

République Algérienne Démocratique Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université SAAD DAHLAB-BLIDA -1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de projet fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master En Biologie

Option: Phytothérapie et Santé

Thème

*Etude des activités antioxydante, anti-inflammatoire et cicatrisante des feuilles de Bourrache (Borago officinalis L.)*

Présenté par :

M<sup>elle</sup> BERKANI Imen

M<sup>elle</sup> NIFER Faiza

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> TOUAYBIA M.	Maître assistante A	U.S.D.B	Présidente
M <sup>me</sup> BRADEA M.S.	Maître de conférences A	U.S.D.B	Examinatrice
M <sup>me</sup> CHERIF.H.S.	Maître de Conférences B	U.S.D.B	Promotrice

Promotion: 2016-2017

# Remerciements

*En premier lieu nous devons remercier Dieu, le tout Puissant qui nous a donnés la volonté, la patience et Le courage pour mener ce travail à son terme.*

*Nous exprimons nos remerciements dévoués à :*

*M<sup>me</sup> CHERIF H.S., qui a accueilli avec intérêt ce mémoire et a guidé notre travail.*

*A M<sup>me</sup> TOUAYBIA M., qui nous a fait l'honneur de Présider le jury.*

*A M<sup>me</sup> BRADJA M.S., d'avoir aimablement accepté d'examiner ce travail.*

*A Tout le personnel du jardin d'essai EL Hamma, qui nous ont fourni la documentation nécessaire.*

*A tout le groupe de pharmacotoxicologie et physicochimie et tous les employés de la maintenance (SAIDAL Médéa)*

*A tous les enseignants du département de Biologie SAAD DAHLAB de -BLIDA-*

*Enfin nous volons témoigner notre gratitude à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin afin de réaliser ce travail.*

*Merci*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mon père (DJamel), ma mère (Nabila) que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimités, leur encouragement continu, leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, que dieu les gardes et les protèges.*

*A ma sœur Tamani et mes frères Yasser et Zaid, mon oncle Radouen.*

*A ma grand-mère Kanza et grand père Abd El Karim, Ma tante Zahida.*

*A tous les membres de la famille Nifer et la famille Garoudja.*

*A mes chères amies et sœurs Faiyrouz Nihed, Sara et Zahra, Ibtissem, Mazoura, Amel, Mohamed, Mounir qui m'a beaucoup encouragé.*

*À mon binôme Imen, pour tous les jolis souvenirs qu'on a partagé ensemble.*

*A Khadidja, Naoul, Nadjat, Hajer et à toutes mes camarades de la promo 2016 'Phytothérapie et Santé'.*

*A tous ceux qui me connaissent et qui m'aiment*

**Faiza**

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mon père (Nor Eddine) et ma mère (Khaïra), que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimités, leur encouragement continu, leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, que dieu les gardes et les protèges.*

*À mes sœurs Fatima, Nora, Marwa, Chaima, et mon frère Mohammed je leur souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.*

*À mes grand-pères et mes grand-mères que Dieu leur accorde la santé et une longue vie. À mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines spécialement Soumia que j'aime énormément. À tous les membres de la famille (Berkani), grands et petits.*

*À mes chères amies et sœurs KHadidja, Nawal et Nihad que Dieu les garde et protège*

*À mon binôme Fazia, pour tous les jolis souvenirs qu'on a partagé ensemble.*

*À tous mes amis, À toute la promotion Phytothérapie et Santé 2016/2017, spécialement Hadjer, À tous ceux que j'aime.*

*Imen*

## Résumé

---

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales en Algérie, nous nous sommes intéressées à l'étude des caractéristiques phytochimiques et analytiques de l'extrait aqueux des feuilles de *Borago officinalis* L., suivie par la mise en évidence de quelques activités biologiques en l'occurrence antioxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique et cicatrisante.

Un screening phytochimique a été effectué et a révélé la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponosides, des alcaloïdes et des mucilages et l'absence des quinones et des coumarines dans les feuilles de la plante étudiée.

Le test de la toxicité aigüe de l'infusé exécuté à différentes doses, a montré que les feuilles *Borago officinalis* L., sont considérés non toxiques avec un DL50 > 10000 mg/kg.

L'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a montré que l'extrait aqueux représente une faible activité antioxydante avec une IC50 de 0,05mg/ml.

L'effet anti-inflammatoire a relevé que l'extrait aqueux à une dose de 20% et 30% réduit significativement l'œdème de la patte de la souris, induit par la Carraghénine.

En outre, les résultats de l'évaluation de l'effet cicatrisant de Bourrache sur les plaies des lapins ont montré que le cataplasme à base de feuilles séchés ou fraîches sur le processus de cicatrisation pourrait être efficace.

En ce qui concerne, l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux comparable au Spasfon les résultats obtenus montrent que l'extrait possède un effet antispasmodique sur les souris testées avec une diminution significative de nombre des spasmes pour les doses 10%, 20% et 30%.

**Mots clés :** *Borago officinalis* L., extrait aqueux, activités.

## Abstract

---

In the context of the valorization of medicinal plants in Algeria, we were interested to study the phytochemical and analytical characteristics, followed by the study of the some biological activities of Borage leaves (*Borago officinalis* L.).

Our objective is based on the use of the aqueous leaf extract to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic and cicatrizing activity.

And for this we have done a phytochemical screening, which revealed the presence of flavonoids, tannins, saponosides, alkaloids, in the leaves of the studied plant.

The acute toxicity test of the infused performed at different doses, showed that *Borago officinalis* L. leaves are relatively considered non-toxic with an LD50 > 10000 mg/kg.

The study of antioxidant activity by the DPPH test (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) showed that the aqueous extract shows a low antioxidant activity with an IC50 de 0,05mg/ml.

The anti-inflammatory effect observed that the aqueous the edema of the leg of mouse induced by carrageenan.

Furthermore, the results of the evaluation of the healing effect of Borage on the wounds of the healing process could be effective in curing wounds.

As regards the antispasmodic activity of the aqueous extract comparable to spasfon, the results obtained show that the extract possesses an antispasmodic effect on the mice tested with a significant decrease in the number of spasms for the 10%, 20% and 30%.

**Key words:** *Borago officinalis* L., the aqueous extract, activity.

في إطار تّثمين النباتات الطبية في الجزائر، اهتمنا بدراسة الخصائص الفيزيائية والتحليلية، يليها عرض بعض الانشطة البيولوجية لأوراق الحمم المخزني و يستند هدفنا على استخدام المستخلص المائي للأوراق لتقييم النشاط المضاد للأكسدة المضاد للالتهابات، المضاد للتشنجات وأثار الجروح.

و كشف النتائج التحليل الكيميائي النباتي وجود فلافونيدات و العفص، الصابونين، القلوبات والهلام النباتي و عدم وجود الكينون و الكومارين في أوراق النبات المدروسة.

اختبار التسمم الحاد الذي أجري في جرعات مختلفة اظهرت أن أوراق الحمم المخزني تعتبر نسبيًا غير سامة عند الجرعة القاتلة  $50 < 10000$  ملغ / كغ.

دراسة النشاط المضاد للأكسدة بواسطة اختبار DPPH (ثنائي فينيل بيكريل هيدرا زيل) للمستخلص المائي أظهر أن النشاط المضاد للأكسدة منخفض مع تركيز المادة الموافق للتثبيط النصفية (IC<sub>50</sub>) 0,05 ملغ / مل.

أشار تأثير مضاد الالتهابات أن المستخلص المائي بجرعة 20 % و 30 % يقلل بشكل كبير من الالتهابات التي يسببها الكاراجينان.

و بالإضافة الى ذلك فان نتائج تقييم تأثير الحمم المخزني على جروح الأرانب، أظهرت أن اللبخة المستحضرة من الأوراق المجففة أو الطازجة على أثار الجروح يمكن أن تكون فعالة.

فيما يخص نشاط مضاد التشنجات للمستخلص المائي مماثل للسابسون فإن النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن المستخلص له تأثير مضاد للتشنجات على الفئران المختبرة مع انخفاض كبير في عدد التشنجات عند الجرعات 20 % و 30 %.

**الكلمات المفتاحية :** الحمم المخزني، مستخلص مائي، النشاطات.

## Liste des figures

---

<b>Figure 1:</b> Aspect général de Bourrache .....	3
<b>Figure 2:</b> Structures chimiques des alcaloïdes pyrrolizidiniques.....	7
<b>Figure 3:</b> Structure de base des flavonoïdes.....	8
<b>Figure 4 :</b> Filtration d'extrait aqueux.....	12
<b>Figure 5:</b> Administration des doses aux souris par gavage.....	14
<b>Figure 6:</b> Réaction de piégeage du radical DPPH par le phénol.....	15
<b>Figure 7:</b> Protocole expérimental de l'activité antioxydante.....	16
<b>Figure 8:</b> Gavage des souris .....	annexes2
<b>Figure 9:</b> Injection de la Carraghénine par voie sous cutanée.....	annexes2
<b>Figure 10:</b> Mesure des pattes des souris à l'aide d'un pied à coulisse.....	annexes2
<b>Figure 11:</b> Préparation d'un cataplasme de la poudre de <i>Borago officinalis</i> L.....	annexes2
<b>Figure 12:</b> Différentes étapes de préparation d'un cataplasme des feuilles fraîches de <i>Borago officinalis</i> L.....	annexes3
<b>Figure 13:</b> Différentes étapes de l'activité cicatrisante du lapin témoin.....	annexes4
<b>Figure 14:</b> Différentes étapes de l'activité cicatrisante du lapin référence.....	annexes4
<b>Figure 15:</b> Cataplasme à base de la poudre de Bourrache.....	annexes4
<b>Figure 16:</b> Cataplasme à base de feuilles fraîches de <i>Borago officinalis</i> L.....	annexes4
<b>Figure 17:</b> L'injection d'acide acétique par voie intra-péritonéale et la réaction des souris.....	21
<b>Figure 18:</b> Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de la poudre de Bourrache et l'acide Ascorbique.....	24
<b>Figure 19:</b> IC 50 de l'extrait aqueux de la poudre de Bourrache et l'acide Ascorbique.....	25
<b>Figure 20:</b> Présentation graphique des pourcentages d'augmentation de l'œdème en fonction des traitements après 30min.....	26
<b>Figure 21:</b> Présentation graphique des pourcentages d'inhibition de l'œdème.....	27
<b>Figure 22:</b> Témoin négatif.....	28
<b>Figure 23:</b> Traitement des plaies par le Madécassol.....	29
<b>Figure 24 :</b> Traitement des plaies par le cataplasme à base de la poudre humide de Bourrache.....	29
<b>Figure 25:</b> Traitement des plaies par le cataplasme à base de feuilles décoctés de Bourrache.....	30
<b>Figure 26:</b> Présentation graphique des pourcentages de protection.....	33

## INTRODUCTION

## CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### I.1. NOTIONS SUR LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES

I.1.1. Définition de la phytothérapie.....1

I.1.2. Notion de plante médicinale, drogue végétale.....1

### I.2 LA BOURRACHE (*Borago officinalis* L.)

I.2.1. Historique .....2

I.2.2. Famille des Borraginacées.....2

I.2.3. Classification .....2

I.2.4. Description botanique .....3

I.2.5. Origine et habitat .....4

I.2.6. Etymologie .....4

I.2.7. Principaux constituants .....5

I.2.8. Parties utilisées et la récolte.....5

I.2.9. Conservation.....5

I.2.10. Propriétés thérapeutiques .....6

I.2.11. Utilisation alimentaire.....6

I.2.12. Usages traditionnels .....6

I.2.13. Effets bénéfiques de l'huile de Bourrache .....7

I.2.14. Toxicité .....8

## CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

### II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel biologique.....10

II.1.2. Matériel non-biologique.....10

### II.2 METHODES D'ETUDE

II.2.1. Préparation de l'extrait aqueux .....11

II.2.2. Screening phytochimique.....12

II.2.3. Evaluation de la toxicité aiguë.....13

II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....14

II.2.5. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....16

II.2.6. Etude de l'activité cicatrisante .....17

II.2.7. Etude de l'activité antispasmodique .....19

## CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Analyses physicochimiques.....21

III.2. Test de la toxicité aiguë.....22

III.3. Activité antioxydante.....23

III.4. Activité anti-inflammatoire.....25

III.5. Activité cicatrisante.....27

III.6. Activité antispasmodique.....31

**Conclusion.....33**

**Références bibliographiques.....34**

**Annexes**

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1:</b> Screening phyto-chimique.....	19
<b>Tableau 2:</b> Echelle numérique de la lecture des résultats du test d'irritation.....	26
<b>Tableau 3:</b> Classification du produit selon l'indice d'irritation primaire cutané IP.....	27
<b>Tableau 4:</b> Répartition des souris utilisées pour de l'activité antispasmodique en lots.....	28
<b>Tableau 5:</b> Réactions colorimétriques .....	31
<b>Tableau 6:</b> Dose-effet de l'extrait aqueux <i>Borago officinalis</i> L. chez les souris traitées par voie orale (toxicité aiguë).....	23
<b>Tableau 7:</b> Première lecture après 14jours d'application du cataplasme de la poudre de Bourrache.....	29
<b>Tableau 8:</b> Première lecture après 14jours d'application du cataplasme des feuilles fraîches de la Bourrache.....	30
<b>Tableau 9:</b> Valeur de l'IC 50 de l'extrait aqueux de Bourrache et l'acide Ascorbique .....	annexes 8
<b>Tableau 10:</b> Volume de chaque solution gavage chez les souris .....	annexes 8
<b>Tableau 11:</b> Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache (évolution des épaisseurs des pattes de la 1 <sup>ère</sup> souris.....	annexes 9
<b>Tableau 12:</b> Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache (évolution des épaisseurs des pattes de la 2 <sup>ème</sup> souris).....	annexes 9
<b>Tableau 13:</b> Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de <i>Borago officinalis</i> L. ....	annexes 10
<b>Tableau 14:</b> Calcul du pourcentage d'augmentation (% AUG) du l'œdème en fonction du temps .....	annexes 10
<b>Tableau 15:</b> Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) en fonction du temps .....	annexes 10
<b>Tableau 16:</b> Comparaison entre pourcentage d'augmentation des différents produits testés .....	annexes 11

## Liste des tableaux

---

**Tableau 17:** Comparaison entre pourcentage d'inhibition des différents produits testés

.....annexes 11

**Tableau 18:** Nombre des spasmes enregistrés chez les souris en fonction des différentes solutions administrées..... annexes 12

**Tableau 19:** Pourcentages de protections enregistrées chez les souris en fonction des différentes solutions administrées..... annexes 12

**Tableau 20:** Comparaison entre pourcentage de protection des différents produits testés  
.....annexes 12

**Adoucissante** : A un effet apaisant qui combat l'inflammation (Mostade, 2015).

**Antidépresseur** : substances destinées à lutter contre la dépression (Ernest et Paul, 2000).

**Anti-inflammatoire** : Qui lutte contre les inflammations (Ernest et Paul, 2000).

**Antioxydant** : Prévient l'oxydation et l'altération des tissus (Aouadhi, 2010).

**Antispasmodique** : Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires (Delille, 2007).

**Cicatrisant** : qui favorise la cicatrisation de plaies et la fermeture de blessures, parfois grâce à une action désinfectante (Aouadhi, 2010).

**Diurétique** : qui augmente la sécrétion urinaire en agissant à différents niveaux sur la fonction rénale (Delille, 2007).

**Laxatif** : qualifie l'élément chimique actif d'une plante qui facilite l'évacuation des selles (Aouadhi, 2010).

**Œdème** : C'est un gonflement anormal d'un tissu (Gucrin et Thieulle, 2005).

**Sessile** : Dépourvu de support, de pétiole, de pédoncule (Aouadhi, 2010).

**Tonique** : Fortifie et stimule l'activité de l'organisme en (Delille, 2007).

## Introduction

---

A travers les siècles, les traditions ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales ayant pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des Hommes (**Iserin, 2001**).

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques Arabe, Chinoise, Egyptienne, Hindou, Grecque, Romaine. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique.

Pour prévenir à une amélioration de cette médecine Africaine, plusieurs investigations phytochimiques ont été faites, afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelles des plantes médicinales (**Guessan et al., 2009**).

En Algérie, la médecine traditionnelle, ainsi pratiquée, trouve un accueil favorable auprès des populations qui sont, hélas, parfois en proie à un charlatanisme ignorant et dangereux pour les maladies (**Delille, 2007**).

Dans la médecine populaire, certaines espèces de Borraginacées considérées à tort comme mauvaises herbes sont en vérité des plantes ayant des vertus thérapeutiques comme la Bourrache peuvent être utile pour de nombreuses maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde et la sclérose en plaques gastro-intestinales, respiratoires et troubles cardiovasculaires (**Sousa et al. ; Alias et al., 2015**).

Ainsi, l'objectif de notre travail vise à montrer la richesse de cette plante en métabolites secondaires démontrer par le screening phytochimique (flavonoïdes, tanins, anthocynes..), tester la toxicité aigüe et évaluer quelque activités biologiques et pharmacologiques de la Bourrache. Pour cela notre étude englobe l'utilisation de l'extrait aqueux pour évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique et cicatrisante dont l'application topique de cataplasme à base de feuilles de Bourrache, qui est utilisé sous la forme traditionnelle en Algérie.

## I.1. Notions sur la phytothérapie et les plantes médicinales

### I.1.1 Définition de la phytothérapie

La phytothérapie vient du grec « phyto- » plante « -thérapie », soigner. Par conséquent, la phytothérapie est le traitement par les plantes. La phytothérapie traite les différentes pathologies à l'aide de tisanes, d'extraits, de poudres, etc. (**Charpentier et al ., 2008**).

### I.1.2 Notion de plante médicinale, drogue végétale

Selon **Joux (2012)** une plante médicinale ou simple, définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ».

Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais. L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

### I.1.3 Poudre

La poudre est drogue sèche, finement réduite. Elle conserve cependant le substrat, c'est-à-dire la partie ligneuse qui n'apporte que l'effet thérapeutique (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

### I.1.4 Cataplasme

D'après **Gladstar (2013)** le cataplasme est une application externe, sur la peau, d'herbes humides, d'argile, de légumes râpés ou écrasés ou d'autres matériaux absorbants. Il est préconisé pour enlever les impuretés, soulager la douleur ou stimuler la circulation.

## I.2 La Bourrache (*Borago officinalis* L.)

### I.2.1 Historique

Le nom de cette plante attirante par ses jolies fleurs en étoile d'un bleu azur, mais couverte de poils hérissés, dérive de borago, terme remontant au Moyen-âge. Il dérive du latin burra, bure, étoffe grossière en laine, du fait de la texture rêche des feuilles de Bourrache officinale. Certains le font cependant dériver de l'arabe abû araq, père de la sueur, à cause des propriétés sudorifiques de la plante, reconnues depuis l'Antiquité. La plante était jadis vendue comme remède dans les officines des pharmaciens (**Couplan, 2012**).

### I.2.2 La famille des Borraginacées

Les Borraginacées comprennent 2450 espèces appartenant aux régions chaudes et tempérées (Beiser, 2012). La famille des Borraginacées est nommée d'après le genre *Borago*, elle comporte également les Consoudes, les Myosotis, les Pulmonaires (Couplan, 2012).

### I.2.3 Classification

D'après la classification APG III en 2009 la Bourrache appartient :

- ❖ Règne : Plantea
- ❖ Embranchement : Embryophytes
- ❖ Sous-embranchement : Trachéophytes
- ❖ Super-classe : Spermaphytes
- ❖ Classe : Angiospermes
- ❖ Clade : Triporées évoluées ou Eudicots
- ❖ Clade: Astéridées
- ❖ Clade: Lamiidées
- ❖ Ordre : Borraginales
- ❖ Famille : Borraginacées
- ❖ Genre : *Borago*
- ❖ Espèce : *Borago officinalis* L.

### I.2.4 Description botanique

La Bourrache est une plante annuelle ramifiée pouvant atteindre 1 m de hauteur. Les feuilles sont alternes, dépourvues de stipules, de 3 à 20 cm de long sur 2 à 7 cm de large, celles de la base sont elliptiques et largement pétiolées, à limbe légèrement échancré, les feuilles supérieures oblongues, de plus petite taille, sessiles et caulinaires (rattachées à la tige), elles sont recouvertes de poils hérissés leur conférant une texture rêche, leurs bords sont ondulés, la nervation très saillante à leur face inférieure (Teuscheret al., 2005). (Figure 1, A). Aux tiges charnues, fistuleuses, sillonnées, hérissées de poils rapides et presque piquants. (Figure 1, B).



**Figure 1:** Aspect général de Bourrache (Teuscheret et al., 2005; Pierre et Délia, 2007)

**A :** Feuille

**B :** Tige

D'après **Polèse (2006)** les fleurs, roses lorsqu'elles sont en boutons, prennent par la suite une couleur d'un bleu particulièrement intense. D'un diamètre de 2 cm environ, inclinées vers le bas, elles sont composées de cinq pétales disposés en étoile autour d'un cône d'étamines noires (Figure 1, C).

L'inflorescence est longuement pédonculée, en panicule très lâche ou cyme florale ; cette inflorescence unilatérale (fleurs disposée d'un seul côté) est qualifiée de « scorpénidé », en forme de queue de scorpion (**Aït Youcef, 2006**) (Figure1, D). La floraison s'étale généralement de Mars à Mai (**Dufresne et Ouellet, 2010**).



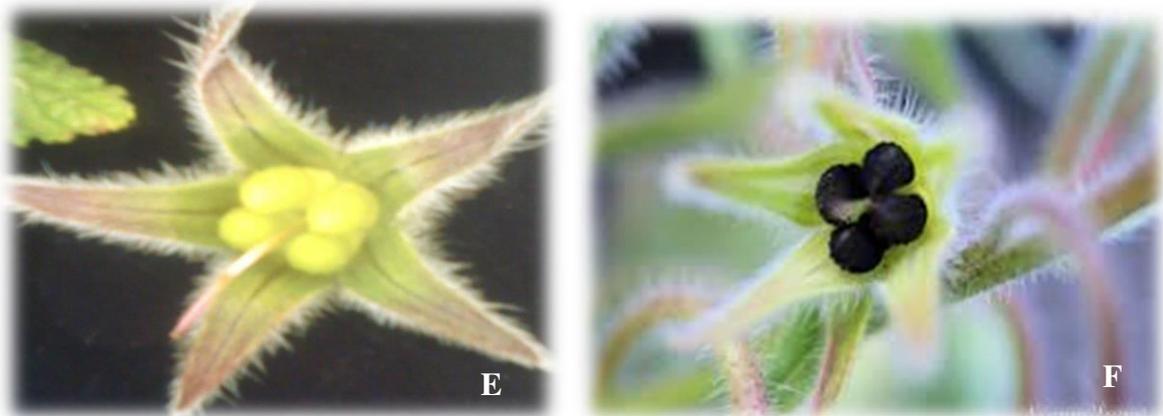
**Figure 1:** Aspect général de Bourrache (Wilson, 2007 ; Chazel, 2012)

**C :** Fleur

**D :** Pied fleuri

Les fruits est un tétrakène composé de quatre akènes ou nucules, qui se séparent à maturité, chacun de forme ovoïde ; ils sont carénés sur les deux faces, nus, striés ou ridés en surface, généralement de couleur brune ; à leur sommet, leur surface est tuberculeuse ; ces nucules sont de

croissance osseuse ; ce fruit est de couleur brune, et à maturité, il est presque noirâtre. Chacun des 4 nucules renferme une seule graine dépourvue d'albumen (Aït Youcef, 2006).



**Figure 1** : Aspect général de Bourrache (Pierre et Délia 2007 ; Anonyme 1, 2010)

**E** : Nucules

**F** : Fruits brunes

### I.2.5 Origine et habitat

La Bourrache est une plante commune en Europe, elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen. On la trouve à l'état sauvage ainsi que dans de nombreux jardins, car elle est robuste, peu exigeante et se reproduit facilement. Certaines sources lui attribuent une origine nord-africaine, mais elle serait parvenue en Amérique à partir de l'Espagne et du Maroc où elle poussait déjà au Moyen âge (Dufresne et Ouellet, 2010).

La Bourrache est assez commune en Algérie, cette plante se trouve à l'état sauvage le long des haies, près des habitations, sur les tas de pierres et les décombres, et même sur les terres cultivées. Elle affectionne particulièrement les terres riches en azote (Delille, 2007).

### I.2.6 Etymologie

Son nom vient de l'arabe *abourach* (père de la sueur), qui fait référence à ses propriétés sudorifiques. En latin, *burra* signifie « étoffe à poils longs » et se rapporte à l'aspect velu de plante. Son nom botanique « *borago* » vient du latin « *corago* » qui signifie « je stimule le cœur » (Dufresne et Ouellet, 2009).

### I.2.7 Principaux constituants

Selon Volak et Stodola (2007) la Bourrache contient des tanins, des mucilages, de la saponine, et des substances minérales. Les jeunes feuilles possèdent une forte proportion de vitamine C.

Ses graines donnent une huile riche en acides gras insaturés (80%) dont l'Acide Gamma linoléique (AGL), en stérols et en insaponifiables (environ 2%). Certains des composants de la Bourrache sont rares dans le domaine végétal (Cornaz, 2006).

La plante contient aussi des alcaloïdes pyrrolizidiniques qui sont à l'origine des principes physiologiques puissants de la Bourrache (Lacoste, 2014).

### I.2.8 Parties utilisées et la récolte

On pourrait utiliser toute la plante, mais on ramasse surtout les sommités fleuries ou les fleurs montées dès le début de la floraison et les graines pour en extraire l'huile (Delille, 2007).

La récolte se fait à la main, en gants, en coupant la partie supérieure de la tige, ce qui entraîne l'apparition de tiges nouvelles. Les parties prélevées sont séchées en couches minces, d'abord au soleil qui fait flétrir, puis à l'ombre ou en séchoir à 40°C maximum (Volak et Stodola, 2007).

### I.2.9 Conservation

La drogue sèche est stockée au frais dans des récipients hermétique (en porcelaine, en verre ou en métal) ce qui la protège de l'humidité et de la lumière, mais elle perd très vite son arôme (Teuscheret al., 2005).

### I.2.10 Propriétés thérapeutiques

Selon Verbois (2015) la Bourrache est diurétique, laxative, émolliente, et dépurative (jus frais), elle nettoie le sang de ses impuretés.

- ❖ Purifiante, tonique et régénératrice, elle stimule l'organisme tout en régulant les échanges cellulaires.
- ❖ Antidépresseur léger, elle aide à diminuer les tensions, le stress, en adoucissant le caractère.
- ❖ Elle est apaisante du système nerveux.
- ❖ Draineur de reins et de la peau, la Bourrache est adoucissante grâce aux mucilages qu'elle contient, elle agit sur l'eczéma.
- ❖ Anti-inflammatoire, elle apaise l'inflammation des voies urinaires.
- ❖ Elle est conseillée dans les néphrites, la rétention d'urine et les coliques néphrétiques.
- ❖ Elle ralentit par la même occasion l'inflammation dans la bronchite qu'elle soulage- il y a moins d'irritation - et adoucit les voies respiratoires (en inhalation).
- ❖ Plante sudorifique, elle agit dans les affections pulmonaires (rhume, pleurésie), les états fébriles (dans les maladies infantiles : rougeole, scarlatine).

- ❖ Adoucissantes, les fleurs de Bourrache sont utilisées dans les fortes toux et les irritations de la gorge.
- ❖ La Bourrache est employée également dans les maladies vasculaires, en raison de son apport en acides gras essentiels.
- ❖ Calment et antispasmodique

### I.2.11 Utilisation alimentaire

La cuisine des fleurs de Bourrache a connu un essor considérable depuis trois ans.

Particulièrement mellifères, elles agrémentent avec originalité la présentation et le goût des salades.

Elles peuvent aussi être confites pour parfumer des confitures raffinées ou de délicieuses boissons rafraîchissantes à base de miel et de jus de citron.

Les feuilles, d'aspect duveteux, allient les goûts tonifiants du radis et du concombre à leurs autres saveurs subtiles. Plus mûres, elles peuvent être préparées comme des épinards, ou encore agrémente des potages étonnants.

Elles permettent également la confection de beignets. Un coulis de feuilles de bourrache accompagnera audacieusement les fromages de chèvre frais et certains plats de poisson (**Goffinet et Provincial, 2013**).

### I.2.12 Usages traditionnels

La racine de *Borago officinalis* L. est employée au Maroc, dans le rif et dans la région de Fès. En usage externe : découpée en lamelles, elle sert ensuite en application locale pour réduire les foulures et les inflammations (rôle réparateur peut-être lié à l'éventuel effet émollient, anti-œdémateux et/ou anti-inflammatoire). Alors que les feuilles sont employées en Tunisie, en usage interne, sous forme de décocté, à raison d'un verre par jour, pour ses propriétés antitussives. Les fleurs mondées ou les sommités fleuries étaient employées en Algérie en usage interne comme remède diurétique et sudorifique, de même en Tunisie. Elles sont administrées en France et en d'autres pays en tisane sous forme d'infusion à 5 pour mille (5g de fleurs pour 1000ml d'eau), comme diurétique et sudorifique (**Ait Youssef, 2006**).

En usage externe sous forme d'un cataplasme appliqué sur les brûlés un hachis de plante frais, sur les articulations douloureuses un linge imbibé d'une décoction très concentrée (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

### I.2.13 Effets bénéfiques de l'huile de Bourrache

D'après **Catier et Roux (2007)**, la pression de matière première fournit directement l'huile.

D'une manière générale, l'extraction à froid donne les huiles vierges dites de première pression, qui sont les seules officinales.

L'extraction à chaud est surtout utilisée dans l'industrie et dans ce cas on peut opérer, soit par pression, soit au moyen de solvants, les deux procédés étant souvent utilisés successivement.

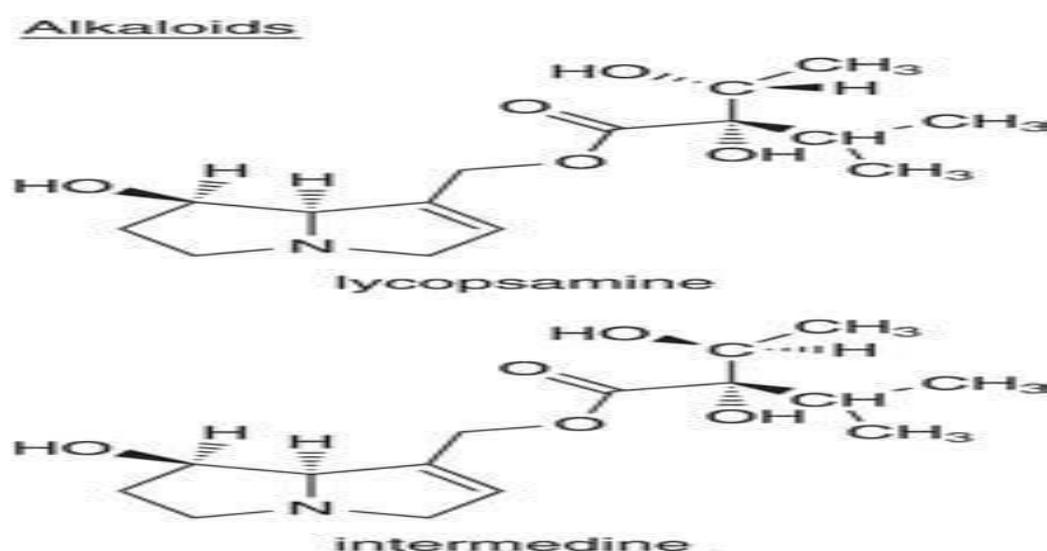
Les huiles brutes peuvent contenir de l'eau, des acides gras libres, des résines, des pigments des substances odorantes qui sont éliminées par raffinage.

L'huile de Bourrache est une huile très riche en oméga 3 et 6. C'est une des seules huiles végétales à contenir l'acide gamma-linolénique, efficace contre le vieillissement de la peau. Antiride, cicatrisante, nourrissante, raffermissante et régénératrice, elle est très employée en cosmétique. Elle rend la peau souple, plus élastique ou plus tonique. (**Riotte, 2015**).

### I.2.14 Toxicité

Les alcaloïdes du groupe des pyrrolizidines sont des composants communs de divers genres appartenant aux familles des Borraginacées et des Astéracées. Ils présentent des effets toxiques prononcés sur le foie et les poumons mais des effets cytotoxiques et autres actions mutagènes et cancérogènes ont également été rapportés (**Prota, 2008**).

La Bourrache élabore des alcaloïdes surtout au niveau des feuilles, mais en petite quantité (lycopsamine, amabiline, intermédiaire, suminine) (**Botineau, 2010**), (Figure 2).



**Figure 2** : Structures chimiques des alcaloïdes pyrrolizidiniques (**Barnes et al., 2007**).

## I.2 Molécules bioactives de Bourrache et leurs rôles

### I.2.1 Mucilages

Les mucilages sont des protecteurs des tissus. Ils ont une action adoucissante et calmante, et sont très souvent employés dans les pathologies des systèmes respiratoire et digestif (Verbois, 2015).

### I.2.2 Polyphénols

Les poly phénols constituent une classe des composés naturels largement présente dans le règne végétale. Ce sont des substances biologiquement actives qui présentent différentes propriétés pharmacologiques. Par conséquent, elles présentent un grand intérêt pour les scientifiques. En effet, plus de 8000 structures phénoliques ont été étudiées.

Tout naturellement, les plantes qui en enferment, ont des vertus thérapeutiques et de ce fait, sont employées pour traiter diverses pathologies (Ouattara et al., 2016).

### I.2.3 Flavonoïdes

Selon Rudi (2012) se sont des pigments végétaux orange et jaunes, ils servent à protéger la plante des coups de soleil.

Dans l'organisme, ils sont anti-inflammatoires, sudorifiques, protègent les cellules et chassent la rétention d'eau.

Leur action antioxydante a un effet bénéfique sur le cœur et la circulation, fortifiant et réparant les parois des vaisseaux sanguins et accroissant la résistance au stress (McIntyre, 2010).

Au sein des flavonoïdes, on trouve les flavonoles, les flavones, les flavonoïdes et les tanins condensés, les (prényl) chalcones et les dihydrochalcones ainsi que les anthocyanines / anthocyanides. Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) (Collin et Crouzet, 2011) (Figure 3).

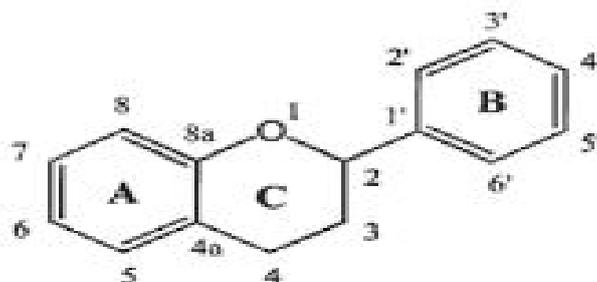


Figure 3: Structure de base des flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011).

### I.2.4 Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour rendre les tissus souples, pour drainer les sécrétions excessives (Iserin, 2001).

### I.2.5 Saponines

Selon Janicke et Gruenwald (2007) les saponines sont fortement moussantes et constituent d'excellents émulsifiants. Leur principale propriété est de pouvoir transformer des matières fermes en matières fluides. En raison de leur activité superficielle, elles sont proches du savon. Les saponines irritent les muqueuses, elles ont une action antibiotique et favorisent la digestion. La primevère officinale, les feuilles de lierre, la racine de réglisse et le marronnier d'Inde sont riches en saponines.

### I.2.6 Anthocyanes

Selon Gazengel (2013) les anthocyanes ou anthocyanosides sont des pigments végétaux hydrosolubles de couleur rouge violette ou bleue. Ils sont caractérisés par une génine comportant un noyau flavylum (ou 2-phénylbenzopyroxonium).

Les anthocyanes sont très répandus dans le règne végétal sous forme d'hétérosides (anthocyanosides). On les trouve dans de nombreuses fleurs, fruits, parfois les feuilles, auxquels ils confèrent leur couleur.

### I.2.7 Coumarines

D'après Silvant (2015) les coumarines sont présentes sous forme de traces dans les huiles essentielles.

Anticoagulantes, antispasmodiques, sédatives et hypotensives, elles se trouvent surtout dans le zeste des agrumes (furocoumarines).

### I.2.8 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale (elles recèlent des atomes d'azote), toxiques (même parfois à faibles doses) et à caractère alcalin.

La toxicité dans une plante est toujours signée par les alcaloïdes, car le corps ne métabolise pas l'azote, il l'expulse immédiatement (Verbois, 2015).

Notre travail a été réalisé au sein des laboratoires de pharmacotoxicologie (activité anti-inflammatoire, activité antispasmodique) et de physicochimie (screening phytochimique, activité antioxydante) de la filiale ANTIBIOTICAL SAIDAL de Médéa (Mars 2017). L'activité cicatrisante a été effectuée sur les lapins au niveau de la station expérimentale de la Faculté S.N.V. (Université Blida-1).

### **II.1. Matériel biologique :**

#### **➤ Matériel végétal :**

Les feuilles de Bourrache sont récoltées au niveau de la wilaya de Blida (EL Affroun) vers la fin du mois de février 2017. Elles sont soigneusement nettoyées pour éliminer les impuretés, séchées, à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. La quantité des feuilles récoltées est de 3kg.

Après 7 jours de séchage à température ambiante entre (18C° et 23C °), humidité de 18C° du mois de février, les feuilles sont broyées à l'aide d'un mixeur électrique, la poudre obtenue est stockée dans une boîte hermétiquement fermée.

#### **➤ Matériel animal :**

Nous avons utilisé 30 souris de laboratoire, ayant les caractéristiques suivantes :

Souche : N.M.R.I SWIS albinos.

Poids :  $\pm 20$ g

Et 6 lapins (d'une peau saine de souche hybride Néozélandaise  $\times$  Californienne ayant un poids  $\geq 2500$ g).

Les conditions d'élevage des souris et des lapins répondent aux normes d'une animalerie conventionnelle :

-T°  $22 \pm 2$  °C.

-Hygrométrie  $55 \pm 5\%$ .

-Nyctémère respectant le cycle circadien saisonnier (12h l'obscurité, 12h la lumière).

-Alimentation en granulés ONAB de composition répondant aux exigences de l'organisme de chaque espèce animale.

- Eau de boisson (eau potable de robinet).

### **II.2. Matériel non biologique :**

Le matériel non biologique utilisé au cours de nos expérimentations est mentionné dans l'annexe 1.

### II.3. Méthodes d'étude :

#### II.3.1. Préparation de l'extrait aqueux :

Les méthodes d'extractions utilisées ont été adaptées à partir des travaux de **Gilani et al., (2007)**.

La préparation de l'extrait aqueux de 10% des feuilles de Bourrache est réalisée en additionnant 10g de poudre à 100 ml d'eau distillée bouillit, puis laissée 30min avec agitation de temps en temps à l'aide d'un agitateur magnétique.

Après 30min ces extraits aqueux sont filtrés sur papier filtre de type wattman N° 3.

Le filtrat est ensuite mis dans des petits flacons en verre (**Ljubuncic et al., 2005**), (Figure 4).



**Figure 4:** Filtration d'extrait aqueux (**Originale, 2017**).

#### II.4. Screening phytochimique

Il englobe une série des réactions colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence des métabolites secondaires dans la plante à partir d'un extrait aqueux.

Le screening aide à chercher tous les métabolites secondaires.

Le tableau 1 montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires.

**Tableau 1 :** Screening phytochimique (**Harborne et al., 1998 ; Raaman et al., 2006**).

Métabolites secondaires	Méthodes	Résultat attendu
Anthocyanes	5ml d'extrait aqueux (10%) mélangé avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH <sub>4</sub> OH) concentré 30%.	Coloration rouge
Tanins totaux	5ml d'extrait aqueux + quelques gouttes de FeCl <sub>3</sub> dilué 1% (1g dans 100ml d'eau distillée).	Coloration bleue noire

Iridoïdes	2 ml d'infusé + quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Chauffer un peu.	Coloration bleue
Flavonoïdes	5 ml d'extrait aqueux + 5 ml d'acide chlorhydrique + un coupon de Zinc +1 ml d'alcool iso-amylque.	Coloration rouge orange
Leuco-anthocyanes	2 g de poudre+ 20 ml de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain Marie.	Coloration rouge
Alcaloïdes	5g de poudre + 50 ml d'éther chloroforme 3/1 Filtrer après 24h puis épuiser avec du HCL.	Précipité rouge
Sénosides	2,5 g de poudre + 50 ml d'eau distillée + 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Chauffer pendant 15 min+40 ml d'éther. La couche étherée est séparée, séchée avec le sulfate de sodium anhydre, évaporée + 5 ml d'ammoniaque diluée (1/2) au résidu refroidi	Coloration violette rouge
Quinones	Humecter 2 ml d'extrait aqueux par 2 ml d'acide chlorhydrique + 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2).	Coloration rouge
Coumarines	Prendre 1g de poudre de la plante mélangée avec 5 ml d'éther éthylique puis agiter et filtrer. Mettre le filtrat sous l'UV à 365nm.	Formation d'une trouble
Mucilages	Quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 % et 5 ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 1g de poudre. Le mélange est incubé pendant 15 minutes.	Précipité floconneux
Saponosides	2 ml d'extrait des feuilles de Bourrache, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb (0,3g dans 5ml d'eau distillée).	Précipité blanc

## II. 5. Evaluation de la toxicité aiguë

### ➤ Principe

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité. Pour cela nous avons administré aux souris, différentes concentrations de l'extrait aqueux des feuilles de Bourrache, obtenu en solubilisant la poudre végétale dans l'eau physiologique à 0.9%. Il consiste à déterminer la dose thérapeutique tout en déterminant la dose létale 50% (DL50), c'est-à-dire la dose capable de tuer, par la voie d'administration choisie, la moitié des animaux mis en expérience. L'observation des effets toxiques sur les animaux ainsi que le nombre de mortalité, se fait à 24 heures et au bout de deux semaines qui suivent l'administration (Miller et Tainter, 1944).

### ➤ Mode opératoire

- Les animaux ont été maintenus à jeun 18 heures avant le début de chaque expérimentation.

La méthode de dosage fut suivie selon les principes de l'OCDE (Guideline 425) où nous avons utilisé 7 lots de souris, auxquels nous avons administré des doses de 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 10000 mg/kg de poids corporel, correspondant respectivement à 10 ; 20 ; 40 ; 60 ; 80 ; 100 ; 200 mg de poudre par g de poids corporel.

- Nous avons administré 0,5 ml de chaque dilution aux souris par gavage à l'aide d'une sonde gastrique (Figure 5).
- Les souris sont privées de nourriture mais pas d'eau, pendant 2 heures après l'administration.



**Figure 5:** Administration des doses aux souris par gavage (Originales, 2017).

### ➤ Détermination de la DL50

L'extrait peut être toxique pour les souris ou peut ne pas l'être aux doses administrées.

Dans le cas où l'extrait présente une toxicité, nous déterminons alors sa DL50 qui est exprimée en mg/kg de poids corporel.

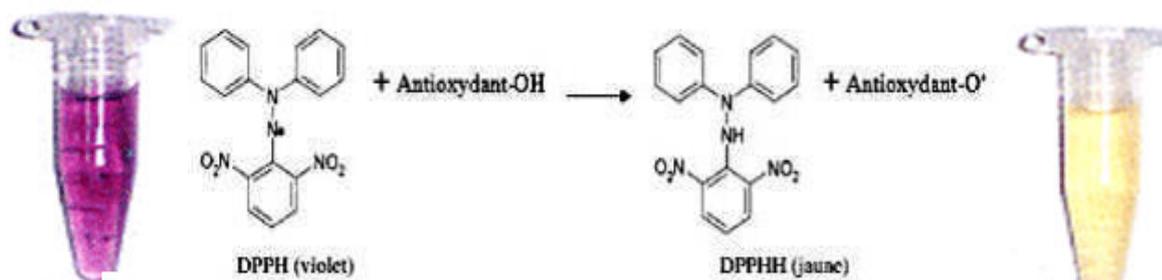
Elle consiste à porter directement sur du papier Log, le pourcentage de mortalité en fonction du log de la dose administrée.

### II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### • Méthode DPPH

Le test utilisé pour mesurer le pouvoir anti-radicalaire d'un échantillon est celui décrit par **Bouaziz et Sayadi (2005)**. Ce test a l'avantage d'éviter l'oxydation du substrat sur lequel nous voulons tester l'efficacité d'un antioxydant en choisissant de réduire un radical stable.

C'est le cas du 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Dans ce test le substrat d'oxydation est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante se transforme en sa forme réduite, le DPPH-H (figure 6), avec la perte de son absorbance caractéristique à 517 nm.



**Figure 6:** Réaction de piégeage du radical DPPH par le phénol (Congo, 2012).

On calcule ainsi, la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire disparaître 50% du DPPH. Ce dernier possède une coloration violette et absorbe à 517 nm.

Quand il réagit avec un antioxydant ou un autre radical, son absorbance et sa couleur typique disparaissent. Le phénomène peut être suivi par spectrophotométrie visible.

### ➤ Protocole expérimental

50ul de chaque concentrations d'extrait aqueux (0,1mg/ml, 0,08 mg/ml, 0,06mg/ml, 0,04 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,01mg/ml) sont mélangé à 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH (2,5mg de DPPH dans 100ml).

Après agitation, les solutions sont mises à l'obscurité pendant 30 mn. Puis, les densités optiques sont mesurées à 517 nm. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50ul d'eau distillée avec 2ml de solution méthanolique de DPPH.

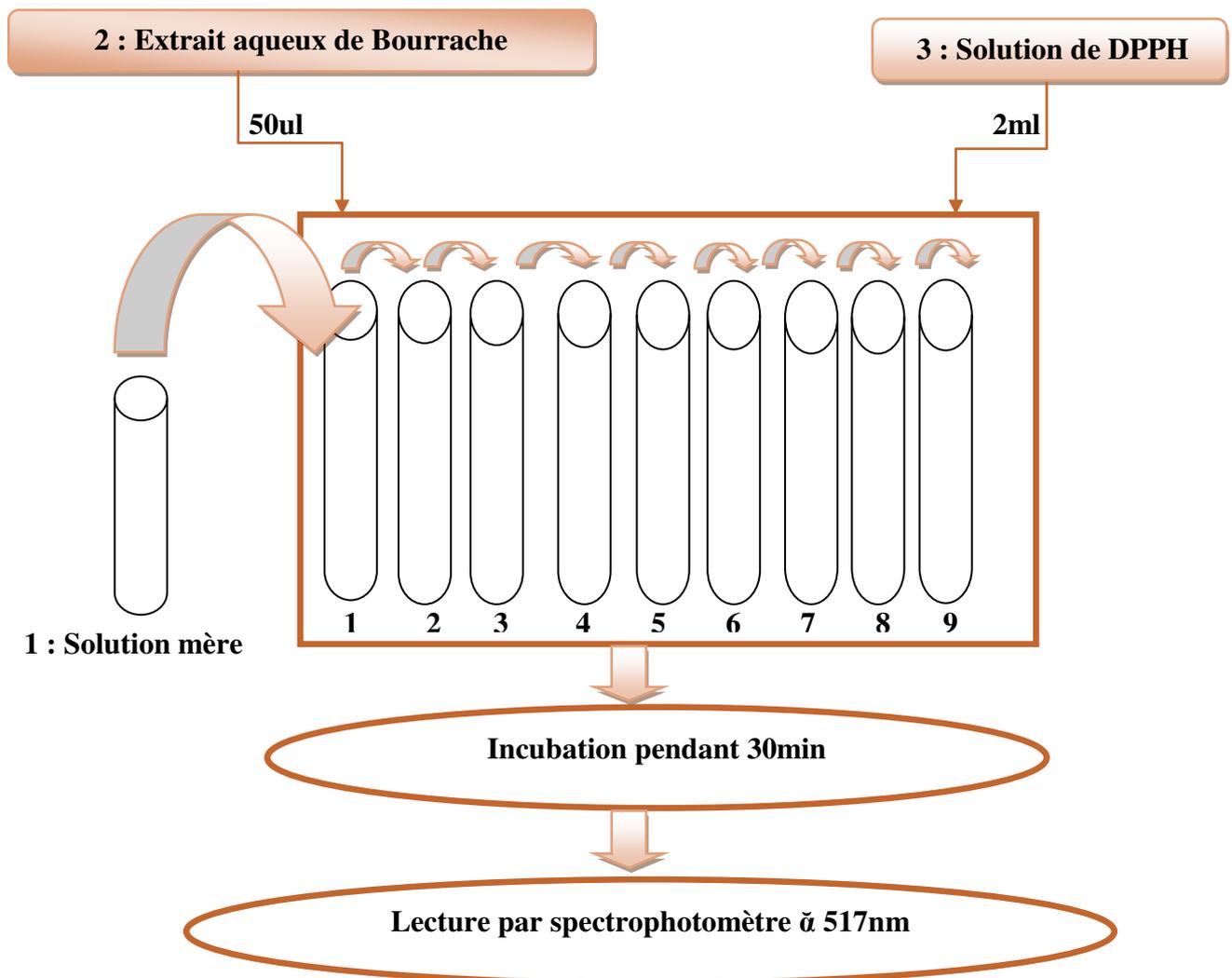
Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard d'acide ascorbique pour chaque concentration en extrait, le pourcentage d'absorption est calculé:

$$\% \text{ DO} = \frac{\text{DODPPH} - \text{DO échantillon}}{\text{DODPPH}} \times 100$$

### ➤ Détermination de l'IC50

L'IC50 représente la quantité de substance d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de la quantité de DPPH initialement présente. Elle est exprimée en mg/ml d'extrait végétal.

L'IC50 (%) est obtenue par l'équation de la droite moyenne du pourcentage de DPPH résiduel en fonction de la concentration en antioxydant. La plus forte activité anti-radicalaire correspond à la fraction qui possède la plus faible IC50.



**Figure 7:** Protocole expérimental de l'activité antioxydante.

### II.5. Etude de l'activité anti-inflammatoire

**But:** Mise en évidence d'une activité anti-inflammatoire.

**Principe:** Selon la méthode de **Levy (1969)**, une inflammation locale induite par injection sous-cutanée d'une solution de Carraghénine dans la région sous-plantaire de la patte postérieure des souris est réduite lorsque l'animal a reçu auparavant une substance anti-inflammatoire.

**Choix du modèle animal:** La méthode de Levy recommande les rats WISTAR ou les souris NMRI. Pour des raisons de commodité, c'est les souris qui ont été choisis.

#### ➤ Mode opératoire

- Afin de mettre en évidence de façon indubitable l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache, 5 lots de 02 souris chacun ont été constitués:

Lot 1: permettra de vérifier l'effet phlogogène (pro-inflammatoire) de la Carraghénine.

Chaque souris de 20g va recevoir 2ml de solution physiologique (Na Cl à 9‰) par gavage.

Lot 2: Chaque souris de 20g va recevoir 0,4mg /ml de Diclofinac de sodium.

Lot 3: Mettra en évidence l'effet anti-inflammatoire d'extrait aqueux, chaque souris de 20g prendra 2ml d'extrait aqueux de Bourrache (10 %) par gavage.

Lot 4: Chaque souris de 20g prendra 2ml d'extrait aqueux de 20 % par gavage.

Lot 5: Chaque souris de 20g va recevoir 2ml d'extrait 30 % par gavage.

- On mesure de nouveau son épaisseur (t1).

- Le gavage est réalisé à l'aide d'une seringue équipée d'une canule émoussée. (Figure 8, annexes 2).

- On procède à la mesure de l'épaisseur antéropostérieure de la patte arrière gauche de chaque souris au niveau de l'articulation entre le tarse et le métatarse de chaque souris des 05 lots à l'aide d'un pied à coulisse précis au 1/50 de mm (c'est l'épaisseur à t0).

- Une demi-heure environ après l'administration de chaque échantillon, temps suffisant pour une bonne absorption du produit ; on injecte, par voie sous-cutané de la patte au niveau de la région mesurée, un volume de 0.1ml de Carraghénine à 1% dans de l'eau physiologique (Figure 9, annexe 2).

- Cette injection va provoquer immédiatement une augmentation du volume de la patte de souris.
- On mesure de nouveau son épaisseur (t1)
- Toutes les 30 minutes, on mesure l'épaisseur des pattes de toutes les souris (Figure 10, annexes 2).

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination du pourcentage d'augmentation (% AUG) du volume des pattes des souris.

$$\text{AUG}\% = \frac{\text{Volume de la patte au temps T} - \text{volume initial (V}_0\text{)}}{\text{Volume initial (V}_0\text{)}} \times 100$$

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul de pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH).

$$\text{INH}\% = \frac{\text{AUG}\% \text{ témoin négative} - \text{AUG}\% \text{ traité}}{\text{AUG}\% \text{ témoin négative}} \times 100$$

## II.6. Etude de l'activité cicatrisante

**But:** tester sur les lapins l'effet cicatrisant de la plante par utilisation des feuilles de Bourrache sous forme de cataplasme.

### ➤ Mode opératoire

#### Préparation du cataplasme

1. La poudre de Bourrache est mélangée avec l'eau chaude ou froide, on obtient une pâte de texture consistante (Figure 11, annexe 2).
2. Décoction des feuilles de Bourrache, puis écrasement de ces dernières dans un mortier ensuite applique sur la peau de lapin (Figure 12, annexe 3).

#### Préparation du l'animal

- la veille du jour de l'application du produit, 6 lapins présentant une peau saine sont tondu au niveau des flancs sur une surface d'environ 14×14cm à l'aide d'une tendeuse manuelle (hauteur de la coupe : 0.05cm).

- le jour de l'essai, on effectue sur le flanc droit à l'aide d'une lame de scalpel stérile, deux scarifications espacées de 0.5cm et longues de 2cm, le flanc gauche reste tel quel, les scarifications doivent abraser la couche cornée sans provoquer des saignements.

- Deux lapins sont utilisés comme témoins et les autres lapins sont traités chacun par le Madecassol, cataplasme des feuilles de Bourrache (décoction, poudre humide) (Figure 13, annexe 3).
- On dépose la pommade " Madecassol " sur le flanc scarifié et le flanc normal (Figure 14, annexe 3).
- On dépose à l'aide d'une bande de gaz le cataplasme (poudre humide de Bourrache) sur le flanc scarifié et le flanc normal (Figure 15, annexe 4).
- On dépose à l'aide d'une bande de gaz le cataplasme (des feuilles décoctés de Bourrache) sur le flanc scarifié et le flanc normal (Figure 16, annexe 4).
- Les lapins sont remis dans des cages individuelles en attendant les lectures des résultats.

**Lecture:** vingt-quatre heures plus tard, les résultats sont lus, une seconde lecture est faite après 24 heures de l'application du cataplasme de Bourrache.

Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon l'échelle numérique représenté au niveau du tableau 2.

**Tableau 2:** Echelle numérique de la lecture des résultats du test d'irritation.

Erythème	Pas d'érythème	0
	Léger érythème (à peine visible)	1
	Erythème bien visible	2
	Erythème important	3
	Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes)	4
Œdème	Pas d'œdème	0
	Très léger œdème (à peine visible)	1
	Léger œdème (contours bien définis, gonflement apparent)	2
	Œdème moyen (épaisseur environ 1mm)	3
	Œdème grave (épaisseur supérieure à 1mm et surface supérieure à la zone d'application)	4

Pour calculer l'indice d'irritation primaire cutanée (IP), on additionne les chiffres relevés pour l'érythème et l'œdème à chaque temps de lecture (1 jour jusqu'aux 15 jours après application) sur les 6 zones scarifiées, d'une part, et non scarifiées d'autre part, puis on calcule la moyenne des résultats observés.

### Lecture des résultats :

Selon la Pharmacopée Européenne, les moyennes des notes obtenues constituent l'indice d'irritation primaire cutané IP, celui-ci permet de classer le produit en 4 types de réponses (tableau 3).

**Tableau 3 :** Classification du produit selon l'indice d'irritation primaire cutané IP.

Non irritant	$IP \leq 0.5$
Légèrement irritant	$0.5 < IP \leq 2$
Irritant	$2 < IP \leq 5$
Très irritant	$5 < IP \leq 8$

### II.9. Etude de l'activité antispasmodique :

**But :** mise en évidence d'une activité antispasmodique.

**Principe :** L'injection d'acide acétique 1% par voie intra-péritonéale provoque chez les souris une relation douloureuse. Cette douleur se manifeste par des spasmes sous forme des mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures. Une substance antispasmodique à la dose active réduit le nombre de ces spasmes (**Rahman et al., 2005**).

**Préparation de l'extrait aqueux :** Nous avons préparé trois extraits aqueux à des doses (0,2g /ml ; 0,1g/ml, 0,3g /ml).

#### ➤ Protocole expérimental :

La mise en évidence de l'effet anti spasmodique a été réalisée selon la méthode de **Rahman et al., (2005)** La solution anti spasmodique a été injectée par voie péritonéale, à raison de 0,5ml/souris suivi 30 minutes après par administration de 0,2 ml d'acide acétique par injection intra péritonéale.

Les témoins ont été choisis afin de montrer l'effet neutre de l'eau physiologique sur le réducteur ou la provocation des spasmes chez les souris albinos.

**Répartition des lots:**

Les animaux ont été répartis en cinq lots de 2 souris représentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 4:** Répartition des souris utilisées pour l'activité anti spasmodique

	Nbr du lot	Essais	Objectifs
Témoins	Nbr 1	Solution physiologique puis acide acétique	Vérification de l'action spasmodique de l'acide acétique
	Nbr 2	Solution Spasfon à 0,008 g/ml puis acide acétique	Vérification de l'action spasmodique de médicament
Essais	Nbr 3	Extrait aqueux 0,1 g/ml puis acide acétique	Mise en évidence de l'activité anti spasmodique et de la relation dose/effet
	Nbr 4	Extrait aqueux 0,2g/ml puis acide acétique	
	Nbr 5	Extrait aqueux 0,3g/ml puis acide acétique	

L'injection d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale provoque des spasmes sous forme de mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures des souris (Figure 17).



**Figure 17:** Injection d'acide acétique par voie intra-péritonéale et réaction des souris (Originales, 2017).

L'effet anti spasmodique de l'extrait aqueux de Bourrache est évalué par le calcul du pourcentage de protection selon la formule suivante (Alaoui et al., 1998).

$$\% \text{ Protection} = \frac{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin} - \text{moyenne des spasmes du lot essais}}{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin}} \times 100$$

**Lecture des résultats :**

Cinq minutes après l'injection de l'acide acétique le nombre de crampes est comptabilisé chaque 10 minutes durant 120min.

### III.1 Résultats de l'étude phytochimique

Les résultats du screening phytochimique de Bourrache retenues sont présentés dans le tableau 6.

**Tableau 5:** Réaction colorimétrique

Métabolisme secondaire	<i>Borago officinalis</i>
Anthocyanes	+
Tannins totaux	++
Flavonoïdes	++
Leuco anthocyanes	-
Alcaloïdes	++
Sénosides	-
Saponosides	++
Irridoïdes	-
Mucilages	++
Coumarines	-
Quinone	-

++ Richesse

+ Présence

- Absence

Le test phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé de *Borago officinalis* L. révèle la présence de plusieurs familles des composés. Ces résultats montrent que la plante est riche en tanins, flavonoïdes, saponosides, les mucilages avec une intensité importante. Il en est de même pour les anthocyanes, les alcaloïdes mais avec une intensité moins importante. Quant aux coumarines, quinones, irridioïdes, leuco- anthocyanes et sénosides les résultats obtenus montrent leur absence ou présence à l'état de traces vu que les réactions sont négatives.

Nos résultats du screening phytochimique sont en accord avec ceux rapportés par **Echavarria (2016)** en Colombie dont les études phytochimique réalisées sur la Bourrache ont révélant la présence d'un niveau important des tanins, flavonoïdes, saponosides et des mucilages ainsi qu'une quantité moindre des anthocyanes et des alcaloïdes avec absence de coumarines, quinones, irridioïdes, leuco- anthocyanes et sénosides.

Selon **Bourgaud (2012)** il existe des différences composition phytochimique ne sont que le reflet de l'influence des plusieurs facteurs externes sur la synthèse des métabolites secondaires.

### III.2. Evaluation des activités biologiques

#### III.2.1 Test de la toxicité aiguë

Sept doses de l'extrait brut aqueux ont été testées sur des lots de 2 souris chacun.

Les doses à une seule administration par voie orale sont : 500 ; 1000 ; 2000 ; 3000 ; 4000 ; 5000 ; 10000 mg/kg. Les taux de mortalité sont résumés dans le Tableau 6.

Nous avons procédé à un suivi durant 14 jours d'observation après administration par voie orale (gavage) des différentes doses aux différents lots de souris.

**Tableau 6:** Dose-effet de l'extrait aqueux *Borago officinalis* L. chez les souris traitées par voie orale (toxicité aiguë).

Lots	Doses (mg/kg)	Nb d'animaux	Nb de souris mortes après 14 jours	Taux de mortalité(%)	Autres signes de toxicité ou morbidité
Témoin	/	3	0	0%	-
Lot 1	500	3	0	0%	-
Lot 2	1000	3	0	0%	-
Lot 3	2000	3	0	0%	-
Lot 4	3000	3	0	0%	-
Lot 5	4000	3	0	0%	Affaiblissement
Lot 6	5000	3	0	0%	
Lot 7	10000	3	0	0%	

Après 14 jours de l'administration des différentes doses de l'extrait aqueux de Bourrache, aucune mortalité immédiate n'a été observée pour toutes les souris des 7 lots testées.

Sauf que pour les 3 dernière doses (4000, 5000, 10000 mg/kg), nous avons observé un affaiblissement des souris durant 14 jours après l'administration de la dose.

Donc nous avons révélé que l'extrait de Bourrache n'est pas toxique sur les souris N.M.R.I. pour toutes les doses testées (DL 50 > 10000 mg/kg).

Les alcaloïdes pyrrolizidines sont des produits végétaux principalement présents dans la famille des Borraginacées sont parfois toxique lorsqu'ils sont mangés.

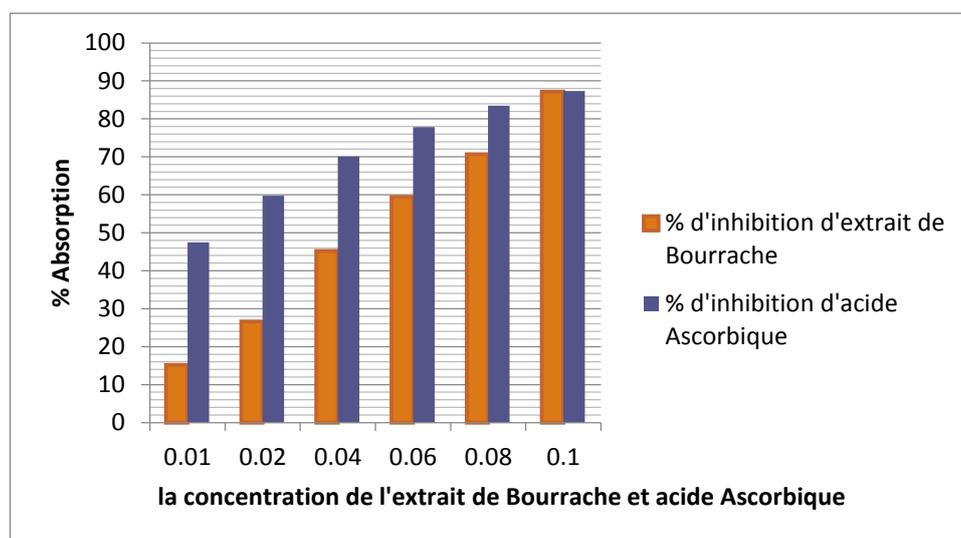
En effet la quantité totale des alcaloïdes pyrrolizidines (AP) de la plante a été déterminée comme étant inférieure à 0,001 % (Roeder, 1995). Se qui explique l'absence réelle de mortalité chez les souris âpre le test de toxicité aigue et pour cela la Bourrache à l'avantage d'être d'une grande innocuité à cause de sa faible teneur en AP (Branes et al., 2007).

### III.2.2 Evaluation de l'activité antioxydante :

Le radical libre DPPH permet l'estimation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la plante *Borago officinalis* L. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est réduit. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité anti-radicalaire de cet extrait.

#### ➤ Pourcentage d'inhibition

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH représentés dans la figure 18 :



**Figure 18** : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de la poudre de Bourrache et l'acide Ascorbique

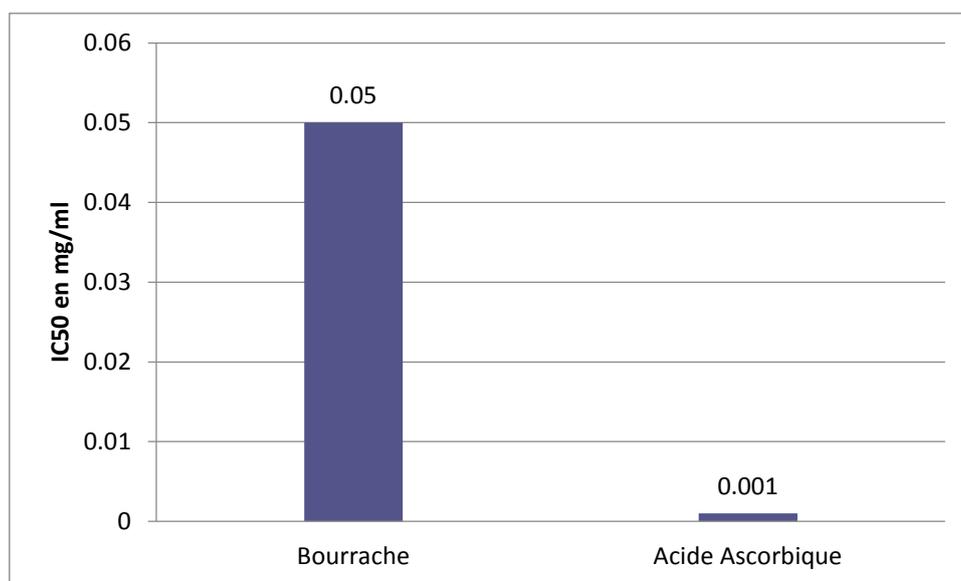
Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de radical DPPH (activité antioxydante) augmente avec l'augmentation de la concentration, aussi bien pour l'acide Ascorbique que pour l'extrait aqueux (feuilles de Bourrache). Néanmoins le pourcentage d'inhibition pour l'extrait reste faible comparativement à celui de l'acide Ascorbique quelque soit la concentration.

#### ➤ Détermination de l'IC50

Les pourcentages d'inhibitions des extraits préparés des feuilles de *Borago officinalis* L. comparés à celui de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure 19 et le tableau 9 (annexes 7).

La concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC 50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC 50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Les résultats d'IC 50 de l'extrait aqueux de Bourrache (feuilles) et l'acide Ascorbique sont représentés par la figure 19.



**Figure 19:** IC 50 de l'extrait aqueux de la poudre de Bourrache et l'acide Ascorbique

D'après les résultats présentés dans les deux figures (18, 19) l'extrait aqueux de la Bourrache présente une IC50 de 0.05mg/ml. Il apparaît que l'extrait aqueux de *Borago officinalis* L. possède une activité antioxydante mais qui reste faible comparativement à celle de l'antioxydant de référence en l'occurrence l'acide ascorbique avec une IC50 de 0.001mg/ml.

En outre, les résultats de l'activité antioxydant ont montré une activité plus forte par rapport à celle rapportée par **Zemmouri (2015)** avec une IC50=150ug/ml. Ces différences pourraient être dues aux conditions environnementales et à la répartition géographique, qui peuvent modifier les constituants de la plante (**Hossain et Shah, 2011**).

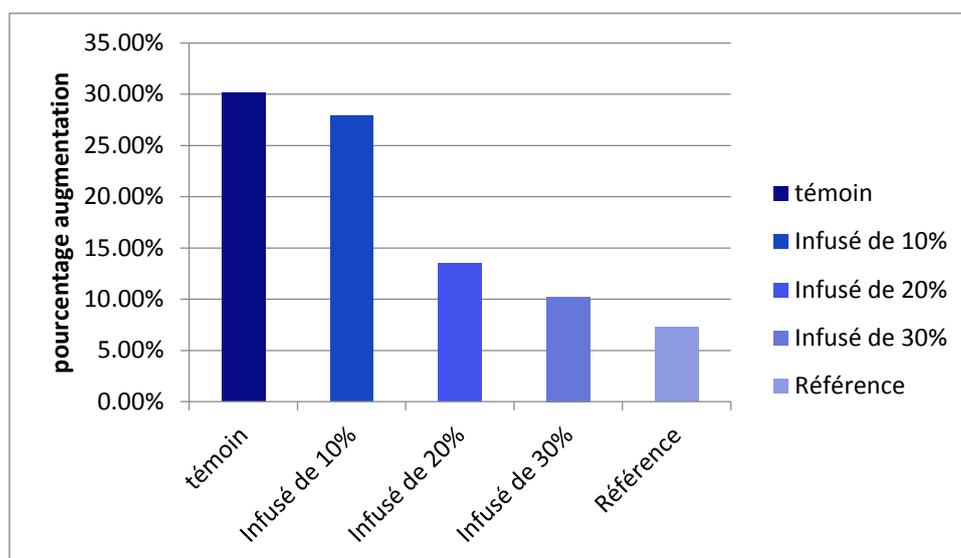
**Conforti et al. (2008)** ont obtenu par la même méthode (DPPH) une plus forte activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de la Bourrache récoltée en Italie, avec une IC50 de 58µg /ml.

Dans une autre étude sur l'activité antioxydante de l'extrait ethanolique de *Borago officinalis* récoltée à l'est algérien a révélé un fort effet inhibiteur également, soit une IC50 de 92,8 µg/ ml (**Zemmouri, 2015**).

Par ailleurs, **Abuquauod et al. (2016)** ont démontré que l'extrait méthanolique des feuilles de Bourrache spontanées et cultivée, récolté en Palestine avait un fort pouvoir anti oxydante.

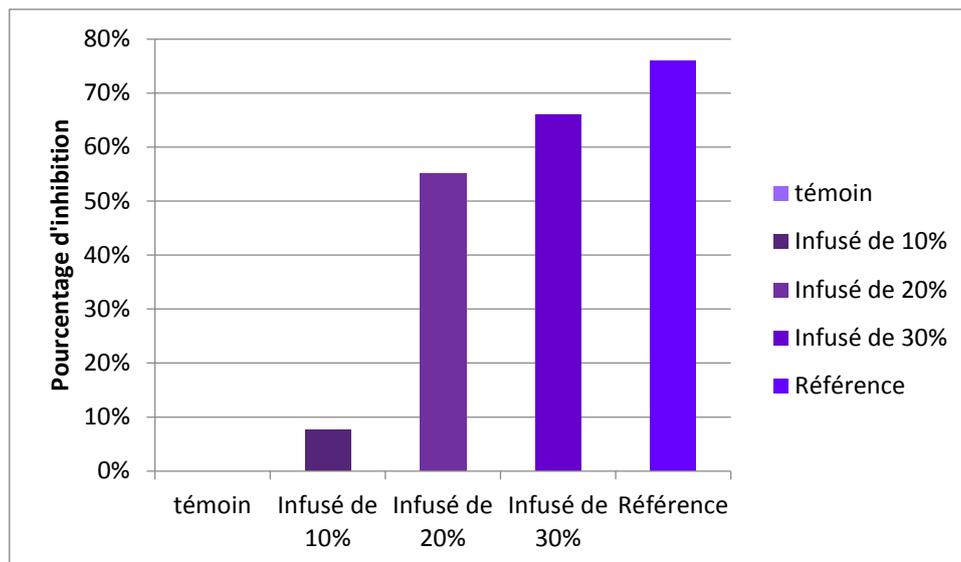
### III.2.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Le pourcentage d'augmentation (% AUG) du l'œdème et d'inhibition de l'œdème des pattes des souris sont présentées dans la figure suivante.



**Figure 20:** Présentation graphique des pourcentages d'augmentation de l'œdème en fonction des traitements après 30min

- ✚ Après 30 min de l'injection de la Carraghénine dans la patte postérieure gauche nous avons observé une réaction immédiate et persistante. Elle consiste en l'apparition d'un œdème d'intensité variable suivant les 5 lots. Le témoin est traité avec de l'eau physiologique, c'est le lot qui a présenté le pourcentage le plus élevé (30.17%) en comparaison avec les 4 autres lots.
- ✚ la mesure du pourcentage d'œdème montre une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) entre le témoin et la référence, de même pour le témoin et les deux infusés (20%, 30%) ou le pourcentage augmente d'œdème significativement ( $p < 0,05$ ), par contre, il reste non significative entre le témoin et l'infusé de 10% ( $p \geq 0,05$ ).



**Figure 21** : Présentation graphique des pourcentages d'inhibition de l'œdème

- ✚ Après 30 min de l'administration des quatre traitements (eau physiologie, infusé 03, infusé 04 et le produit de référence), nous avons injecté la Carraghénine.
- ✚ Après l'administration de la Carraghénine au niveau des pattes postérieures des souris, nous avons observé la formation des œdèmes au niveau des pattes chez toutes les souris des 5 lots, puis on observe une baisse très importante des œdèmes chez le lot de référence traité par le Diclofinac (76 %).

D'après les résultats illustrés par la figure 21, nous constatons:

Pour les animaux du lot d'essai 01 traités avec l'infusé de 0,01g/ml dont la dose de l'extrait aqueux administrée est de 10 %, une baisse des œdèmes est observée (7,62%).

Pour les animaux du lot essai 02 traités avec l'infusé de 0,02g/ml dont la dose de l'extrait aqueux administrée est de 20%, une baisse importante des œdèmes est observée (55,12 %).

Pour les animaux du lot essai 03 traités avec l'infusé de 0,03g/ml dont la dose de l'extrait aqueux administrée est de 30%, en observe une baisse très importante des œdèmes (66,09%).

- ✚ Notre étude a montré que la différence entre le pourcentage d'augmentation d'œdème des pattes des souris entre le témoin et la référence est hautement significative ( $p < 0,001$ ), et même entre le témoin et les deux infusés (20%, 30%) le pourcentage d'œdème présente une augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ). Ainsi, il existe une différence significative entre le témoin et lot traité avec l'extrait aqueux à 10% ( $p < 0,05$ ).

Nous amène à dire que l'extrait aqueux des feuilles de *Borago officinalis* L. a un effet anti inflammatoire topique.

Cette activité pourrait être due à la présence d'antioxydants, selon des études antérieures (Geronikaki et Gavalas, 2006).

Les travaux de Trancart (2015), sur l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*Arebia euchroma* L. montre que la famille des Borraginacées possède un pouvoir anti-inflammatoire.

En effet, les résultats obtenus montrent une efficacité similaire de l'extrait aqueux de *Borago officinalis* L. sur l'inflammation aigue.

Cependant, de nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols et leurs métabolites agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation (Santangelo et al., 2007 ; Guo et al., 2009). De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Milane, 2004).

### 3.4 Evaluation de l'activité cicatrisante

L'activité cicatrisante a été testée sur 06 lapins de souche néo-zélandaise à un poids qui varie de 2,5 à 3,5 kg. Les six lapins ont été traités dans des conditions opératoires durant 15 jours.

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures (22, 23, 24, 25).

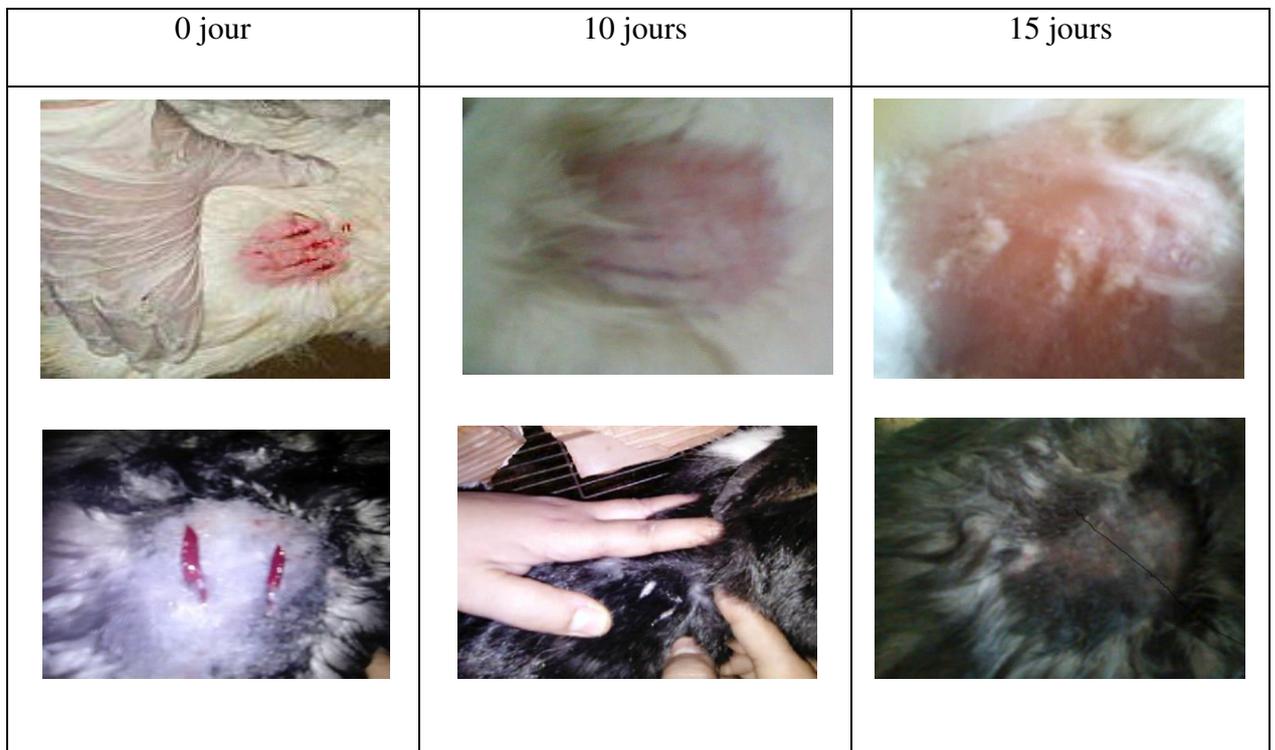
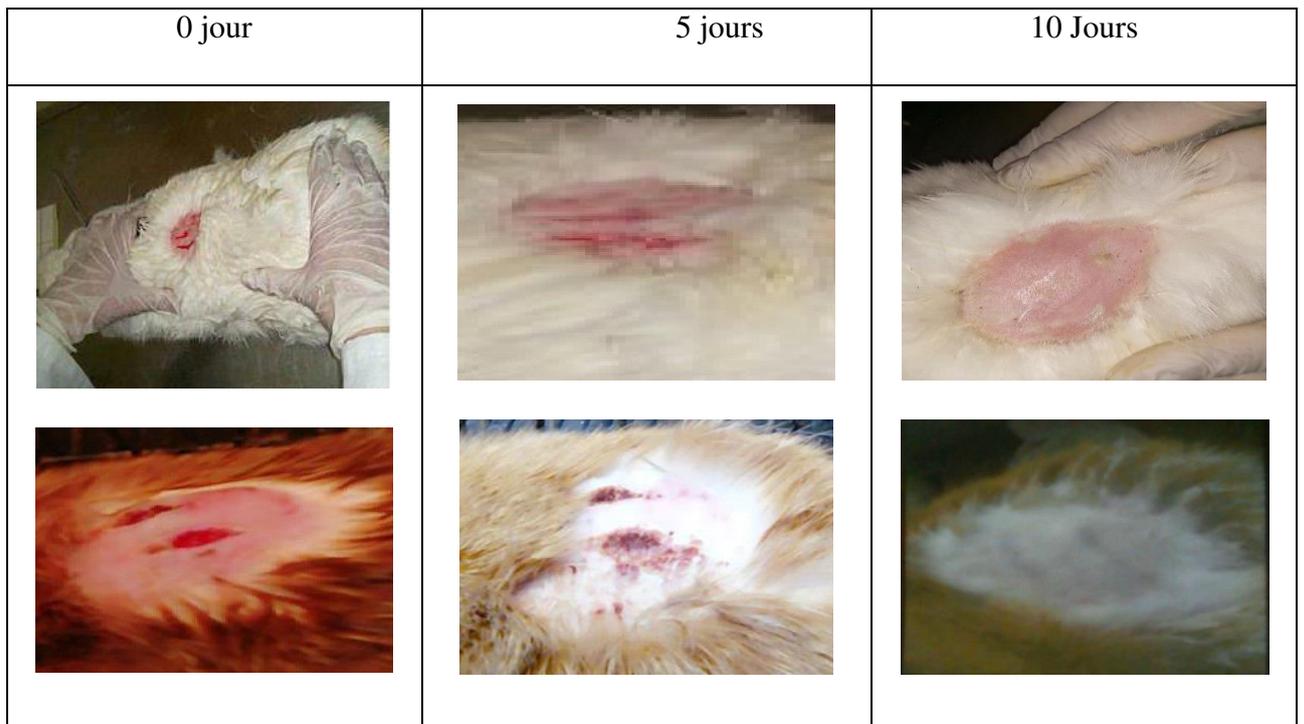
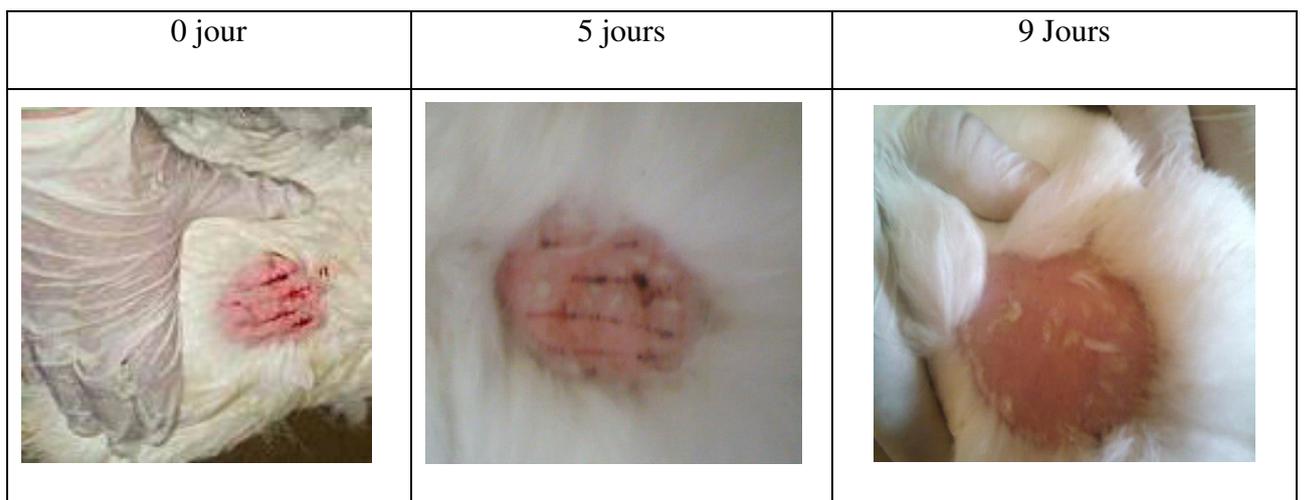


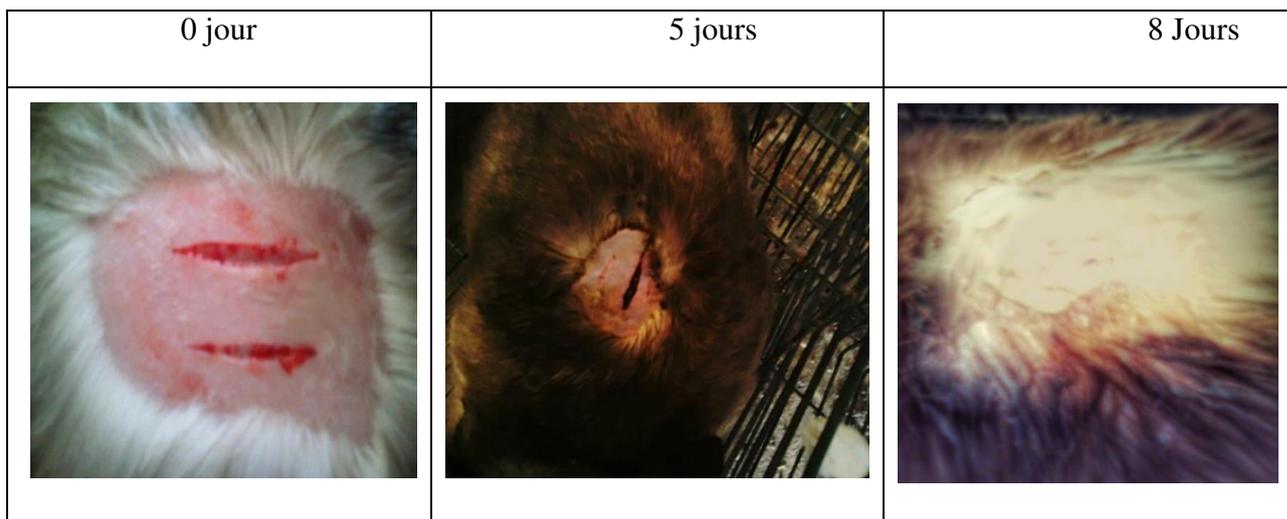
Figure 22 : Témoin négatif.



**Figure 23 :** Traitement des plaies par la pommade Madécassol (témoin positif).



**Figure 24 :** Traitement des plaies par le cataplasme à base de la poudre (humide) de Bourrache.



**Figure 25 :** Traitement des plaies par le cataplasme à base des feuilles décoctés de Bourrache.

L'examen des résultats préliminaires révèle que le produit de référence et le cataplasme à base de feuilles de Bourrache séchées et fraîches agissent d'une manière positive sur la cicatrice.

Cependant, ce test nous a permis de remarquer que le cataplasme à base de feuilles fraîche de Bourrache a montre une cicatrisation rapide (8 jours) par rapport au cataplasme des feuilles séchées (9 jours) et Madécassol (10 jours) (figures 23, 24, 25).

Ces résultats révèlent que le cataplasme à base de feuilles fraîches et séchées (poudre humide) de *Borago officinalis* L. améliore nettement la cicatrisation et agit de manière positive sur la cicatrice.

L'examen des résultats préliminaires révèle que le produit de référence et le cataplasme à base de feuilles de Bourrache séchées et fraîches agissent d'une manière positive sur la cicatrice.

Cependant ce test nous a permis de remarquer que le cataplasme à base de feuilles fraîche de Bourrache a montre une cicatrisation rapide (8 jours) par rapport au cataplasme des feuilles séchées (9 jours) et le Madécassol (10 jours) (figures 24, 25).

Ces résultats révèlent que le cataplasme à base de feuilles fraîches et séchées (poudre humide) de *Borago officinalis* L. améliore nettement la cicatrisation et agit de manière positive sur la cicatrice.

Selon **Brunet (2008)** les tanins ont également un pouvoir cicatrisant car ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle, aussi *Borago officinalis* L. est une source d'acide  $\gamma$ -linoléinique. Ceci concorde avec ces travaux qui montrent que la plante *Borago officinalis* L. est connue pour ses propriétés cicatrisantes.

**Test d'irritation :** Les lectures effectuées durant 4 jours après application cutanée du cataplasme de Bourrache, sont consignés dans les tableaux 7 et 8.

➤ **Tableau 7:** Première lecture après 2jours d'application du cataplasme de la poudre de Bourrache.

	Lapin n°1(témoin)				Lapin n°2(médicaments)				Lapin n°3(cataplasme)			
	Erythème		Œdème		Erythème		Œdème		Erythème		Œdème	
Flanc	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G
1 jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 <sup>ème</sup> jour	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3 <sup>ème</sup> jours	1	0	1	0	2	0	2	0	0	0	1	0
4 <sup>ème</sup> jours	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

$$PI = (12/6+7/6+2/6)/2= 1,75$$

1 - L'indice d'irritation primaire cutanée donne la valeur PI= 1,75 ( $0,5 < IP \leq 2$ ), ce qui correspond à un produit légèrement irritant selon la classification représentée dans le tableau 7.

➤ **Tableau 8 :** Première lecture après 2jours d'application du cataplasme des feuilles fraîches de la Bourrache.

	Lapin n°1(témoin)				Lapin n°2(médicaments)				Lapin n°3(cataplasme)			
	Erythème		Œdème		Erythème		Œdème		Erythème		Œdème	
Flanc	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G
1 jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 <sup>ème</sup> jour	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
3 <sup>ème</sup> jours	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
4 <sup>ème</sup> jours	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0

$$PI = (11/6+4/6+3/6)/2= 1,5$$

2-L'indice d'irritation primaire cutanée donne la valeur PI=1,5 ( $2 < IP \leq 2$ ), ce qui correspond à un produit légèrement irritant selon la classification représentée dans le tableau 8.

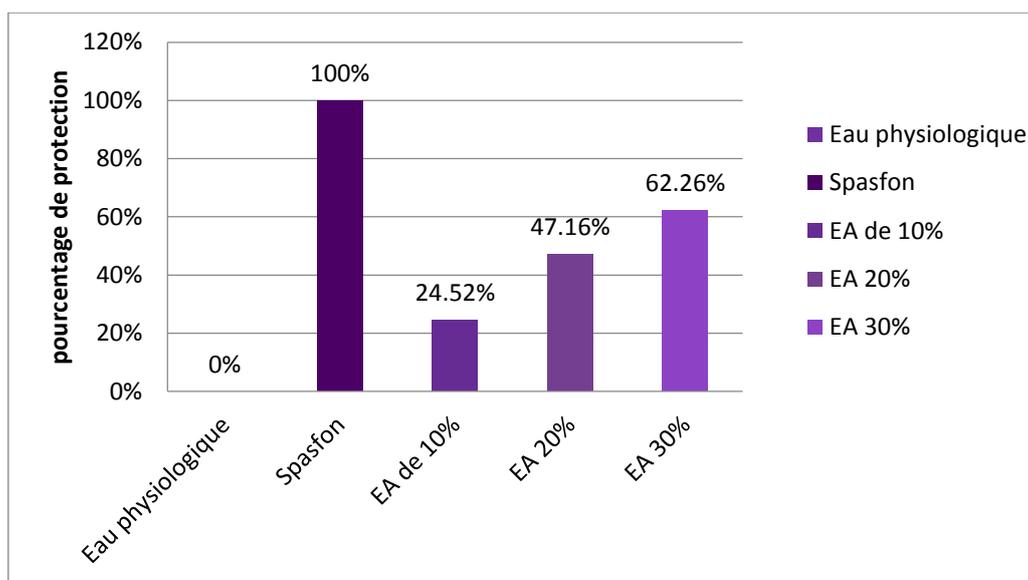
Nous avons observé qu'un œdème très léger apparaît dès le 2ème jour dans les plaies non traitées, les plaies traitées par le Madécassol et les plaies traitées par le cataplasme à base de feuilles de Bourrache.

Cet œdème s'estompe pour disparaître aux 3èmes jours dans les plaies traitées par le cataplasme et le Madécassol.

La cicatrice des plaies persiste jusqu'aux 8ème jours de l'application du cataplasme à base de feuilles de Bourrache, par contre la cicatrice du lapin témoin négatif durent 15 jours.

D'après nos résultats, l'extrait de Bourrache est légèrement irritant, même si la plante ne présente qu'un faible pourcentage d'alkaloïdes toxiques, ceci qui implique utiliser l'extrait diluée dans des solvants appropriés et contrôler les conditions de la toxicité dans ce cas, l'effet irritant sera moindre.

### 3.5 Evaluation de l'activité antispasmodique :



**Figure 26 :** Présentation graphique des pourcentages de protection.

Après injection de l'acide acétique chez les souris nous avons remarqué des réactions douloureuses qui se manifestent par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures.

La comparaison des résultats obtenus chez les lots traité par les extraits aqueux, avec les lots témoins positif (Spasfon) et négatif (eau physiologie) montre une différence significatif ( $p < 0,05$ ) chez les souris traitées par l'extrait de 10% avec un pourcentage de protection (24,52%) et l'extrait de 20% avec un pourcentage de protection (47,16%). Toute fois l'extrait

aqueux de 30% a été plus actif avec ( $p < 0,01$ ) cela relève une diminution très significative du nombre de spasme avec pourcentage de protection (62, 26%).

Ce test nous a permis de constater que l'extrait aqueux de Bourrache présente un effet anti spasmodique.

Par ailleurs, **Gilani et al. (2007)** ont révélé que cette plante médicinale possède un éventuel effet pharmacologique représenté par une activité spasmodolytique importante, qui peut s'exercer au niveau des appareils cardiovasculaire, respiratoire et gastro-intestinale via un mécanisme antagoniste avec les ions de calcium.

Cette multitude d'effets s'explique essentiellement par la richesse de cette plante en divers composés, en particulier en acide gras (**Gupta et Singh, 2010**). L'extrait brut des feuilles de *Borago officinalis* L. est riche en flavonoïdes qui peuvent être des antispasmodiques (**Bruneton, 1999**).

L'effet bénéfique de Bourrache sur la santé dépend de la composition des composés phénoliques ayant des effets synergiques (**Mhamdi W. et al. ; Mhamdi B. et al., 2010**) et les propriétés suggèrent que la composition de la feuille de composé bioactif complexe de cette espèce est plus avantageuse que dangereuse pour la santé humaine en raison de sa teneur en phénol (**Basar et al., 2013**).

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. Leur utilisation en phytothérapie connaît de nos jours un intérêt sans précédent. Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

L'étude des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antispasmodiques d'extrait aqueux des feuilles de *Borago officinalis* L. espèce appartient à la famille des Boraginacées, localisée surtout dans la région Blida d'une façon spontanée, a permis d'obtenir des résultats intéressants.

Dans un premier temps, l'analyse de l'extrait aqueux de feuilles de la Bourrache a mis en évidence la présence des flavonoïdes et des tanins, mucilages, anthocyanes, alcaloïdes, saponosides dans la plante.

Du point de vue toxicologique, le test réalisé a montré que la plante n'est pas toxique à la dose 1000mg/kg.

Ce qui concerne le test de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, de l'extrait aqueux de Bourrache les résultats obtenus ont révélé l'existence d'effet antioxydant, anti-inflammatoire due à la richesse de la plante en flavonoïdes et les tanins.

Le test de l'effet irritant durant 4 jours, appliqué sur les lapins de peau saine révèle que les cataplasmes à base de poudre ou feuilles fraîches de Bourrache ont un effet légèrement irritant.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antispasmodique, indique que l'extrait aqueux de *Borago officinalis* L. présente le meilleur pourcentage de protection (62,26%).

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important des métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ❖ Compléter l'analyse phytochimique par CGMS afin de mettre en évidence la présence d'autres métabolites secondaires.
- ❖ Mettre en évidence d'autres activités biologiques comme :
  - Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de Frap.
  - Evaluation de l'activité antimicrobienne.

- Abuquauod H., Shawarb N., Hussein F., Alkouni Jarradat N., 2016:** Comparison of Qualitative, Quantitative Analysis and Antioxidant Potential between Wild Cultivated *Borago officinalis* L. leaves from Palestine. Edition Pakistan Journal of Pharmaceutical sciences. N° 4699. 1-21pp.
- Aouadhi Samia, 2010:** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. A%o tude de 57 plantes recommandées par les herboristes
- Alauoi J.F., Lagorce Y., Cherrah M., Amarouche H., Roquehert M., 1998 :** In Annales pharmaceutiques Françaises. 220-228pp.
- Alias J., Barikbin B., Khoshzaban F., Naseri M., Sedaghat R., Kamalinejad M., Taei D., Emadi F., Akbari Z., Aliasl F., Jalaly N.Y., Mohseni-Moghaddam P., 2015:** Effect of *Arnebia euchroma* L. ointment on post-laser wound healing in rats. Edition Journal of Cosmetic and Laser Therapy. 1-5pp.
- Anonyme 1, 2010. Veronelle:** [Www.paracelsicart.com/article-32778414.html](http://www.paracelsicart.com/article-32778414.html).
- Baba Aissa F., 2010:** Encyclopédie des plantes utiles. Edition El Maarifa Alger. 76P.
- Barnes J., Anderson L.A., David Phillipson J., 2007:** Herbal Medicinal. Third Edition Pharmaceutical Press. 710P.
- Basar S.N., Rani S., Farah S.A., Zaman R., 2013:** Review on *Borago officinalis* L. a wonder herb. Edition Int J Biol Pharm. 582-587pp.
- Beiser R., Stieglits D., Bertrand P., 2012:** Plantes sauvages médicinales les reconnaître les utiliser. Edition Ulmer France. 100P.
- Botineau M., 2010:** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Lavoisier. 916P.
- Boukhobza F., Goetz P., 2014:** Phytothérapie en odontologie, Edition CdP. 21P.
- Bourgaud F., 2010:** Plantes à parfum, aromatiques et médicinales. Edition Phytomedicine 17. 548- 550pp.
- Bouaziz M., Grayer R. J., Simmonds M. S. J., Damak M., Sayadi S., 2005:** Identification and Antioxidant Potential of Flavonoids and Low Molecular Weight Phenols in Olive Cultivar Chemlali Growing in Tunisia. J. Agric. Food Chem. 53(2). 236-241pp.
- Bruneton, J., 1999:** Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3ème Edition Tec Doc Paris, 575P.
- Barnes J., Anderson L.A., David Phillipson J., 2007:** Herbal Medicines. Third édition.

Pharmaceutical Press. 530-710pp.

**Catier O., Roux D., 2007:** Cahier du préparateur en pharmacie 3<sup>ème</sup> édition. Edition Wolters Kluwer.141P.

**Charpentier B. Florence H.L., Harlay A., Huard A., Ridoux L., Chansellé S., 2008:** Guide du préparateur en pharmacie. Edition Masson. 174P.

**Chazel M., Chazel L., 2012:** Découverte naturaliste des garrigues. Edition Quae. 99P.

**Conforti F., Sousa S., Marrelli M., Menichini F., Giancarlo A.S. , Uzunov D., Tubaro A., Menichini F., Della Loggia R., 2008 :** In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. Edition Journal of Ethnopharmacology 116. 144-151pp.

**Congo M., 2012:** Etude des propriétés anti radicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso. 42P.

**Couplan F., 2012:** Les plantes et leurs noms. Edition Quae Paris. 32P.

**Cornaz C., 2006:** Guide de la phyto-aromatirapie. Edition Avenir et Média ltd, Corpataux Magnédens. 16P.

**Collin S. et Crouzet J., 2011:** Polyphénols et procédés. Editions Lavoisier. 69P.

**Delille L., 2007 :** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition Berté éditions, Alger. 59-60, 209-210pp.

**Djerroumi A. et Nacef M., 2004:** 100 Plantes médicinales d'Algérie. Edition Palais du livre. 45P.

**Dufresne C., Ouellet Ch., 2010:** La Bourrache, Guide de production sous régie biologique. Edition Filière des plantes médicinales biologique Québec (FPMQ), 11P.

Ernest S., Paul M.C., 2000: Les cultures médicinales canadiennes. Edition C.N.R.C. 263P.

**Gazengel J.M., Orecchioni A.M., 2013:** Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique. 2<sup>ème</sup> édition Lavoisier Paris. 1-1761pp.

**Geronikaki A.A., Gavalas A.M., 2006:** Antioxidants and anti-inflammatory diseases synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. Edition Combinatorial Chemistry High Throughput Screening. 425-442pp.

**Gilani A.H., Bashir S., Khan A., 2007:** Pharmacological basis for the use of *Borago*

*Officinalis* L. in gastrointestinal. Respiratory and cardiovascular disorders. Edition Journal of Ethnopharmacologie. 393-399pp.

**Gladstar R., 2012 :** Cultiver et utiliser les plantes médicinales. Edition Marabout. 224P.

**Goffinet P.H., Greffier P., 2013:** Les légumes oubliés. Edition .13P.

**Gupta M., Singh S., 2010:** *Borago officinalis* L. An important medicinal plant of Mediterranean region. Edition Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. Vol.5. 27-34pp.

**Guo,W., Kong E. Meydani,M., 2009:** Dietary Polyphénols, inflammation, and cancer. Edition Nutrition and Cancer 61. 807-10pp.

**Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traore D., Laurent A.K., 2009:** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agroville, Côte-d'Ivoire). Edition Sciences et Nature Vol. 6 N°1. 1-15pp.

**Gucrin R., Thieulle J., 2005 :** Le dictionnaire des acides soignants et des auxiliaires puériculture ». Edition 3eme, Belgique, 18, 187pp.

**Harborne J. B., 1998:** Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. Londres, Royaume-Uni, Chapman et Hall, 3e éd., 302 p.

**Hossain, M. A. Shah, M. D., 2011:** A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia Borneensis* L. Edition Arabian Journal of Chemistry. Vol.8 . 66-71pp.

**Iserin P., 2001:** Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soin. Edition Larousse/ VUEF. 336pp.

**Janicke Ch. et Gruenwald J., 2007:** Guide de la phytothérapie. Edition Marabout. 59p.

**Levy L., 1969:** Carrageenan paws oedema in the mousse, Edition Life Sciences, 8. 601-606pp.

**Ljubuncic P., Hui Song A., Uri Cogan B., Hassan Azaizeh C. et Arieih B., 2005:** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* L. in experimental liver disease. Journal of Ethnopharmacology 100:198–204.

**Podesto M., Legault M.A., Batigne S., Burgard M., 2010:** Encyclopédie familiale de la santé: comprendre, prévenir, soigner. Edition Québec Amérique. 602P.

**Milane H., 2004:** La quercitrine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur. 13-36pp.

**Miller L.C., Tainter M.L., 1944:** Estimation of ED50 and its error by means of logarithmic. Probit paper Proc Soc Exp Biol Med 57. 4 -261pp.

**Mhamdi B., Wannas W.A., Sriti J., Jellali I., Ksouri R., Marzouk B., 2010:** Effect of harvesting time on phenolic compounds and anti radical scavenging activity of *Borago officinalis* L. seed extracts. Edition Journal of Food Biochemistry. 331-341pp.

**McIntyre A., 2010:** Le guide complet de la phytothérapie. Edition Le Courrier du livre. 115P.

**Mostade J.P., 2015 :** Les tisanes a...comme. Edition tylgo. 62P.

**Vignes P., Vignes D., 2007:** L'herbier des plantes sauvages. Edition Larousse Paris. 88P.

**Polese J.M., 2006:** La culture des plantes aromatiques. Editions Artémis. 35P.

**Ouattara L.H., Kabran G.R.M., Kadja A.B., Tano M. B., Mamyrbekova-Bekro J. A., Bekro Y.A., 2016:** Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes de cote d'ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. Edition International Journal of Innovation and Applied Studies. 881pp.

**Raaman N., 2006:** Phytochemical techniques. Edition New Delhi. New India. Publishing Agency. 306P.

**Rahman A.U., Choudhary M.I., Thamson W.J., 2005:** Bioassay Techniques for Drug Development. Edition Taylor and Francis. Amsterdam. 203P.

**Renaud J., 2012:** Le Clocher de l'abbaye, Edition publibook Paris, 440P.

**Roux D., 2005:** Les nouvelles plantes qui soignent. Edition Alpen. 34P.

**Riotte B., 2015:** Mon guide cosmétique naturelle. Edition French. 11P.

**Roeder E., 1995:** Medical plants in Europe containing pyrrolizidines alkaloids. Edition Pharmazie. 50, 83–98pp.

**Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B., Di Benedetto R., Filesi C. Masella R., 2007:** Polyphénols, intracellular signaling and inflammation. Edition Ann Ist Super Sanita. 394-405pp.

**Schmelzer G.H., Gurib A., 2008:** Plantes médicinales Ressources végétales de l'Afrique tropicale (11). Edition fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas. 358P.

**Silvant C., 2015:** L'aromathérapie, la nature au service de l'humanité. Edition Publibook. 19P.

**Sophie L., 2011:** Les plantes qui guérissent. Edition Talantikit Paris. 95P.

**Sousa C., Moita E., Valentão P., Fernandes F., Monteiro P., Andrade P.B., 2015:** Effects of colored and non-colored phenolics of *Echium plantagineum* L. Edition J Agric Food Chem. 1-9pp.

**Teuschere E., Anton R., Lobstein A., 2005:** Plantes aromatiques. Edition Lavoisier. 147P.

**Trancart C., 2015:** *Arnebia euchroma* L. (Royle) I.M. Johnston, une plante à naphthoquinones de la médecine traditionnelle à la recherche. Thèse doctorat en pharmacie Université Rouen UFR DE médecine et de pharmacie. 40, 41pp.

**Verbois S., 2015:** La phytothérapie: Une synthèse de référence illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes. Edition Eyrolles. 115, 179pp.

**Volak J. et Stodola J., 2007:** Plantes médicinales, Edition Grand Paris. 95P.

**Yves R., 2014:** Mes conseils de la semaine ou comment bien prendre soin de soi. Edition société des écrivains Paris, 29P.

**Zemmouri H., 2015:** Etude des activités biologiques et effets comparatifs de *Borago Officinalis* L. et *Urtica dioica* L. sur l'inflammation bronchique dans modèle d'asthme expérimental chez les rats de la souche Wister. Thèse doctorat en Biochimie Applique Université Bordj Badji Mokhtar Annaba. 1-170pp.

# Annexes 1

---

## Appareillage

- Balance de précision
- Agitateur
- Balance analytique de précision « MU. LA. 017 »
- Balance pour animaux « MU. LP. 012 ».
- Étuve
- Spectrophotomètre

## Verreries et autres

- Ballons
- Béchers
- Tubes à essai
- Pied à coulisse
- Barreau magnétique
- Burette
- Cages individuelles
- Entonnoir
- Éprouvettes
- Erlenmeyer de 250 ml, de 500 ml,
- Étiquette
- Fioles
- Gants
- Papiers filtres
- Papiers aluminium
- Papiers transparents
- Pipettes graduées
- Portoir,
- Seringue
- Sonde de gavage spéciale aux souris de laboratoire,
- Spatule métallique

## Réactifs

- Solution physiologique, Eau distillée
- Alcool éthylique
- Hydroxyde de potassium
- Acide chlorhydrique

## Annexes 2

- Ethanol
- Méthanol
- Acide ascorbique
- DPPH
- Éther diéthylique



**Figure 8** : Gavage des souris



**Figure 9** : Injection de la Carraghénine  
par voie sous-cutanée



**Figure 10** : Mesure des pattes des souris  
à l'aide d'un pied à coulisse



**Figure 11** : Préparation d'un cataplasme à base de la poudre humide de Bourrache



**Figure 12** : Différentes étapes de préparation d'un cataplasme à base de feuilles décoctés de Bourrache.



Epilation



Incision de la peau

**Figure 13** : Différentes étapes de l'activité cicatrisante du lapin témoin.



Epilation



incision de la peau



application de pommade

**Figure 14** : Différentes étapes de l'activité cicatrisante du lapin référence.



Epilation

incision de la peau

application de cataplasme

**Figure 15** : Cataplasme à base de poudre (humide) de Bourrache.



Epilation

incision de la peau

application de cataplasme

**Figure 16** : Cataplasme à base de feuilles décoctés de Bourrache.

❖ **Calcul des doses diluées :**

Calcule des doses correspondant au poids moyen des souris (20g±).

**1<sup>er</sup> doses (500mg/kg)**

500 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_1 = 10\text{mg}$

$X_1$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

10mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_1 = 2,5\text{mg}$

$Y_1$   $\longrightarrow$  0,5ml

2ml est le volume préparé pour chaque lot de souris.

## Annexes 5

---

### 2<sup>eme</sup> doses (1000mg/kg)

1000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_1=20\text{mg}$

$X_1$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

20mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_2= 5\text{mg}$

$Y_2$   $\longrightarrow$  0,5ml

### 3<sup>eme</sup> doses (2000mg/kg)

2000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_3=40\text{mg}$

$X_3$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

40mg  $\longrightarrow$  0,5ml  $Y_3= 10\text{mg}$

$Y_4$   $\longrightarrow$  2ml

### 4<sup>eme</sup> doses (3000mg/kg)

3000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_4=60\text{mg}$

$X_4$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

60mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_4= 15\text{mg}$

$Y_4$   $\longrightarrow$  0,5ml

### 5<sup>eme</sup> doses (4000mg/kg)

4000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_1= 80\text{mg}$

$X_1$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

80mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_5= 20\text{mg}$

$Y_5$   $\longrightarrow$  0,5ml

## Annexes 6

### 6<sup>ème</sup> doses (5000mg/kg)

5000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_6=100\text{mg}$

$X_6$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

100mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_6=25\text{mg}$

$Y_6$   $\longrightarrow$  0,5ml

### 7<sup>ème</sup> doses (10000mg/kg)

10000 mg  $\longrightarrow$  1000g de poids corporel  $X_7 = 200\text{m}$

$X_7$   $\longrightarrow$  20g

Chaque souris peut recevoir 0,5ml de volume aqueux, alors :

200 mg  $\longrightarrow$  2ml  $Y_7 = 50\text{mg}$

$Y_7$   $\longrightarrow$  0,5ml

❖ Pourcentage d'inhibition de l'acide Ascorbique

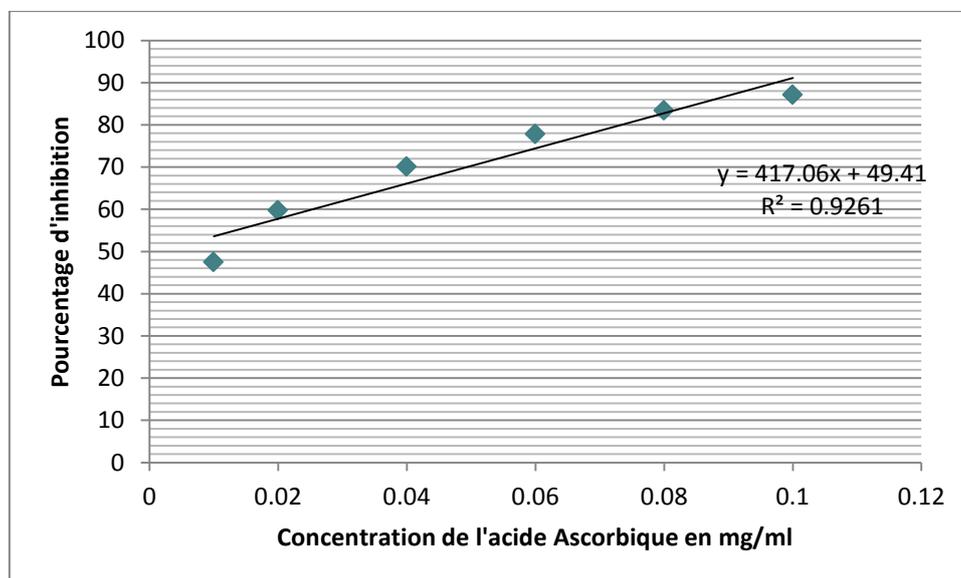
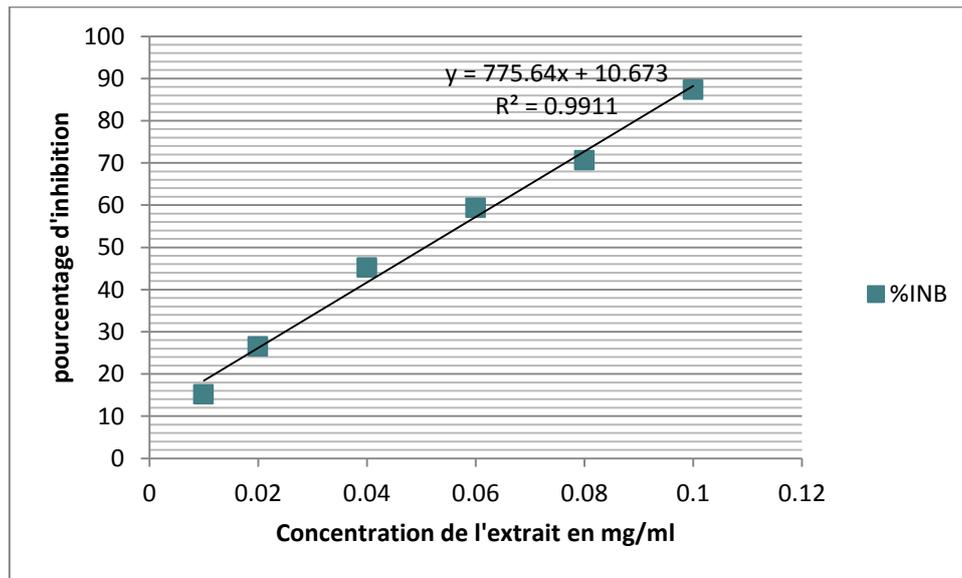


Figure 18: Pourcentage d'inhibition en fonction de l'acide Ascorbique

### Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de Bourrache



**Figure 19:** Pourcentage d'inhibition en fonction de l'extrait aqueux de Bourrache

**Tableau9:** Valeur de l'IC<sub>50</sub> de l'extrait aqueux de Bourrache et l'acide Ascorbique

IC <sub>50</sub> de l'extrait (mg /ml)	
<i>Borago officinalis</i>	0,05
Vit C	0,001

➤ **Préparation de la solution de Carraghénine (1 %)**

X g de poudre de la Carraghénine → 50ml l'eau physiologique

1g → 100ml

X= 0,5g de poudre de Carraghénine

Nous avons préparé la solution homogénéisée à l'aide d'un agitateur pour réaliser des injections de 0,05ml pour chaque souris.

➤ **Préparation des infusions utilisées pour le traitement de l'inflammation**

• **Infusée N°1 à une dose de 10%**

Nous avons préparé l'infusion de 10g de poudre végétale (les feuilles de Bourrache séchées) dans 100ml d'eau physiologique.

## Annexes 8

---

### • Infusée N°1 à une dose de 20%

Nous avons préparé l'infusion de 20g de poudre végétale (les feuilles de Bourrache séchées) dans 100 ml d'eau physiologique.

### • Infusée N°1 à une dose de 30%

Nous avons préparé l'infusion de 30g de poudre végétale (les feuilles de Bourrache séchées) dans 100 ml d'eau physiologique.

#### ➤ Préparation de la solution de référence Diclofinac (2mg /kg)

- On utilise le Diclofinac sous forme de comprimés de 5mg
- La dose active 2mg /kg
- Poids moyen des souris est 20g et chacun reçoit 0,5 ml de médicament

$$\begin{array}{l} 0,002\text{g (comprimé)} \longrightarrow 1000\text{g (souris)} \quad X=0,4\text{mg/Souris} \\ X \longrightarrow 20\text{g} \end{array}$$

#### ➤ Préparation de la solution contrôle 0,9%

Nous avons préparé 9g de Na Cl dans 1000ml de l'eau physiologique.

- Représentation des poids des souris et le volume de la solution gavé pour chacune

**Tableau 10:** Volume de chaque solution gavage chez les souris

Lots	Poids	V.S.G
1-Eau physiologique 9g /1000ml + Carraghénine (0,05ml)	18	0,45
	24	0,6
2-Médicament Diclofinac 0,4mg /ml + Carraghénine (0,05ml)	18	0,45
	22	0,55
3-Infusion N° 1 de Bourrache 0,1g /ml + Carraghénine (0,05ml)	23	0,575
	24	0,6
4-Infusion N° 2 de Bourrache 0,2g /ml + Carraghénine (0,05ml)	17	0,42
	18	0,45
5-Infusion N° 3 de Bourrache 0,3g /ml + Carraghénine (0,05ml)	20	0,5
	22	0,55

Les moyennes des épaisseurs des pattes des souris sont présentées dans les tableaux suivants (11, 12, 13).

## Annexes 9

**Tableau 11:** Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache (évolution des épaisseurs des pattes de 1er souris).

Lot	témoin	Infusé de 10%	Infusé de 20%	Infusé de 30%	Médicament
Epaisseur initial à t0	1,42	1,42	1,53	1,38	1,38
Epaisseur juste après injection de Carraghénine après 30min à t1	1,98	1,97	1,42	1,56	1,40
Epaisseur après 60min à t2	2	2,10	1,72	1,46	1,62
Epaisseur après 90min à t3	2,24	2	1,85	1,93	1,96
Epaisseur après 120min à t4	2,82	2,82	1,58	1,56	1,44
Epaisseur après 150min à t5	1,89	1,81	1,54	1,41	1,42
Epaisseur après 180min à t6	1,52	1,43	1,54	1,38	1,38

**Tableau 12:** Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache (évolution des épaisseurs des pattes de 2eme souris).

Lot	témoin	Infusé de 10%	Infusé de 20%	Infusé de 30%	Référence
Epaisseur initial à t0	1,45	1,43	1,40	1,50	1,38
Epaisseur juste après injection de Carraghénine après 30min à t1	1,69	1,74	1,85	1,6	1,56
Epaisseur après 60min à t2	2	1,78	1,87	1,92	1,62
Epaisseur après 90min à t3	2,02	2,16	1,95	2,02	1,72
Epaisseur après 120min à t4	1,96	1,90	1,66	1,56	1,48
Epaisseur après 150min à t5	1,73	1,69	1,50	1,64	1,40
Epaisseur après 180min à t6	1,47	1,44	1,40	1,52	1,40

## Annexes 10

**Tableau 13** : Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Bourrache  
(moyennes des 2 souris).

Lot	Témoin	Infusé 10%	Infusé 20%	Infusé 30%	Référence
t=0	1,435	1,425	1,465	1,44	1,38
t=30	1,855	1,835	1,635	1,615	1,48
t=60	2	1,94	1,796	1,69	1,62
t=90	2,13	2,08	1,90	1,975	1,84
t=120	2,39	2,36	1,62	1,56	1,46
t=150	1,81	1,75	1,525	1,52	1,41
t=180	1,495	1,435	1,475	1,45	1,39

**Tableau 14**: Calcul du pourcentage d'augmentation (% AUG) de l'œdème en fonction du temps :

Lot	témoin	Infusé de 10%	Infusé de 20%	Infusé de 30%	Référence
30min	30,17%	27,87%	13,54%	10,23%	7,24%
60min	39,37%	36,14%	22,52%	17,36%	16,66%
90min	48,43%	45,96%	29,69%	34,81%	33,33%
120min	66,55%	65,61%	12,50%	6,48%	5,79%
150min	26,13%	22,80%	5,55%	3,75%	2,17%
180min	4,18%	0,70%	0,68%	0,69%	0,72%
Moyenne	35,81%	33,18%	14,08%	12,22%	10,99%
Ecart-type	0,193341	0,20061098	0,09746919	0,11389448	0,112219

## Annexes 11

**Tableau 15:** Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) en fonction du temps.

Lot	Témoin	Infusé de 10%	Infusé de 20%	Infusé de 30%	Référence
30min	/	7,62%	55,12%	66,09%	76,00%
60min	/	8,20 %	42,79%	55,90%	57,68%
90min	/	5,10%	38,69%	28,12%	31,17%
120min	/	1,41%	81,21%	90,26%	91,29%
150min	/	12,74%	78,76%	85,64%	91,69%
180min	/	83,25%	83,73%	83,49%	82,77%
Moyenne	/	22,02%	63,38%	68,25%	71,77%
Ecart-type	/	0,30833909	0,18575735	0,21551159	0,21461662

❖ L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Excel. La signification statistique a été déterminée à la moyenne du test d'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie par le test lois normale pour comparaison par paires.

**Tableau 16 :** Comparaison entre pourcentage d'augmentation des différents produits testés

	Témoin	Référence	Infusé de 10%	Infus de 20%	Infusé 30%
Var 1	35,81	10,99	33,18	14,08	12,22
Témoin		0,0323	0,8373	0,0487	0,0406
Diclofinac	0,0323		0,0561	0,6514	0,8663
Infusé de 10%	0,8373	0,0561		0,0845	0,0696
Infusé de 20%	0,0487	0,6514	0,0845		0,0769
Infusé de 30%	0,0406	0,8663	0,0696	0,0769	

P < 0,001\*\*\* Hautement significative

P < 0,01\*\* Très significative

P < 0,05 \* Significative

P > 0,05 Non significative

## Annexes 12

**Tableau 17:** Comparaison entre pourcentage d'inhibition des différents produits testés

Var 2	Témoin	Référence	Infusé de 10%	Infusé de 20%	Infusé de 30%
	0	22,02	63,38	68,25	71,77
Témoin		0,000021	0,153988	0,000017	0,000033
Référence	0,000021		0,0086	0,5238	0,8012
Infusé de 10%	0,153988	0,0086		0,0169	0,0127
Infusé de 20%	0,000017	0,5238	0,0169		0,7101
Infusé de 30%	0,000033	0,8012	0,0127	0,7101	

P < 0,001\*\*\* Hautement significative

P < 0,01\*\* Très significative

P < 0,05 \* Significative

P > 0,05 Non significative

**Tableau 18 :** Nombre des spasmes enregistrés chez les souris en fonction des différentes solutions administrées

Lot	Dose	Nbr des spasmes	
		S1	S2
Lot témoin	Eau physiologie	25	28
Essai 1	Spasfon 8 %	0	0
Essai 2	EA 10%	12	16
Essai 3	EA 20%	16	24
Essai 4	EA 30%	7	13

**Tableau 19:** Pourcentages de protection enregistrés chez les souris en fonction des différentes solutions administrées

Lot	Dose	Moy de spasme	% de protection
Lot témoin	Eau physiologie 0,9 %	26,5	/
Essai 1	Spasfon 8 %	0	100 %
Essai 2	EA 10 %	20	24 ,52 %
Essai 3	EA 20 %	14	47 ,16 %
Essai 4	EA 30 %	10	62 ,26 %

**Tableau 20** : Comparaison entre pourcentage de protection des différents produits testés

Var	Eau physiologique	Spasfon	EA 10%	EA 20%	EA 30 %
Eau physiologique		0,3644	0,1478	0,1353	0,1056
Spasfon	0,3644		0,5128	0,7117	0,8865
EA 10%	0,1478	0,5437		0,4003	0,2442
EA 20%	0,1353	0,8169	0,4003		0,612
EA 30%	0,1056	0,95465	0,2442	0,612	

P < 0,001\*\*\* Hautement significative

P < 0,01\*\* Très significative

P < 0,05 \* Significative

P > 0,05 Non significative