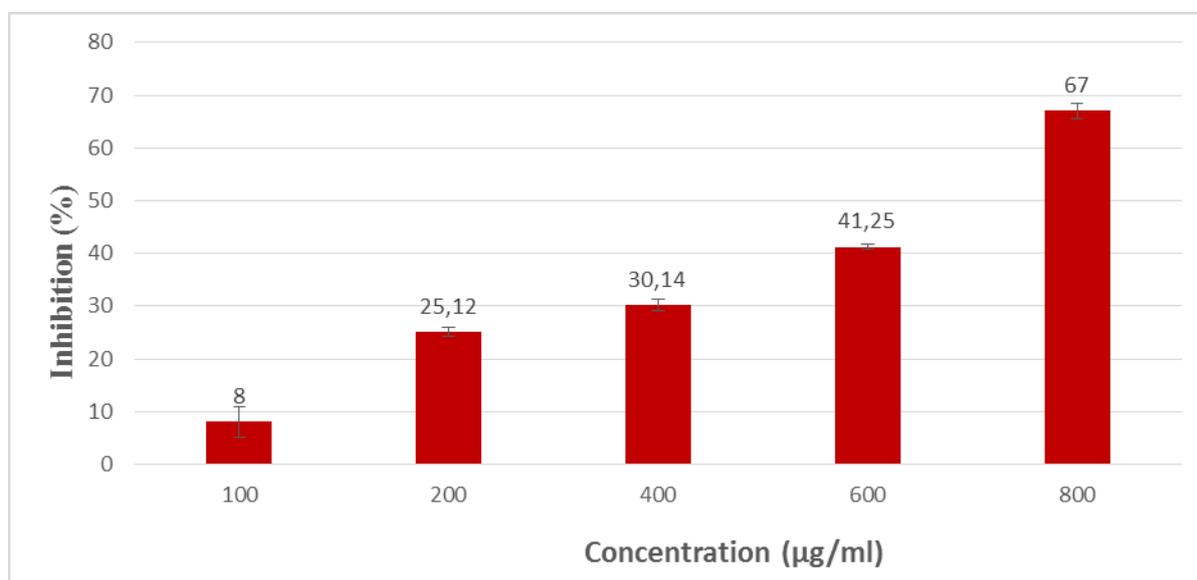


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge induit par différentes concentrations d'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* .Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD.

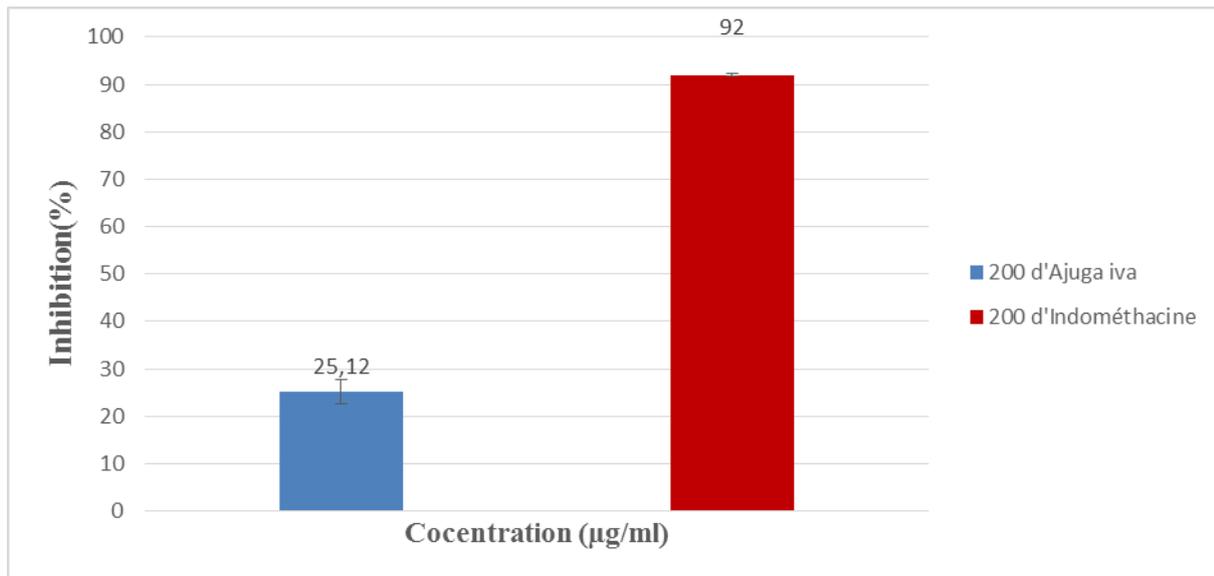


Figure 23 : Effet de l'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* et du standard Indométhacine à 200 µg/ml sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges, induit par la chaleur.

D'après les données de la figure (22), l'extrait d'*Ajuga iva* à toutes les doses (100-800 µg / ml) protège la membrane érythrocytaire humaine contre la lyse induite par la chaleur, comme le montre le pourcentage élevé d'inhibition de l'hémolyse. Elle a montré l'inhibition maximale de 67 % à 800µg/ml. Ainsi, l'activité anti-inflammatoire des extraits dépend de la concentration. Les pourcentages d'inhibition de lyse montrés par les doses d'extrait étaient inférieurs à ceux obtenus pour 200 µg / ml d'indométhacine (figure 23).

D'après Upadhyay et *al.*, (2012) l'extrait éthanolique d'*Ajuga bracteosa* famille de Lamiaceae possèdent des propriétés anti-inflammatoire significatives et prometteuses. L'étude signifie également que les constituants isolés (Ajugarin I, Lupuline A, Withaferin A, Reptoside et 6- Deoxyharpagide) pourraient être responsable, au moins en partie, de son action anti-inflammatoire. L'étude vérifie l'utilisation traditionnelle d'*Ajuga bracteosa* pour le traitement de rhumatismes et d'autres troubles inflammatoires.

Au cours de l'inflammation, il existe des lyses de lysosomes qui libèrent leurs enzymes composants qui produisent une variété de troubles. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) exercent leurs effets bénéfiques en inhibant la libération d'enzymes lysosomales ou en stabilisant les membranes lysosomales (Anosike et *al.*, 2008).

Comme les membranes des globules rouges humains sont semblables aux composants de la membrane lysosomale (Anosike et al., 2008), l'inhibition de la lyse membranaire des globules rouges a été prise comme mesure du mécanisme d'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*Ajuga iva*.

Une lésion de la membrane des globules rouges rendra la cellule plus sensible aux dommages secondaires dus à la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres (Halliwell, 2005). La stabilisation membranaire conduit à la prévention des fuites de protéines et de fluides sériques dans les tissus pendant une période de perméabilité accrue causée par des médiateurs inflammatoires (Anosike et al., 2008).

L'extrait d'*Ajuga iva* a peut stabiliser la membrane des globules rouges en empêchant la libération d'enzymes lytiques et de médiateurs actifs de l'inflammation. El Hilaly et al., (2004) ont montré que *Ajuga iva* est abondamment riche en flavonoïdes, alcaloïdes, stéroïdes et terpénoïdes. Ces composés phytochimiques se trouvent dans diverses parties de la plante.

De nombreux rapports ont montré que les flavonoïdes végétaux possèdent de puissantes propriétés anti-inflammatoires et antioxydants (Middleton et Kandaswami, 1992 ; Halliwell et al., 2005). Leurs activités anti-inflammatoires sont probablement dues à leur effet inhibiteur sur les enzymes impliquées dans la production des médiateurs chimiques de l'inflammation et du métabolisme de l'acide arachidonique (Anosike et al., 2008).

D'une autre part, les flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydante grâce à leurs groupements hydroxyles fortement réactifs. Ils exercent cette activité en provoquant l'arrêt de l'augmentation de la microviscosité des membranes des érythrocytes, induite par la peroxydation lipidique. En effet, ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres, susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement (C-H) situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés de la membrane, en piégeant, inactivant et stabilisant les radicaux libres (radicaux hydroxyles (OH•), anions superoxydes (O•) et radicaux peroxylipidiques), formant ainsi des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer les effets délétères, par la production des radicaux hydroxyles (OH•) (Ghedira, 2005 ; Chaudhuri et al., 2007 ; Mladěnka et al., 2011).

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives, ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés, lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Ajuga iva possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. Le test de l'activité antioxydant *in vitro* montre que l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*Ajuga iva* possède une activité antioxydante vis-à-vis le radical DPPH ainsi l'activité anti-inflammatoire d'extrait a révélé une activité anti-hémolytique importante. Ces résultats ont été comparés aux molécules de référence.

A l'issue de cette étude, il ressort que l'activité anti-hémolytique révélée par l'extrait éthanolique pourrait avoir un effet sur la stabilité de la membrane lysosomale, qui est semblable à celle des globules rouges, et pourrait empêcher ainsi la sortie des constituants lysosomaux au cours de l'inflammation.

La plante médicinale *Ajuga iva* est une source prometteuse d'agents antioxydants et anti inflammatoires. Ce qui explique et confirme les utilisations de cette plante dans la médecine traditionnelle. Mais cette étude reste préliminaire et il faut d'autres études complémentaires approfondies qui se résument dans les points suivants : séparation, identification et caractérisation des composés actifs par des méthodes fiables, et évaluation de leur activité antioxydante et anti inflammatoire en utilisant différentes techniques. Cette études pourrait aussi être complétée par des analyses plus approfondies, une recherche plus poussée de ses principes actifs, ainsi que tester d'autre activités biologiques pour valoriser davantage cette espèce.

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives, ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés, lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Ajuga iva possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. Le test de l'activité antioxydant *in vitro* montre que l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*Ajuga iva* possède une activité antioxydante vis-à-vis le radical

DPPH ainsi l'activité anti-inflammatoire d'extrait a révélé une activité anti-hémolytique importante. Ces résultats ont été comparés aux molécules de référence.

A l'issue de cette étude, il ressort que l'activité anti-hémolytique révélée par l'extrait éthanolique pourrait avoir un effet sur la stabilité de la membrane lysosomale, qui est semblable à celle des globules rouges, et pourrait empêcher ainsi la sortie des constituants lysosomaux au cours de l'inflammation.

La plante médicinale *Ajuga iva* est une source prometteuse d'agents antioxydants et anti inflammatoires. Ce qui explique et confirme les utilisations de cette plante dans la médecine traditionnelle. Mais cette étude reste préliminaire et il faut d'autres études complémentaires approfondies qui se résument dans les points suivants : séparation, identification et caractérisation des composés actifs par des méthodes fiables, et évaluation de leur activité antioxydante et anti inflammatoire en utilisant différentes techniques. Cette études pourrait aussi être complétée par des analyses plus approfondies, une recherche plus poussée de ses principes actifs, ainsi que tester d'autres activités biologiques pour valoriser davantage cette espèce.

Références bibliographiques

Al-Ashqar, R. A., Salem, K. M. A.-M., Al Herz, A. K. M., Al-Haroon, A. I., & Alluwaini, A. M. (2015). The CD markers of camel (*Camelus dromedarius*) milk cells during mastitis: The LPAM-1 expression is an indication of possible mucosal nature of the cellular trafficking. *Research in veterinary science*, **99**, 77-81.

Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **20**(1), 76.

Aruoma, O. I. (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **523**, 9-20.

Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., & Atamer, Y. (2008). The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *Journal of International Medical Research*, **36**(4), 771-776.

Babulka, P. (2007). Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*, **5**(3), 137-145.

Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., & Coppolino, M. (2012). Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, **11**(1), 52-64.

Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, **94**(6), 557-572.

Barouki, R. (2006). [Ageing free radicals and cellular stress]. [Review]. *Med Sci (Paris)*, **22**(3), 266-272.

Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., & David, J. P. d. L. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo.

Beaudeau, J. L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., & Legrand, A. (2006). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **64(6)**, 373-381.

Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, **10(1)**, 38-42.

Beloued, A. (2012). *Plantes médicinales d'Algérie* : Offices des publications universitaires.

Bendif, H., Lazali, M., Harir, M., Miara, M. D., Boudjeniba, M., & Venskutonis, P. R. (2017). Biological screening of *Ajuga iva* extracts obtained by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction. *Journal of Medicinal Botany*, **1**, 33-41.

Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., Zellou, A., & Cherrah, Y. (2001). Pharmacological study of *Ajuga iva*. Paper presented at the *Annales Pharmaceutiques Françaises*.

Ben el Hadj Ali I., Bahri R., Chaouachi M., Boussaïd M. and Harzallah-Skhiri F. (2014). Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus Poir.* *Organs. Industrial Crops and Products*, **62**, 188-195.

Ben Jannet H., Al Mourabit A., Gateau-Olesker A., Marazano C. and Mighri Z. (1999). Enantioselective synthesis of natural biologically active ivaide A: 1,3-di-(R)-âhydroxyglyceride glycerol. *Tetrahedron Asymmetry* **10**, 2381-2386.

Bidié, A., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'guessan, J., & Djaman, A. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, **8(1-2)**, 1-12.

Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., & Bouchenak, M. (2010). Iridoid extracts from *Ajuga iva* increase the antioxidant enzyme activities in red blood cells of rats fed a cholesterol-rich diet. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nutr Res*, **30(5)**, 358-365.

Bougandoura, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthassnepta* (nabta) et *Ajuga iva* L.(chendgoura) de l'ouest d'Algérie.

Boyaval, D. (2016). Prise en charge et prévention des lombalgies communes de l'adulte.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, **28(1)**, 25-30.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc, Paris.

Burda, S., & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids.

Journal of agricultural and food chemistry, **49(6)**, 2774-2779.

Chaouche, T., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., El-Haci, I., Boucherit, Z., . . . AtikBekara, F. (2013). Antioxidant potential of hydro-methanolic extract of *Prasium majus* L: an in vitro study. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, **16(21)**, 1318-1323.

Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., & Sengupta, P. K. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *International journal of biological macromolecules*, **41(1)**, 42-48.

Charles, N. S., Peter, A. W. & Derek, W. G. (2010). *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.

Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum* L." extraite par hydrodistillation et par micro-ondes. Université d'Oran.

Chenni, A., Yahia, D. A., Boukortt, F., Prost, J., Lacaille-Dubois, M., & Bouchenak, M. (2007). Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *Journal of Ethnopharmacology*, **109(2)**, 207-213.

Chen, J. Y., & Huestis, W. H. (1997). Role of membrane lipid distribution in chlorpromazine-induced shape change of human erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, **1323**(2), 299-309.

Cheurfa, M. (2016). Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur la santé. Rachida Allem. Clara G., Ana Cristina F., Jesus B., Ana M.M., Jose S.U., Jose G.B., Jose A.C. and Antonio M.F.P. (2010). Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles:

Comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation, **33**, 2211-2218.

Coll, J., & Tandrón, Y. A. (2008). Neo-Clerodane diterpenoids from *Ajuga*: structural elucidation and biological activity. *Phytochemistry Reviews*, **7**(1), 25.

Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Berghe, D. V.

(1998). Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural products*, **61**(1), 71-76.

Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, **1**(6), 569-590.

De Cássia da Silveira e Sá, R., Andrade, L. N., dos Reis Barreto de Oliveira, R., & de Sousa, D. P. (2014). A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. *Molecules*, **19**(2), 1459-1480.

Diafat, A., Araar, L., Derradji, Y., & Bouaziz, F. (2016). Acute and chronic toxicity of the methanolic extract of *Ajuga iva* in rodents. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, **9**(2), 9-16.

Diebold, J., Molina, T., Bigorgne, C., Audouin, J., & Le Tourneau, A. (1995). Les expressions morphologiques de la réaction inflammatoire. *Revue française des laboratoires*, **1995**(276), 21-26.

Duyckaerts C, Fouret P, et al. Chapitre 13 : l'inflammation. Cours Anatomie Pathologique PCEM2, Université Paris VI, faculté de médecine Pierre et Marie Curie, **2002-2003**, 60-98.

Elbrecht, A., Chen, Y., Jurgens, T., Hensens, O. D., Zink, D. L., Beck, H. T., Borris, R. (1996). 8-O-acetylharpagide is a nonsteroidal ecdysteroid agonist. *Insect biochemistry and molecular biology*, **26(6)**, 519-523.

El Hilaly J., Lyoussi B., Wibo M. and Morel N. (2004). Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 69-74.

El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **20(4)**, 261-268.

Engler, R. (1995). Protéines de la réaction inflammatoire. *Revue française des laboratoires*, **276(1995)**, 93-99.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, **108**.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **64(6)**, 390-396.

Fuhrman, B., Lavy, A., & Aviram, M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *The American journal of clinical nutrition*, **61(3)**, 549-554.

Ghedira, K. (2005). Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, **3(4)**, 162-169.

Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Zeches, M., LeMen- Olivier, L., 1991. Study of the traditional pharmacopeia of Tunisia. *Plant. Me'd. Phytothe'r.* **25**, 100-111.

Grandjean, D. (2005). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv Prat Vét*, **22**, 11-15.

Göger, F., Köse, Y. B., Göger, G., & Demirci, F. (2015). Phytochemical characterization of phenolics by LC-MS/MS and biological evaluation of *Ajuga orientalis* from Turkey. *Bangladesh J Pharmacol*, **10**, 639-644.

Gueye, P. M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. Strasbourg 1.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de liege*, **62(10)**, 628-638.

Halimi AK. *Les plantes médicinales en Algérie. 1ère édition.* BERTI Editions, Alger. 2004, pp: 156-157.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1999). Free radicals, other reactive species and disease. *Free radicals in biology and medicine*, **3**, 617-783.

Halliwell, B., Rafter, J., & Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not?. *The American journal of clinical nutrition*, **81(1)**, 268S-276S.

Hamden, K., Carreau, S., Jamoussi, K., Ayadi, F., Garmazi, F., Mezgenni, N., & Elfeki, A. (2008). Inhibitory effects of 1 α , 25dihydroxyvitamin D3 and *Ajuga iva* extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *Journal of physiology and biochemistry*, **64(3)**, 231-239.

Hamdan, L. (2010). Rôle des médiateurs lipidiques dans la réaction inflammatoire chez le lapin.

Hanasaki, Y., Ogawa, S., & Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, **16(6)**, 845-850.

Hariri A., Ouis N., 2016: Phytochemical studies and antioxidant activities of *Adiantum Capilus-Veneris*, *Lavandula stoechas* and *Ajuga iva*. *World journal of pharmaceutical research*; **5(3)**: 79-103.

Hayouni E.A, Abedrabba M., Bouix M. and Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian

Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chemistry, **105(3)**, 1126-1134.

Hellal, M. (2007). Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. THESE Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Louis Pasteur (Strasbourg I). Discipline : Chimie Organique. 324p.

Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J.-Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. Revue medicale de liege, **56(6)**, 433-442.

Hernandez-Hernandez E., Ponce-Alquicira E., Jaramillo-Flores M.E. and Legarreta G.L. (2009). Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and oregano (*Origanum vulgare L.*) extracts on TBARS and colour of model raw batters. Meat Sciences, **81**, 410-417.

Hmamouchi, I., Rachidi, M., Abourazzak, F. E., Khazzani, H., Bennani, L., Bzami, F.

Abouqal, R. (2012). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales marocaines en rhumatologie. Rev Mar Rhum, **22**, 52-56.

Houghton P.J., Raman A., 1998. Laboratory Hand Book for the Fractionation of Natural Extracts, 1st ed. ITPs, London.

Hurtado-Nedelec, M., Dang, P. M.-C., Monteiro, R. C., Benna, J. E., & GougerotPocidallo, M. A. (2014). Physiologie des polynucléaires neutrophiles humains. Revue Francophone des Laboratoires, **2014(462)**, 25-38.

Iwalewa, E. O., McGaw, L. J., Naidoo, V., & Eloff, J. N. (2007). Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. African Journal of Biotechnology, **6(25)**.

Khabbal, Y., El Cadi, M. A., Alaoui, K., Faouzi, M. A., & Cherrah, Y. (2006). Activité anti-inflammatoire de *Zygophyllum gaetulum*. Phytothérapie, **4(5)**, 227-229.

Khelifi, D., Hamdi, M., Hayouni, A. E., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2011). Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis

activities of various extracts of *Globularia alypum* L.(Globulariaceae) leaves. *Molecules*, **16(12)**, 10592-10603.

Khodja N.K., Khodir L.B., Madani K., 2014: Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products* ; **61** : 41–48.

Korkina, L. G., & Afanas' Ev, I. B. (1996). Antioxidant and chelating properties of flavonoids *Advances in pharmacology* (Vol. 38, pp. 151-163): Elsevier.

Kpéra, G., Mensah, G., & Sinsin, B. (2004). Utilisation des produits et sous-produits de crocodile en médecine traditionnelle au nord du Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, **44**, 1-12.

Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, **97(1)**, 109-114.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. and Lee C.Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7292-7295.

Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **44(5)**, 219-224.

Lipsky, P. E., Brooks, P., Crofford, L. J., DuBois, R., Graham, D., Simon, L. S., Abramson, S. B. (2000). Unresolved issues in the role of cyclooxygenase-2 in normal physiologic processes and disease. *Archives of Internal Medicine*, **160(7)**, 913-920.

López V., Akerreta, S., Casanova, E., García-Mina, J. M., Caverro, R. Y., & Calvo, M. I. (2007). In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts. *Plant foods for human nutrition*, **62(4)**, 151-155.

Luqman, S., & Rizvi, S. I. (2006). Protection of lipid peroxidation and carbonyl formation in proteins by capsaicin in human erythrocytes subjected to oxidative stress. *Phytotherapy*

Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, **20(4)**, 303-306.

Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food chemistry, **104(3)**, 1258-1268.

Makni M., Haddar A., Kriaa W. and Zeghal N. (2013). Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of *Ajuga iva* Leaf Extracts. International Journal of Food Properties, **16**, 756-765.

Malm, H., & Borisch, C. (2015). Analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), muscle relaxants, and antigout medications Drugs During Pregnancy and Lactation (Third Edition) (pp. 27-58): Elsevier.

Medjedi, S., Bouslama, L., Benabdallah, A., Essid, R., Haou, S., & Elkahoui, S. (2018). Biological activities, and phytochemicals of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction. Microbial pathogenesis, **121**, 173-178.

Meziti, H. (2008). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L.

Michel, T. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*).
Université d'Orléans.

Middleton Jr, E., & Kandaswami, C. (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. Biochemical pharmacology, **43(6)**, 1167-1179.

Mladěnka, P., Macáková, K., Filipický, T., Zatloukalová, L., Jahodář, L., Bovicelli, P. Saso, L. (2011). In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. Journal of inorganic biochemistry, **105(5)**, 693-701.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. **26** : 211-219.

Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W. and Blake D.R. (1995). Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **27**, 109-122.

Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, **420(6917)**, 846.

Ozkan, G., Sagdic, O., Gokturk, R. S., Unal, O., & Albayrak, S. (2010). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisidica*. *LWT-Food science and Technology*, **43(1)**, 186-190.

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2010). Protective effect of resveratrol on markers of oxidative stress in human erythrocytes subjected to *in vitro* oxidative insult. *Phytotherapy Research*, **24(S1)**, S11-S14.

Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, **1995(276)**, 87-92.

Pétrier, C., Gondrexon, N., & Boldo, P. (2008). Ultrasons et sonochimie.

Pincemail, J., Bovy, C., Chapelle, J., Gielen, J., Defraigne, J., & Rorive, G. (2001). Markers of oxidative stress linked to increased risk of cardiovascular diseases in chronic hemodialysis patients. Paper presented at the Free Radical Biology and Medicine.

Poirier, J. (1980). *Précis d'histologie humaine* : Presses Université Laval.

Raymondjean, M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*, **2007(389)**, 21-28.

Reddy, C. S. S., Subramanyam, M., Vani, R., & Devi, S. A. (2007). *In vitro* models of oxidative stress in rat erythrocytes: effect of antioxidant supplements. *Toxicology in vitro*, **21(8)**, 1355-1364.

Rehman, N. U., Begum, N., Ali, L., Al-Harrasi, A., Abbas, G., Ahmad, S., Hussain, J. (2015). Lipid peroxidation, antiglycation, cytotoxic, phytotoxic, antioxidant, antiplatelet and antimicrobial activities of *Ajuga bracteosa* against various pathogens. *Pakistan Journal of Botany*, **47(3)**, 1195-1197.

Reimund, J.-M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition clinique et métabolisme*, **16(4)**, 275-284.

Rhen, T., & Cidlowski, J. A. (2005). Anti-inflammatory action of glucocorticoids new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*, **353(16)**, 1711-1723.

Rioux, C. (2009). Stress oxydatif et prévention des maladies chroniques : la supplémentation s'impose-t-elle ?

Risser, A., Donovan, D., Heintzman, J., & Page, T. (2009). NSAID prescribing precautions. *American family physician*, **80(12)**, 1371-1378.

Roby M.H.H., Sarhana M.A., Selima K.A.H. and Khalel K.I., (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial crops products*. **43**, 827-831.

Russo-Marie, F., Peliera, S., Polla, B.1998. L'inflammation. Edition John Libbey Eurotext. Paris, ISBN 2-7420-0117-4.P 172-192.

Saito, H., & Ishihara, K. (1997). Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **74(12)**, 1531-1536.

Salazar, R., Pozos, M. E., Cordero, P., Perez, J., Salinas, M. C., & Waksman, N. (2008). Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology*, **46(3)**, 166-170.

Sanchez-Moreno, C. (2002). Method used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, **8**:121-137.

Sawadogo, W., Lompo, M., Guissou, I., & Nacoulma, O. (2008). Dosage des triterpènes et stéroïdes de *Dicliptera verticillata* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire topique. *Médecine d'Afrique Noire*, **55**, 223-229.

Shariffar, F., Dehghn-Nudeh, G., & Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. Food chemistry, **112(4)**, 885-888.

Sibilia, J. (2007). Comment définir et classer les maladies inflammatoires ? Revue du rhumatisme, **74(8)**, 714-725.

Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., & Bouchenak, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine, **16(6-7)**, 623-631.

Tchibozo, S., & Motte-Florac, E. (2004). Animaux médicinaux du Bénin: des drogues anciennes toujours actuelles. Bulletin de liaison de l'Association des Amis du Musée de la Pharmacie, **29**, 40-47.

Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.-S., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. Food chemistry, **103(4)**, 1358-1364.

Tremellen, K. (2008) Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. Hum Reprod Update **14**, 243-258.

Turkoglu, S., Turkoglu, I., Kahyaoglu, M., & Celik, S. (2010). Determination of antimicrobial and antioxidant activities of Turkish endemic *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber subsp. *euphratica* PH Davis (Lamiaceae). Journal of Medicinal Plants Research, **4(13)**, 12601268.

Upadhyay, S., Patel, V., Patel, A., Upadhyay, U., & Patel, N. (2012). *Ajuga bracteosa*: a promising herb. Pharma Science Monitor, **3(4)**.

Vadivu, R., & Lakshmi, K. (2008). In vitro and In vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssp *laurina*. Bangladesh Journal of Pharmacology, **3(2)**.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **39(1)**, 44-84.
- Van Gisbergen, K. P., Sanchez-Hernandez, M., Geijtenbeek, T. B., & van Kooyk, Y.** (2005). Neutrophils mediate immune modulation of dendritic cells through glycosylation-dependent interactions between Mac-1 and DC-SIGN. *Journal of Experimental Medicine*, **201(8)**, 1281-1292.
- Viladomiu, M., Hontecillas, R., & Bassaganya-Riera, J.** (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European journal of pharmacology*, **785**, 87-95.
- Weill, B., & Batteux, F.** (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires : De Boeck Supérieur*.
- Wei, L., Zhang, W., Yin, L., Yan, F., Xu, Y., & Chen, F.** (2015). Extraction optimization of total triterpenoids from *Jatropha curcas* leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant capacities. *Electronic Journal of Biotechnology*, **18(2)**, 88-95.
- White, M.** (1999). Mediators of inflammation and the inflammatory process. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103(3)**, S378-S381.
- Wu, S.-J., & Ng, L.-T.** (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT - Food Science and Technology*, **41(2)**, 323-330.
- Zeghal, K., & Sahnoun, Z.** (2013). *La réaction inflammatoire et le stress oxydant Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes* (pp. 47-53): Springer.
- Zerargui, F., Boumerfeg, S., Charef, N., Baghiani, A., Djarmouni, M., Khennouf, S., S Mubarak, M.** (2015). Antioxidant potentials and xanthine oxidase inhibitory effect of two furanocoumarins isolated from *Tamus communis* L. *Medicinal Chemistry*, **11(5)**, 506-513.

Zerbato, M. (2010). Intérêt du dosage par micro méthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Henri Poincaré – Nancy. P 7-9.

Zhao, C., Dodin, G., Yuan, C., Chen, H., Zheng, R., Jia, Z., & Fan, B.-T. (2005). “*In vitro*” protection of DNA from Fenton reaction by plant polyphenol verbascoside. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1723(1-3)**, 114-123.

Zou, Y., Qian, Z.-J., Li, Y., Kim, M.-M., Lee, S.-H., & Kim, S.-K. (2008). Antioxidant effects of phlorotannins isolated from *Ishige okamurae* in free radical mediated oxidative systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, **56(16)**, 7001-7009.

Les cites internet

Anonyme 1: <https://www.hebedesandes.com/lorac-et-les-radicaux-libres/>

Anonyme 2: <https://www.function4fit.com/single-post/2016/05/30/Radicaux-libres>

Anonyme 3: <https://www.aboutkidshealth.ca/Article?contentid=926&language=English> <http://m.20-bal.com/doc/2540/index.html>

Anonyme4: http://www.dcwbouira.dz/fr/index.php?option=com_content&view=article&id=57&Itemid=34

Anonyme 5: <https://fr.db-city.com/--Boukram>

Annexe 1 : données brutes de l'activité antioxydant.

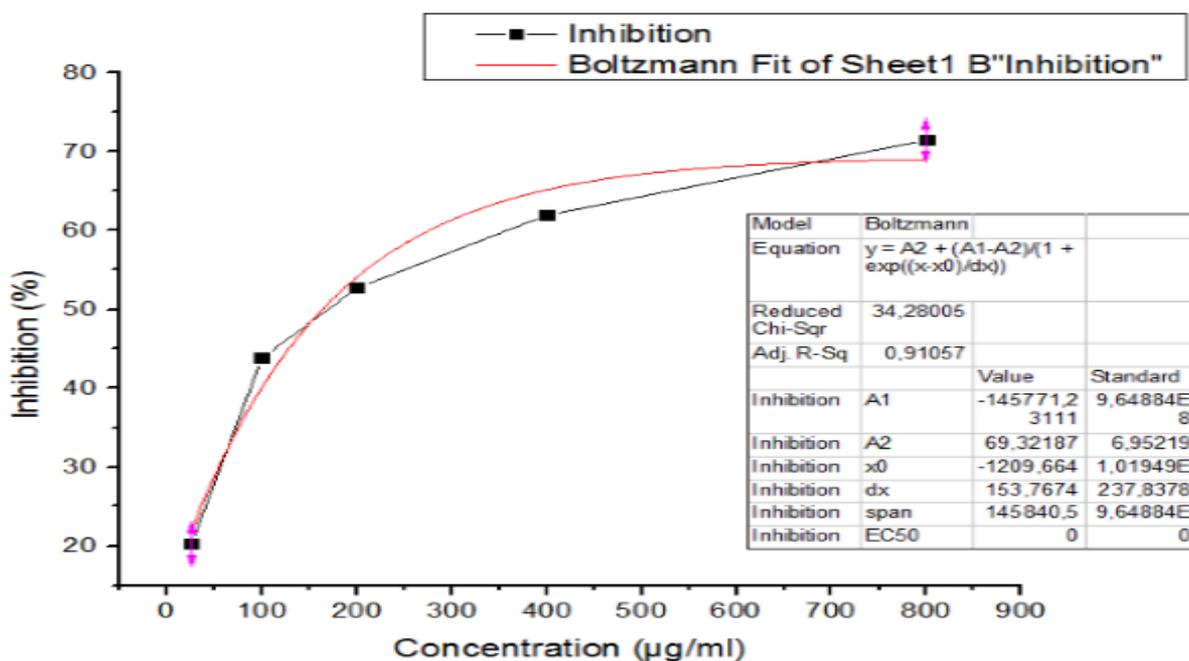


Figure1 : Activité scavenging de différentes concentrations d'*Ajuga iva*.

$$IC_{50} = X0 + (dx \ln (A1-A2)/(50-A2)).$$

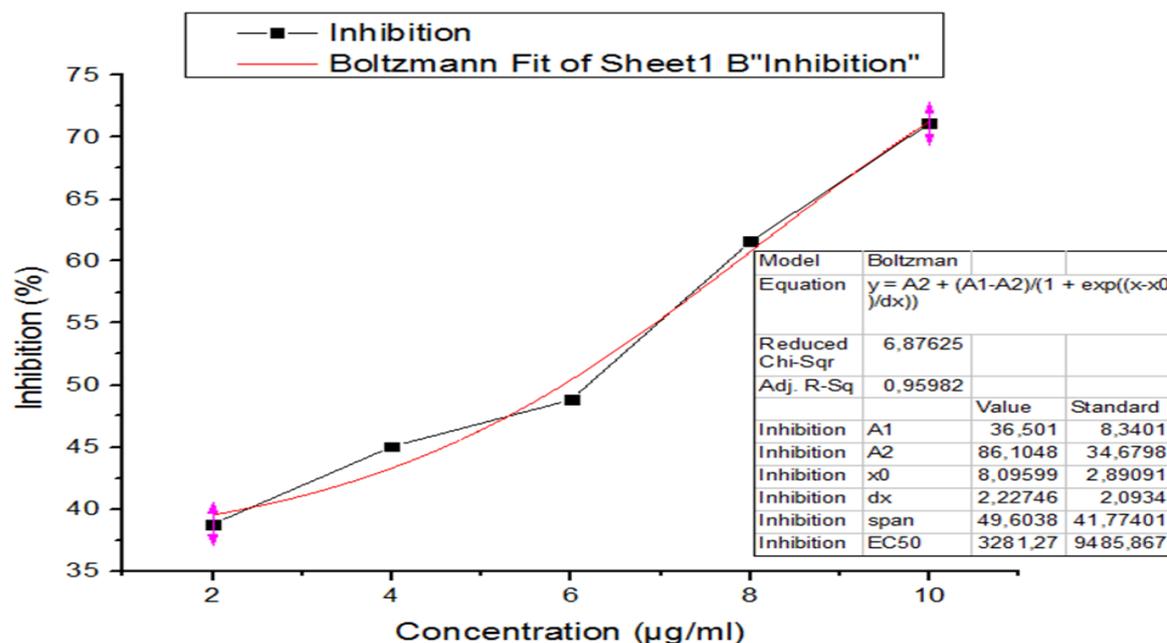


Figure2 : Activité scavenging de différentes concentrations du standard BHA.

$$IC_{50} = X0 + (dx \ln (A1-A2)/(50-A2) - 1)$$

Annexe 2: résultats visuels des différentes activités évaluées de l'extrait d'*A. iva*.

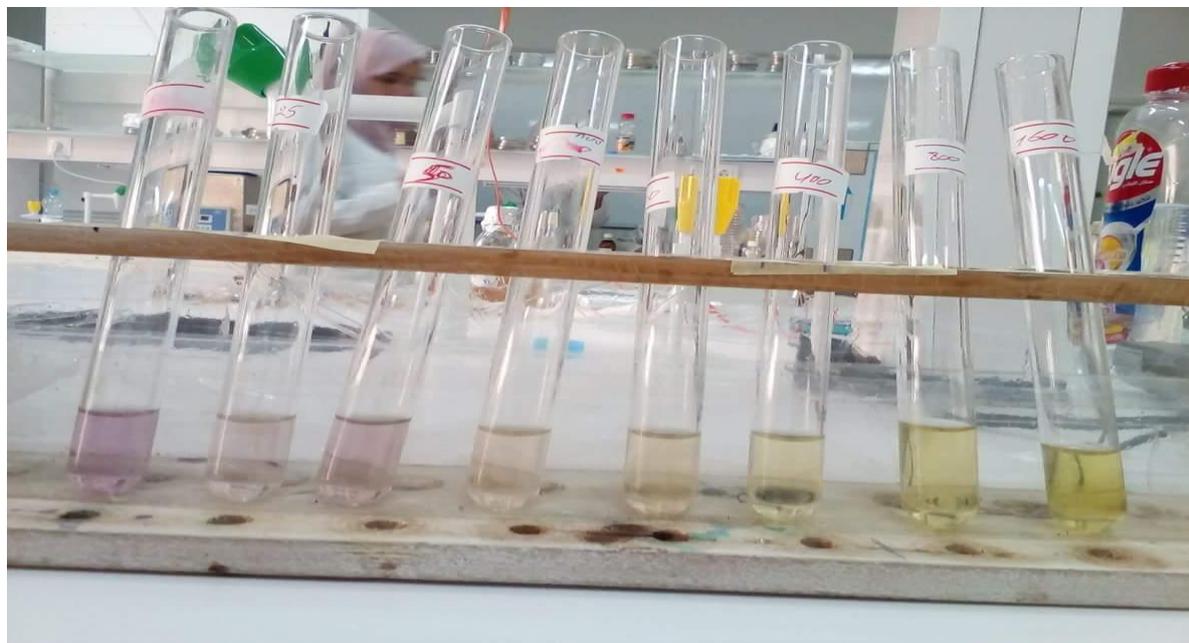


Figure 3: image montre le changement de couleur du DPPH+• après l'addition à différentes concentrations d'extrait d'*Ajuga iva*.



Figure 4 : Une image montre le changement de couleur du DPPH+• après l'addition à différentes concentrations de BHA.

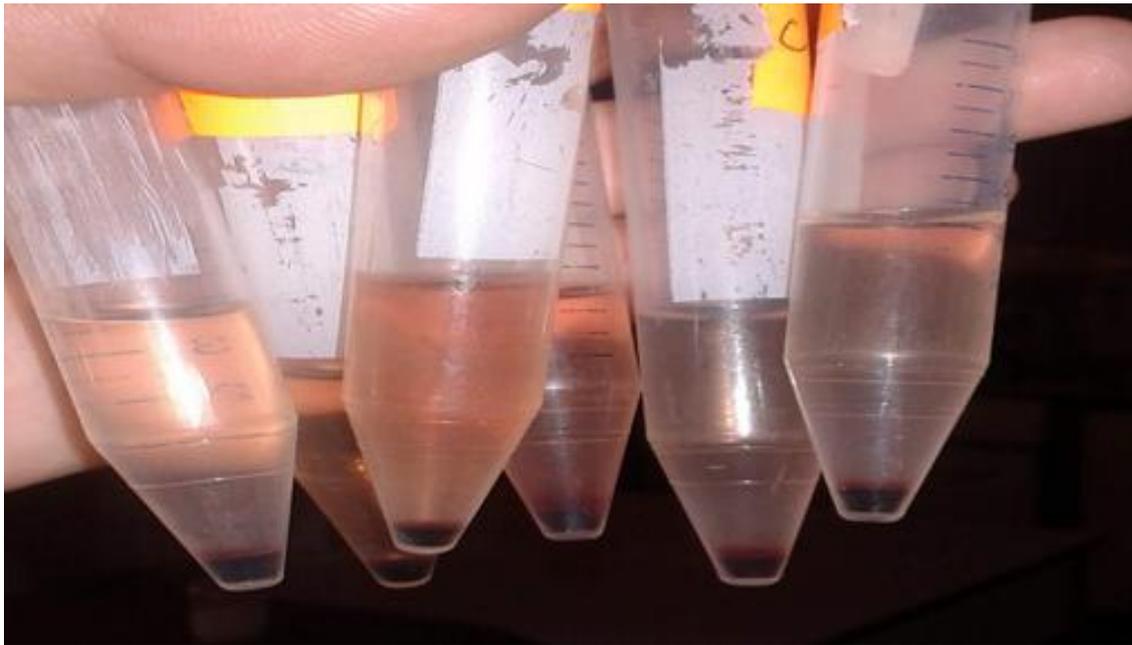


Figure 5: l'inhibition d'hémolyse des globules rouge induit par différentes concentrations d'extrait éthanolique d'*Ajuga iva*.

Résumé

Le stress oxydant, cause de plusieurs maladies allant de l'inflammation au cancer, suscite la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. Dans cette optique, nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de l'ivette musquée *Ajuga iva*, une plante qui pousse dans la région de Bouira et qui est utilisée par sa population pour ses vertus médicinaux. Les propriétés antioxydants ont été testées avec le radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). En outre, l'effet anti-inflammatoire a été étudié par le test de stabilité de la membrane du globule rouge *in vitro*. Les résultats obtenus ont révélé une remarquable activité vis-à-vis du radical libre DPPH. Avec une IC50 de 163µg/ml. Par ailleurs, pour le test de stabilisation de la membrane, l'effet protecteur de l'extrait éthanolique des feuilles d'*Ajuga iva*, contre l'hémolyse des globules rouges, provoqué par la chaleur, s'est avéré très intéressant avec un pourcentage maximale de protection aux alentours de 67 %, à la concentration de 800µg / ml. Ces résultats démontrent que l'extrait d'*Ajuga iva* a des effets antioxydants et anti-inflammatoire notables et peuvent, par conséquent, avoir des avantages en pharmacologie par l'identification de constituants actifs de cet extrait et l'évaluation de leurs propriétés *in vivo* reste objective pour les recherches futures.

Mots clés : *Ajuga iva*, Activité antioxydant, DPPH, Inflammation, Anti-inflammatoire.

Abstract

Oxidative stress, which causes many diseases ranging from inflammation to cancer, leads to the search for new antioxidant remedies. With this in mind, we have tried to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of Musky bugle *Ajuga iva*, a plant that grows in the Bouira region and is used by its population for its medicinal properties. The antioxidant properties were tested with the free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). In addition, the antiinflammatory effect was studied by the stability test of the red cell membrane *in vitro*. The results obtained proved to be a remarkable activity vis-à-vis the free radical DPPH. With an IC50 of 163 µg / ml. Moreover, for the membrane stabilization test, the protective effect of the ethanolic extract of the leaves of *Ajuga iva*, against the hemolysis of the red blood cells, caused by the heat, proved to be very interesting with a maximum percentage of protection at around 67%, at a concentration of 800 µg / ml. These results demonstrate that *Ajuga iva* extract has significant antioxidant and anti-inflammatory effects and may, therefore, have clinical benefits. The identification of active constituents of this extract and the evaluation of their properties *in vivo* remains objective for future research.

Key words: *Ajuga iva*, Antioxidant activity, DPPH, Inflammation, Anti-inflammatory.

ملخص:

الإجهاد التأكسدي، الذي يسبب العديد من الأمراض والتي تتراوح بين الالتهاب والسرطان، مما أدى إلى البحث عن علاجات جديدة مضادة للأكسدة. في هذا السياق، حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات لمستخلص الإيثانول لـ *Ajuga iva* وهو نبات ينمو في منطقة البويرة ويستخدمه سكانها من أجل فوائده الطبية. تم اختبار الخواص المضادة للأكسدة بالجذور الحرة (DPPH) (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). تمت دراسة التأثير المضاد للالتهاب من خلال اختبار ثبات غشاء الخلية الحمراء في المختبر. كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن نشاط ملحوظ مقابل DPPH الراديكالي الحر. مع $IC_{50} = 163 \mu g/ml$. بالنسبة لاختبار استقرار الغشاء، أثر الحماية للمطول الإيثانولي لهذه النبتة ضد انحلال خلايا الدم الحمراء، الناجمة عن الحرارة وجدت مثيرة للاهتمام مع نسبة قصوى من الحماية بحوالي 67 %، عند تركيز $800 \mu g/ml$. وتبين هذه النتائج أن مستخلص *Ajuga iva* له تأثيرات مضادة للأكسدة ومزايا هامة مضادة للالتهابات، وبالتالي قد يكون له مزايا في علم الأدوية عن طريق تحديد المكونات النشطة للمستخلص وتقييمه في الجسم الحي وبالتالي تبقى هدف للبحث في المستقبل.

الكلمات المفتاحية : *Ajuga iva*، نشاط مضاد للأكسدة ، DPPH، التهابي ، مضاد للالتهابات.

