

**Université Mohamed Boudiaf - M'sila**  
**FACULTÉ DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE**



Numéro de série :.....

Numéro d'inscription :.....

Thèse  
Présentée pour l'obtention du diplôme de  
**DOCTORAT 3ème cycle (LMD)**

Spécialité : Sciences Biologiques  
Option : Pharmacologie Expérimentale

THEME

**Étude phytochimique et pharmacologique d'*Arum arisarum***

Présentée Par  
**BOUAFIA Zineb**

**Soutenue le :**

**01/02/2025**

Devant le jury composé de :

<b>Nom &amp; Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Etablissement</b>	<b>Qualité</b>
Sarri Madani	Professeur	Université de M'sila	Président
Boudjelal Amel	Professeur	Université de M'sila	Directrice de Thèse
Terracht-Bouaziz Souhila	Professeur	Université de Boumerdes	Co-promotrice
Belbahi Amine	MCA	Université de M'sila	Examineur
Bouزيد Djihane	MCA	Université de Sétif	Examinatrice
Dahdouh Faouzi	MCA	ENSET de Skikda	Examineur

**Année Universitaire : 2024/2025**

## Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, dont l'amour et le soutien inconditionnels m'ont toujours guidé.

À mon mari, qui a été ma source de force et d'encouragement tout au long de ce parcours, je te remercie pour ta patience et ta compréhension.

À mes filles, qui illuminent ma vie chaque jour, je vous dédie cette réussite en espérant qu'elle vous inspire à poursuivre vos rêves.

Enfin, à toute ma famille, merci pour votre soutien et vos encouragements constants.

*Finel*

## **Remerciements**

*Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant et Miséricordieux, qui m'a guidé et soutenu tout au long de ce parcours.*

J'exprime ma profonde gratitude à Madame Pr *BOUDJELAL Amel*, Professeur au Département Microbiologie et Biochimie de la Faculté des Sciences à l'Université de M'sila, qui m'a inspiré ce thème et pour son soutien inestimable tout au long de ce parcours. Sa guidance éclairée, ses conseils avisés et sa disponibilité constante ont été des atouts majeurs dans l'accomplissement de ce travail. Grâce à son expertise et à sa passion pour la recherche, j'ai pu approfondir mes connaissances et surmonter les défis rencontrés. Je lui suis profondément reconnaissante pour sa confiance et son encouragement, qui m'ont motivée à donner le meilleur de moi-même.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma Co-promotrice, Madame Pr *Terracht-Bouaziz Souhila*, Professeur au laboratoire de recherche de Chimie Appliquée et Matériaux de la Faculté des Sciences à l'Université de Boumerdes, pour son soutien indéfectible et son expertise tout au long de ce travail de recherche. Sa disponibilité, ses conseils avisés et son encouragement constant ont été essentiels dans l'avancement de ma thèse.

Mes meilleurs remerciements s'adressent également à Monsieur Pr *Sarri Madani*, de l'Université de M'sila, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Je remercie vivement Monsieur Dr *Belbahi Amine*, de l'Université de M'sila, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail et de faire partie du jury de cette thèse.

J'exprime ma gratitude à Madame Dr *Bouzid Djihane*, de l'Université de Sétif, pour avoir accepté de juger ce travail. Je suis honorée de la compter parmi les membres de ce jury.

Je remercie tout particulièrement Monsieur Dr *Dahdouh Faouzi*, de L'École normale supérieure d'enseignement technologique de Skikda, pour avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

J'adresse mes respectueux remerciements à Monsieur Dr *Bouhenna Mustapha Mounir*, Directeur de recherche au sein de CRAPC, de m'avoir accueilli chaleureusement au sein du Laboratoire des Produits Naturels, je vous remercie de m'avoir fait confiance totale, en me faisant profiter de votre grande expérience. Votre suivi, encouragements et précieux conseils ont permis le bon déroulement de ce travail de thèse.

J'exprime également mes chaleureux remerciements à toute l'équipe du CRAPC. Un remerciement spécial est adressé à Madame Dr. *Nebbek Amira*, Monsieur Dr. *Kebir Mohamed*, ainsi qu'aux doctorantes *Lina* et *Houda*, pour leur disponibilité, leur aide précieuse et constante,

leur écoute attentive, et surtout pour leurs qualités humaines, auxquelles je rends ici un hommage sincère.

J'adresse également mes sincères remerciements à Monsieur *Seghiri Kamel*, responsable des laboratoires de la Faculté des Sciences /Université de M'sila, pour son soutien, sa disponibilité et son assistance précieuse lors de ce travail. Je lui exprime ma profonde gratitude pour sa collaboration et son aide.

Merci à tous pour votre contribution et votre soutien qui ont permis la réalisation de cette thèse.

## Sommaire

Résumés  
Liste des Abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>5</b>
<i>I.1 La famille des Aracées .....</i>	<i>5</i>
<i>I.2 Le genre d'Arisarum.....</i>	<i>6</i>
<i>I.3 l'espèce Arisarum vulgare .....</i>	<i>7</i>
I.3.1 Étymologie .....	7
I.3.2 Type biologique.....	7
I.3.3 Systématique de la plante <i>Arisarum vulgare</i> Targioni-Tozzetti .....	7
I.3.4 Noms vernaculaires de la plante.....	8
I.3.5 Morphologie de l'espèce .....	8
I.3.6 Distribution géographique de la plante <i>Arisarum vulgare</i> .....	10
I.3.7 Composition chimique de la plante .....	11
I.3.8 Utilisations de la plante en médecine traditionnelle .....	13
<b>MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>33</b>
<i>II.1 Le matériel végétal .....</i>	<i>33</i>
<i>II.2 Les animaux.....</i>	<i>33</i>
<i>II.3 Les microorganismes .....</i>	<i>33</i>
<i>II.4 Outils bio-informatiques.....</i>	<i>34</i>
<i>II.5 Préparation des extraits .....</i>	<i>34</i>
<i>II.6 Analyses phytochimique .....</i>	<i>35</i>
II.6.1 Dosage des polyphénols totaux .....	35
II.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux .....	36
II.6.3 Analyse de l'AVEA et l'AVEE par HPLC-ESI-MS/MS .....	36
<i>II.7 Analyses pharmacologiques (in vivo, in vitro et in silico).....</i>	<i>37</i>
II.7.1 Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	37
II.7.1.1 Test de piégeage de radical libre DPPH (2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyle).....	37
II.7.1.2 Test de réduction du radical-cation ABTS•+ .....	37
II.7.2 Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne .....	38
II.7.2.1 Méthode de diffusion en milieu gélosé .....	38

II.7.2.2	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	39
II.7.2.3	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) .....	39
II.7.3	Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité protectrice de l'ADN .....	40
II.7.4	Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité anticholinestérase .....	40
II.7.5	Évaluation <i>in vivo</i> de l'activité cicatrisante .....	41
II.7.5.1	Préparation de l'onguent .....	41
II.7.5.2	Test de l'irritation cutanée.....	41
II.7.5.3	Évaluation du potentiel cicatrisant de l' <i>Arisarum vulgare</i> .....	42
II.7.5.4	Induction des plaies d'excision, traitement et suivi de la cicatrisation.....	42
II.7.5.5	Les coupes histologiques.....	43
II.7.6	Évaluation <i>in silico</i> de potentiel thérapeutique .....	43
II.7.6.1	Préparation des structures des ligands étudiés.....	44
II.7.6.2	Simulations de docking moléculaire .....	47
II.8	<i>Analyses statistiques</i> .....	47

## **RESULTATS ET DISCUSSION ..... 48**

III.1	<i>Analyse phytochimique</i> .....	48
III.1.1	Rendement de l'extraction .....	48
III.1.2	Dosage des polyphénols totaux .....	48
III.1.3	Dosage des flavonoïdes totaux .....	49
III.1.4	Analyse des extraits d' <i>Arisarum vulgare</i> par HPLC- ESI-MS/MS .....	50
III.1.4.1	Analyse de l'extrait éthanolique d' <i>Arisarum vulgare</i> par HPLC- ESI-MS/MS .....	51
III.1.4.2	Analyse de l'extrait aqueux d' <i>Arisarum vulgare</i> par HPLC- ESI-MS/MS .....	53
III.2	<i>Évaluation pharmacologique (in vivo, in vitro et in silico)</i> .....	55
III.2.1	Étude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	55
III.2.1.1	Activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH.....	55
III.2.1.2	Activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical ABTS•+.....	56
III.2.2	Activité antibactérienne.....	57
III.2.3	Activité protectrice d'ADN .....	62
III.2.4	Activité anti Alzheimer .....	64
III.2.5	Évaluation de l'activité cicatrisante <i>in vivo</i> .....	66
III.2.5.1	Test d'irritation cutané .....	66
III.2.5.2	Variations du poids des animaux .....	66
III.2.5.3	Évolution du processus cicatriciel des plaies .....	67
III.2.5.4	Coupes histologiques .....	71
III.2.6	Évaluation des activité biologiques <i>in silico</i> .....	74
III.2.6.1	L'étude du potentiel cicatrisant de l'extrait aqueux <i>in silico</i> .....	75
III.2.6.2	L'étude de l'activité anti Alzheimer de l'extrait éthanolique <i>in silico</i> .....	87

<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>93</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>96</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>116</b>

## Abstract

*Arisarum vulgare* O. Targ.Tozz. (Araceae), locally known as “Elbgouga”, holds significant traditional importance in Algeria for the treatment of various human ailments, including pain, infections, inflammation, digestive disorders, cancer, skin problems, eczema, wounds, and burns.

The purpose of this study was to investigate, for the first time, the phytochemical profile, antioxidant and antibacterial properties, inhibitory effects on acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes, DNA protection ability, and the potential to enhance wound healing of *A. vulgare* ultrasound-assisted aqueous and ethanolic extracts.

HPLC-ESI-MS/MS analysis was performed to determine the phytochemical composition of a specific botanical species. The antioxidant capacity was evaluated using DPPH and ABTS radical scavenging assays. The antibacterial effectiveness against four bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*) was measured through the agar diffusion method. Cholinesterase enzyme inhibition was assessed by a colorimetric technique based on Ellman's reaction. The protective effects of *A. vulgare* extracts on pBR322 plasmid DNA, damaged by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV exposure, were evaluated by analyzing the DNA-breaking forms. Additionally, the acute dermal toxicity and wound healing potential of a 5% *Arisarum vulgare* extract ointment were investigated *in vivo*, accompanied by histological analysis of biological samples. Seven protein targets, including TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  R1, MMP-9, EGFR, AChE, and BChE, were analyzed *in silico* molecular docking study.

Quantitative evaluation of phytochemicals showed a significant presence of phenolic compounds, predominantly flavonoids. HPLC-ESI-MS/MS analysis identified three major compounds in the ethanolic extract, mainly flavonoids, with rutin being the most abundant, followed by hesperidin and isoquercitrin. Twenty-seven compounds, mostly phenolic acids and flavonoids, were identified in the aqueous extract. The DPPH assay indicated a higher antioxidant capacity than the ABTS assay. Both extracts were effective against all tested bacterial strains. The plant extracts significantly inhibited both AChE and BChE enzymes. *A. vulgare* extracts and Quercetin showed a more significant DNA protective effect in form I over form II. *Arisarum vulgare* extract ointment is considered safe for topical use. Statistically significant wound contraction was observed in the group treated with *A. vulgare* extract ointments compared to the untreated groups or those treated with petroleum jelly. Additionally, no significant differences were found between the group treated with *A. vulgare* ointments and the one treated with the reference drug. The topical application of the formulation also enhanced histological parameters. *In silico* studies indicated that bioactive compounds in the aqueous extract might have therapeutic effects on wound healing by targeting TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  R-1 MMP-9, and EGFR with high affinity, thus mitigating inflammation, promoting angiogenesis, and aiding wound repair. Meanwhile, rutin, hesperidin, and isoquercetrin showed high affinity for AChE and BChE, potentially contributing to the dual cholinesterase inhibitor capabilities of *A. vulgare*'s ethanolic extract.

The remarkable biological properties of *A. vulgare* suggest that the plant could be a significant source of bioactive compounds with diverse medicinal applications.

**Keywords:** *Arisarum vulgare*; HPLC-ESI-MS/MS analysis; Antioxidant activity; Antibacterial potential; DNA; Acute dermal toxicity; *In vivo*; *In silico*.

## Résumé :

*Arisarum vulgare* O. Targ.Tozz. (Araceae), localement connu sous le nom de « Elbgouga », revêt une importance traditionnelle significative en Algérie pour le traitement de diverses affections humaines, y compris la douleur, les infections, l'inflammation, les troubles digestifs, le cancer, les problèmes de peau, l'eczéma, les blessures et les brûlures. L'objectif de cette étude était d'explorer pour la première fois le profil phytochimique, les effets antioxydants, antibactériens, inhibiteurs sur les enzymes acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE), la protection de l'ADN et la capacité à favoriser la cicatrisation des plaies de l'extrait aqueux et éthanolique assisté par ultrasons d'*A. vulgare*.

L'analyse HPLC-ESI-MS/MS a servi à déterminer la composition phytochimique de l'espèce botanique étudiée. L'activité antioxydante a été mesurée grâce aux tests de capture des radicaux DPPH et ABTS. L'activité antibactérienne contre quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*) a été évaluée par la méthode de diffusion en agar. L'inhibition de l'enzyme cholinestérase a été mesurée par une méthode colorimétrique utilisant la réaction d'Ellman. Les propriétés protectrices des extraits d'*A. vulgare* sur l'ADN plasmidique pBR322, endommagé par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'exposition aux UV, ont été examinées par l'analyse des formes de l'ADN fragmenté. En outre, la toxicité cutanée aiguë et l'efficacité de cicatrisation des plaies d'un onguent contenant 5 % d'extrait d'*Arisarum vulgare* ont été testées *in vivo*, avec une analyse histologique des tissus. Sept protéines cibles, dont TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  R1, MMP-9, EGFR, AChE et BChE, ont été examinées dans une étude *in silico*.

L'évaluation quantitative des phytoconstitués a révélé une présence significative de composés phénoliques, en particulier des flavonoïdes. L'analyse HPLC-ESI-MS/MS a identifié trois principaux composés dans l'extrait éthanolique, surtout des flavonoïdes, avec la rutine comme le plus abondant, suivie par l'héspéridine et l'isoquercitrine. Vingt-sept composés, principalement des acides phénoliques et des flavonoïdes, ont été identifiés dans l'extrait aqueux. Le test DPPH a révélé une capacité antioxydante supérieure à celle du test ABTS. Les deux extraits se sont avérés efficaces contre toutes les souches bactériennes testées. Ils ont également inhibé significativement les enzymes AChE et BChE. Les extraits d'*A. vulgare* et la quercétine ont démontré un effet protecteur plus marqué sur l'ADN en forme I par rapport à la forme II. Les onguents à base d'extrait d'*Arisarum vulgare* sont jugés non toxiques pour une application topique. Une réduction statistiquement significative des plaies a été observée dans le groupe traité avec les formulations à base d'extrait d'*A. vulgare* comparativement aux groupes non traités ou traités avec de la vaseline. Aucune différence significative n'a été notée entre les groupes traités avec les onguents d'*A. vulgare* et celui traité avec le médicament de référence. L'application topique des onguents a aussi amélioré les paramètres histologiques. Les études *in silico* ont suggéré que les composés bioactifs de l'extrait aqueux pourraient favoriser la cicatrisation des plaies en ciblant le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , le TGF- $\beta$  R-1, le MMP-9 et l'EGFR avec une haute affinité, réduisant ainsi l'inflammation, stimulant l'angiogenèse et facilitant la réparation tissulaire. Parallèlement, la rutine, l'héspéridine et l'isoquercitrine ont montré une forte affinité pour l'AChE et la BChE, contribuant ainsi aux propriétés inhibitrices de l'extrait éthanolique d'*A. vulgare* sur ces deux cholinestérases.

Les propriétés biologiques exceptionnelles de *A. vulgare* indiquent que cette plante pourrait constituer une source importante de composés bioactifs aux multiples applications médicales.

**Mots Clés:** *Arisarum vulgare*; Analyse HPLC-ESI-MS/MS; Activité antioxydante; Activité antibactérienne; ADN; Toxicité cutanée aiguë; *In vivo*; *In silico*.

## الملخص

أريساروم فيلغار، المعروف محلياً باسم "البقوقة"، يحمل أهمية كبيرة في الطب التقليدي بالجزائر لعلاج مجموعة مختلفة من الأمراض البشرية، بما في ذلك الألم، العدوى، الالتهابات، اضطرابات الجهاز الهضمي، السرطان، مشاكل الجلد، الأكزيما، الجروح، والحروق.

هدف هذه الدراسة هو استكشاف، لأول مرة، الملف الكيميائي النباتي والخصائص المضادة للأكسدة والبكتيريا، وتأثيرات التثبيط على إنزيمي الأستيل كولين إستراز (AChE) والبيوتيريل كولين إستراز (BChE)، بالإضافة إلى قدرته على حماية الحمض النووي وإمكانية تعزيز التئام الجروح باستخدام مستخلصات مائية وإيثانولية لـ *A. vulgare* مدعومة بالموجات فوق الصوتية.

تم إجراء تحليل LC-ESI-MS/MS لتحديد التركيب الكيميائي النباتي. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستخدام اختبارات النقاط الجذور الحرة DPPH و ABTS. تم قياس النشاط المضاد للبكتيريا ضد أربع سلالات بكتيرية باستخدام طريقة الانتشار في الأجار. تم تقييم تثبيط إنزيمات الكولين إستراز باستخدام تقنية قياس اللون المعتمدة على تفاعل إلمان. كما تم تقييم تأثير المستخلصات في حماية الحمض النووي البلازميدي (pBR322) المتضرر بفعل  $H_2O_2$  والأشعة فوق البنفسجية. بالإضافة إلى ذلك، تم التحقيق في سمية الجلد الحادة وإمكانية التئام الجروح باستخدام مرهم يحتوي على 5% من مستخلص *A. vulgare* في تجارب حية، مدعومة بتحليل نسيجي للعينات البيولوجية. تم تحليل سبعة أهداف بروتينية، بما في ذلك  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  و  $TGF-\beta R1$  و  $MMP-9$  و  $EGFR$  و  $AChE$  و  $BChE$ ، في دراسة إرساء جزيئي باستخدام المحاكاة الحاسوبية.

أظهر التقييم الكمي للمركبات الكيميائية النباتية وجوداً كبيراً للمركبات الفينولية، وخصوصاً الفلافونويدات. حدد تحليل HPLC-ESI-MS/MS ثلاثة مركبات رئيسية في المستخلص الإيثانولي، معظمها من الفلافونويدات، حيث كان الروتين هو الأكثر وفرة، يليه الهسبيريدين والإيزوكويرسيتين. ضف إلى ذلك، تم تحديد سبعة وعشرين مركباً، أغلبها أحماض فينولية وفلافونويدات، في المستخلص المائي. أظهر اختبار DPPH قدرة مضادة للأكسدة أعلى من اختبار ABTS. كما كانت كلا المستخلصات فعالة ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة. بالإضافة إلى ذلك، أثبتت المستخلصات النباتية تثبيطاً كبيراً لكلا الإنزيمين AChE و BChE. أظهرت مستخلصات أريساروم فيلغار والكويرسيتين تأثيراً جم في حماية الحمض النووي في الصورة I مقارنة بالصورة II. اعثر مرهم مستخلص أريساروم فيلغار أمناً للاستخدام الموضعي. كما تم تسجيل تقلص ملحوظ في الجروح لدى المجموعة المعالجة بمرهم أريساروم فيلغار مقارنة بالمجموعات غير المعالجة أو المعالجة بالفازلين. إضافة إلى ذلك، لم تكن هناك فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعة المعالجة بمرهم *A. vulgare* وتلك المعالجة بالعقار المرجعي. كما عزز التطبيق الموضعي أيضاً من المعايير النسبجية. أشارت الدراسات المحوسبة إلى أن المركبات النشطة بيولوجياً في المستخلص المائي قد تكون لها تأثيرات علاجية على التئام الجروح من خلال استهداف  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  و  $TGF-\beta R1$  و  $MMP-9$  و  $EGFR$  بارتباط قوي، مما يساعد على تقليل الالتهاب، تعزيز تكوين الأوعية الدموية، ودعم إصلاح الجروح. في الوقت نفسه، أظهرت مركبات الروتين والهسبيريدين والإيزوكويرسيتين ارتباطاً قوياً مع إنزيمي AChE و BChE، مما يُحتمل أن يسهم في التأثير المثبط المزدوج لإنزيمات الكولين إستراز في المستخلص الإيثانولي لـ أريساروم فيلغار.

تشير الخصائص البيولوجية المذهلة لـ أريساروم فيلغار إلى أن هذا النبات يمكن أن يكون مصدراً مهماً للمركبات النشطة بيولوجياً التي تمتلك تطبيقات طبية متعددة.

## الكلمات المفتاحية:

أريساروم فيلغار *Arisarum vulgare*؛ تحليل HPLC-MS/MS؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ الإمكانات المضادة للبكتيريا؛ الحمض النووي؛ السمية الجلدية الحادة؛ تجارب حية؛ المحاكاة الحاسوبية.

## Liste des Abréviations

**A** : Absorbance

**ATCC** : American Type Culture Collection

**AVEA** : *Arisarum vulgare* extrait aqueux

**AVEE** : *Arisarum vulgare* extrait aqueux

**DMSO** : Dimethyl sulfoxide

**DPPH** : 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle

**EAG**: Équivalents d'acide gallique

**EGFR** : Epithelial Growth Factor Receptor

**EQ** : Équivalent Quercétine

**ES** : Extrait Sec

**FI** : Fragment Ion

**IL-1 $\beta$**  : Interleukin-1 beta

**LC-ESI-MS/MS**

**LOD** : limite de détection

**LOQ** : limite de quantification

**MI** : Molecular Ion

**MMP-9** : Matrix MetalloPeptidase 9

**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

**PDB** :Protein Data Bank

**TGF- $\beta$  R-1** : Transforming Growth Factor beta Receptor I

**TNF- $\alpha$** : Tumor Necrosis Factor alpha

**RT** : Temps de rétention

**$\Delta G$**  : Énergie d'activation

**2D** : Deux dimensions

**3D** : Trois dimensions

## Liste des figures

<b>FIGURE 1 :</b> LES GENRES D'ARISARUM .....	6
<b>FIGURE 2:</b> ASPECT MORPHOLOGIQUE D'ARISARUM VULGARE. ....	9
<b>FIGURE 3 :</b> RÉPARTITION DANS LE MONDE D'ARISARUM VULGARE. ....	10
<b>FIGURE 4 :</b> ARISARUM VULGARE (BOUIRA, ALGERIE) .....	33
<b>FIGURE 5 :</b> EXTRACTION, IDENTIFICATION ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES DEUX EXTRAITS D'A. VULGARE .....	35
<b>FIGURE 6:</b> PLAIE D'EXCISION ET APPLICATION TOPIQUE. ....	42
<b>FIGURE 7 :</b> CHROMATOGRAMMES HPLC-ESI-MS/MS DE L'EXTRAIT ETHANOLIQUE D'ARISARUM VULGARE. ....	51
<b>FIGURE 8 :</b> CHROMATOGRAMMES HPLC-ESI-MS/MS DE L'EXTRAIT AQUEUX D'ARISARUM VULGARE. ....	53
<b>FIGURE 9 :</b> ACTIVITÉ PROTECTRICE DE L'ADN DES DEUX EXTRAITS D'A. VULGARE.....	63
<b>FIGURE 10 :</b> ÉVOLUTION DU POIDS CORPOREL DES RATS NON TRAITÉS (NT), TRAITÉS PAR MADECASSOL® (MAD), VASELINE (VAS), LES ONGUENTS DES EXTRAITS ÉTHANOLIQUES (OAVEE 5%) ET PAR LES ONGUENTS DES EXTRAITS AQUEUX (OAVEA 5%) D' ARISARUM VULGARE. ....	67
<b>FIGURE 11 :</b> CHRONOLOGIE DE LA CICATRISATION DES PLAIES D'EXCISION CHEZ LE GROUPE NON TRAITES (NT),TRAITES PAR MADECASSOL® (MAD), VASELINE(VAS) , LES ONGUENTS DES EXTRAITS AQUEUX (OAVEA 5%) D' A.VULGARE ET DES EXTRAITS ETHANOLIQUES (OAVEE 5%) .....	71
<b>FIGURE 12 :</b> ÉVALUATION HISTOLOGIQUE DE COUPES DE PEAU DE PLAIE COLORÉES À L'HÉMATOXYLINE ET À L'ÉOSINE (G X 40) DE DIVERS GROUPES (MAD, OAVEE 5%, OAVEA 5%, VAS ET NT).....	74
<b>FIGURE 13 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE TNF-A.....	78
<b>FIGURE 14 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE L'IL-1B.....	80
<b>FIGURE 15 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE MMP-9 .....	81
<b>FIGURE 16 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE TGF-B RECEPTOR TYPE-1 .....	84
<b>FIGURE 17 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE L'EGFR. ....	85
<b>FIGURE 18 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE L'ACHÉ. ....	90
<b>FIGURE 19 :</b> LES VISUALISATIONS 2D ET 3D AU SEIN DU SITE ACTIF DE LA BChE.....	91

## Liste des tableaux

<b>TABLEAU 1 :</b> POSITION SYSTÉMATIQUE DE L'ESPÈCE ÉTUDIÉE. ....	7
<b>TABLEAU 2:</b> QUELQUES MÉTABOLITES SECONDAIRES ISOLÉS D' <i>ARISARUM VULGARE</i> . ....	12
<b>TABLEAU 3 :</b> ÉCHELLE DE SENSIBILITÉ DES GERMES . ....	39
<b>TABLEAU 4:</b> CLASSEMENT DES RÉACTIONS CUTANÉES.....	41
<b>TABLEAU 05 :</b> STRUCTURES DES LIGANDS EXPLOITÉS .....	44
<b>TABLEAU 06 :</b> TENEURS EN POLYPHÉNOLS TOTAUX DES DEUX EXTRAITS SECS D' <i>A. VULGARE</i> . ....	48
<b>TABLEAU 7 :</b> TENEURS EN FLAVONOÏDES TOTAUX DES DEUX EXTRAITS SECS D' <i>A. VULGARE</i> . ....	50
<b>TABLEAU 8 :</b> LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE D' <i>ARISARUM VULGARE</i> . ....	52
<b>TABLEAU 9:</b> LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX D' <i>ARISARUM VULGARE</i> .....	54
<b>TABLEAU 10:</b> IC50 DE L'ACTIVITÉ ANTIRADICALAIRE DES EXTRAITS AQUEUX ET ÉTHANOLIQUES DE <i>A. VULGARE</i> ET DU STANDARD VIS-À-VIS DU RADICAL DPPH.....	55
<b>TABLEAU 11 :</b> IC50 DE L'ACTIVITÉ ANTIRADICALAIRE DES EXTRAITS AQUEUX ET ÉTHANOLIQUES DE <i>A. VULGARE</i> ET DU STANDARD VIS-À-VIS DU RADICAL ABTS .....	56
<b>TABLEAU 12 :</b> DIAMÈTRE (MM) DES ZONES D'INHIBITION DES EXTRAITS ÉTHANOLIQUES ET AQUEUX D' <i>A. VULGARE</i> ET LA GENTAMICINE . ....	59
<b>TABLEAU 13 :</b> DÉTERMINATION DE CMI ET DE CMB DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE D' <i>A. VULGARE</i> . ....	59
<b>TABLEAU 14 :</b> DÉTERMINATION DE CMI ET DE CMB DE L'EXTRAIT AQUEUX D' <i>A. VULGARE</i> .....	60
<b>TABLEAU 15 :</b> IC <sub>50</sub> DE L'ACTIVITÉ ANTICHOLINESTÉRISE DES EXTRAITS AQUEUX ET ÉTHANOLIQUES DE <i>A. VULGARE</i> ET DU STANDARD. ....	64
<b>TABLEAU 16 :</b> L'ÉVOLUTION DU POURCENTAGE DE CONTRACTION DES PLAIES POUR LES GROUPES NON TRAITÉS ET CEUX TRAITÉS AVEC VAS, MAD, ET LES ONGUENTS D' <i>ARISARUM VULGARE</i> (OAVEE 5% ET OAVEA 5%).....	69
<b>TABLEAU 17 :</b> ÉNERGIE DE LIAISON ( $\Delta G_{\text{BINDING}}$ KCAL/MOL) DES DIFFÉRENTS LIGANDS DE L'EXTRAIT AQUEUX D' <i>A. VULGARE</i> .....	86
<b>TABLEAU 18 .</b> ÉNERGIE DE LIAISON ( $\Delta G_{\text{BINDING}}$ KCAL/MOL) DES COMPOSANTS MAJEURS DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE D' <i>A. VULGARE</i> . ....	90

# **INTRODUCTION**

## **Introduction**

Les plantes médicinales sont essentielles dans la médecine traditionnelle à travers le monde depuis des millénaires. Dans plusieurs cultures, elles étaient perçues comme des remèdes naturels contre divers maux et maladies. De nos jours, les médicaments à base de plantes regagnent en popularité, en partie grâce aux recherches approfondies sur leurs bienfaits thérapeutiques et à leur incorporation dans la pharmacologie contemporaine.

Les plantes médicinales sont des végétaux qui possèdent des parties bénéfiques pour la santé humaine. Historiquement, les sociétés humaines ont utilisé leur environnement naturel pour l'alimentation, la protection et les soins médicaux. Des documents historiques, comme le papyrus égyptien Ebers de 1500 av. J.-C., attestent de l'usage régulier des plantes pour leurs propriétés curatives. Les médecines traditionnelles, telles que les pratiques chinoises, indiennes ou africaines, s'appuient sur une connaissance approfondie des plantes et de leur rôle dans le traitement des maladies.

L'ethnobotanique, en tant que discipline qui examine les relations entre les sociétés humaines et les plantes, joue un rôle crucial dans cette recherche. Elle permet de documenter les pratiques traditionnelles et de comprendre comment différentes cultures ont utilisé les plantes pour traiter diverses affections (Suthari *et al.* 2021). Cette approche est essentielle pour préserver le savoir traditionnel tout en intégrant ces connaissances dans le cadre scientifique.

Plusieurs raisons expliquent l'emploi des pratiques traditionnelles fondées sur les plantes médicinales. En premier lieu, le coût élevé des médicaments contemporains pousse de nombreuses personnes à opter pour des options plus économiques. En outre, certaines communautés ont des habitudes socioculturelles profondément ancrées qui encouragent l'utilisation de remèdes traditionnels, souvent transmis de génération en génération. De plus, en présence d'agents pathogènes résistants aux traitements classiques, il est essentiel d'avoir une diversité de choix thérapeutiques. Finalement, il existe encore des maladies qui ne sont pas traitées efficacement par la médecine moderne, ce qui incite les patients à rechercher des remèdes à travers la médecine traditionnelle.

Actuellement, la médecine à base de plantes gagne en intérêt et en espoir, tant sur le plan pratique que scientifique. Les remèdes à base de plantes, qui sont des mélanges complexes de différentes parties d'une ou plusieurs herbes, peuvent parfois créer un effet synergique, augmentant ainsi le potentiel thérapeutique. Identifier le composé actif responsable de l'effet médicinal est essentiel, tout comme un contrôle de qualité rigoureux. Une identification précise

et une évaluation de la qualité sont cruciales pour assurer la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments à base de plantes. L'efficacité thérapeutique d'une formulation à base de plantes dépend de ses composants phytochimiques. Il est donc important de mener des études phytochimiques sur les plantes médicinales clés pour la normalisation, l'évaluation de la qualité et l'efficacité. La pharmacognosie est ainsi un outil essentiel pour l'étude, l'identification, la validation et la standardisation des plantes médicinales.

L'industrie pharmaceutique a récemment intensifié ses efforts lors de la quête de traitements à base de plantes, mettant en lumière l'importance des plantes médicinales et des connaissances traditionnelles dans le développement de nouvelles thérapies. L'enquête sur la diversité des plantes médicinales et l'analyse de leurs utilisations traditionnelles par les populations autochtones sont devenues des axes prioritaires dans cette quête. En effet, ces connaissances ancestrales offrent un réservoir inestimable d'informations sur les propriétés curatives des plantes, permettant ainsi d'identifier des candidats potentiels pour la pharmacologie moderne.

L'ethnopharmacologie se distingue par sa capacité à combiner tradition et modernité. Elle utilise des approches interdisciplinaires qui englobent la botanique, la chimie naturelle, la pharmacologie et l'anthropologie (Albert Chominot 2000). Ces méthodologies permettent non seulement de documenter les usages traditionnels des plantes, mais aussi d'évaluer scientifiquement leurs effets thérapeutiques. Par exemple, des études ethnopharmacologiques ont révélé que certaines plantes utilisées par les populations locales possèdent des propriétés anti-inflammatoires ou antimicrobiennes, justifiant ainsi leur utilisation dans la médecine traditionnelle (Riaz *et al.* 2024).

Une tendance émergente dans ce domaine est l'association de l'ethnopharmacologie avec la chimie verte. Cette approche innovante vise à développer des méthodes d'extraction et de synthèse de composés actifs à partir de plantes en utilisant des solvants plus sûrs et moins toxiques pour la santé humaine et en s'assurant qu'ils ne présentent pas de risques pour l'environnement. Le principe de la chimie verte souligne l'importance d'utiliser des procédés qui minimisent les risques pour la santé humaine et réduisent l'impact environnemental (Chemat *et al.* 2017).

La biotechnologie offre d'innombrables possibilités pour la valorisation des plantes médicinales, transformant ces ressources naturelles en produits thérapeutiques efficaces tout en respectant l'environnement. Les techniques *in vitro*, *in vivo* et *in silico* non seulement facilitent la découverte de nouveaux médicaments mais contribuent également à une gestion durable des ressources végétales (Bermejo *et al.* 2024). Cette synergie entre science moderne et savoirs

traditionnels ouvre la voie à un avenir prometteur pour la pharmacologie naturelle et la santé humaine. En intégrant les connaissances traditionnelles avec les innovations modernes, il est possible de créer une filière durable qui bénéficie non seulement à l'industrie pharmaceutique mais aussi aux communautés locales qui dépendent de ces précieuses ressources.

Dans le processus de valorisation de la médecine traditionnelle, l'intérêt pour l'étude des plantes médicinales et de leurs usages traditionnels a considérablement augmenté au cours des dernières décennies dans diverses régions du monde. Actuellement, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80% de la population mondiale se repose sur la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires (Muthu *et al.* 2006). L'importance économique du développement de la médecine traditionnelle et de l'emploi des plantes médicinales dans le traitement de diverses maladies a été reconnue, soulignant ainsi la nécessité de valoriser la médecine traditionnelle.

En Algérie, plusieurs espèces de plantes sont encore peu ou pas investiguées. C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit et vise à la valorisation d'une plante de la flore locale d'intérêt thérapeutique : *Arisarum vulgare* Targioni-Tozzetti, quelques activités biologiques déjà mise en évidence ainsi que ses utilisations traditionnelles contre des maladies liées à l'inflammation font de *A. vulgare* une espèce intéressante pour le travail de cette thèse. De plus, c'est une espèce ayant à ce jour fait l'objet de peu d'études phytochimiques et pharmacologiques.

Le développement de cette étude à travers nos travaux de thèse s'échelonne sur deux parties :

La première partie est bibliographique, est consacré à une présentation ethnobotanique et pharmacologique de la plante sélectionnée qui fournit un aperçu complet de l'espèce *Arisarum vulgare*, incluant son origine, sa morphologie, ses applications médicinales et sa répartition géographique.

La deuxième partie est expérimentale, structurée aussi en deux chapitres, le premier chapitre expose le matériel et les méthodes en expliquant les techniques et les protocoles utilisés pour réaliser ce travail, et le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et l'interprétation, suivi par une conclusion générale.

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse sont les suivants :

- Identification et récolte de la plante choisie.
- Préparation de deux extraits de la partie aérienne de la plante en employant une méthode d'Extraction Assistée par les Ultrasons.

- Caractérisation de la composition chimique de ces extraits par la méthode d'analyse LC-ESI-MS/MS.
- Détermination de la composition chimique en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits préparés en utilisant des méthodes de dosage sur microplaque.
- Évaluation des propriétés pharmacologiques des extraits bruts (aqueux et éthanolique) en basant sur trois approches combinées *in vitro*, *in vivo* et *in silico*.

Ces activités thérapeutiques se sont intéressées à :

- L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant différentes méthodes spectrophotométriques ; le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage des radicaux-cations ABTS.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de quatre souches microbiennes selon la méthode de diffusion sur disques ainsi la détermination de la CMI et la CMB.
- L'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en déterminant l'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme acétylcholinestérase et l'enzyme butyrylcholinestérase,
- L'évaluation de l'activité protectrice d'ADN en déterminant l'effet protecteur des deux extraits bruts.
- L'évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo* en employant un model d'excision des plaies sur des rats.
- L'évaluation de l'effet cicatrisant et anti Alzheimer *in silico* par le biais des méthodes computationnelles.

A la lumière des résultats obtenus, nous essaierons de proposer quelques perspectives de recherche

**SYNTHÈSE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **I.1 La famille des Aracées**

Les *Aracées*, ou *Araceae* en latin, constituent un groupe de plantes angiospermes monocotylédones comprenant environ 3 800 espèces réparties dans 118 genres (Henriquez *et al.* 2014). Ces plantes sont généralement minoritaires dans les régions tempérées, mais elles dominent dans les zones subtropicales et tropicales. Les Aracées sont principalement des herbacées vivaces, souvent rhizomateuses, mais peuvent également être bulbeuses ou succulentes. Certaines espèces présentent des adaptations particulières, comme les Arums, qui développent des rhizomes pour survivre dans des environnements arides (Boyce and Croat n.d.).

Bien que plusieurs d'entre elles soient toxiques, certaines sont comestibles et largement utilisées dans l'alimentation (Dupont and Guignard 2012; Croat and Ortiz 2020). Les feuilles des Aracées affichent une grande diversité de formes, allant de lancéolées à cordées, et peuvent varier considérablement en taille. Leur floraison est unique, caractérisée par un spadice entouré d'une bractée appelée spathe, qui peut prendre des formes variées, allant d'une simple corolle à des structures plus complexes. Certaines espèces, comme l'Arum titan, se distinguent par leur taille impressionnante et leur odeur forte, attirant ainsi les pollinisateurs (Henriquez *et al.* 2014; Boyce and Wong 2019)

Les *Aracées* possèdent également un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques. Leurs extraits montrent des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antitumorales et anti-inflammatoires (Frausin *et al.* 2015; Dam and Van 2022). Dans la médecine traditionnelle de plusieurs cultures, ces plantes sont employées pour traiter diverses affections telles que le choléra et les inflammations intestinales (Silva *et al.* 2013; Azab 2017).

En Algérie, la richesse de la flore locale comprend plusieurs genres d'Aracées qui se distinguent par leurs caractéristiques morphologiques variées et leurs applications médicinales. Les Aracées, avec leur large gamme de formes et de tailles, jouent un rôle crucial dans la médecine traditionnelle algérienne, où elles sont utilisées pour traiter diverses affections.

L'importance des Aracées ne se limite pas à leur utilisation traditionnelle ; elles représentent également un potentiel considérable pour la recherche pharmacologique moderne. L'étude de leurs composés bioactifs pourrait mener à la découverte de nouveaux médicaments naturels. De plus, avec l'intérêt croissant pour les pratiques de médecine traditionnelle et les

remèdes à base de plantes, les Aracées pourraient jouer un rôle clé dans le développement de solutions thérapeutiques durables et respectueuses de l'environnement. La valorisation de ces plantes pourrait également contribuer à la préservation de la biodiversité et au développement économique local en promouvant l'agriculture durable et les pratiques ethnobotaniques.

## I.2 Le genre d'*Arisarum*

Le genre *Arisarum* comprend trois espèces principales, toutes d'origine méditerranéenne

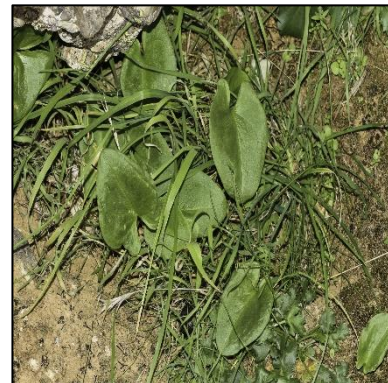
- *A. vulgare*, (Figure 01A) [Arisarum vulgare \[O.Targ.Tozz. \] \(myspecies.info\)](#)
- *A. proboscideum*, (Figure 01B) [Arisarum – European Aroid Society](#)
- *A. simorrhinum*, (Figure 01C) [Arisarum simorrhinum - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain \(teline.fr\)](#)



(01A) *A. vulgare*



(01B) *A. proboscideum*



(01C) *A. Simorrhinum*

**Figure 1** : Les genres d'*Arisarum* .

Ce genre présente autour de la Méditerranée, de l'est du Caucase jusqu'au Maroc, y compris les îles Canaries et des Açores. Ces plantes, proches du genre *Arisaema*, se reconnaissent à leurs feuilles trilobées et appartiennent à la famille des Aracées (Dam and Van 2022). Malgré la renommée des Aracées pour leur diversité morphologique et leurs usages médicaux, peu d'études se sont penchées sur la botanique d'*Arisarum vulgare*.

Les *Arisarum* sont des espèces herbacées avec des tubercules souterrains. Leurs feuilles larges, souvent lobées, poussent directement du sol, donnant un aspect distinctif à leur habitat. Les fleurs, petites, forment des inflorescences avec un spadice entouré d'une spathe, qui varie en forme et couleur, attirant les pollinisateurs. Écologiquement, les Aracées, dont *Arisarum*, sont essentiels dans leurs écosystèmes. En tant que plantes à rhizomes, elles aident à stabiliser le sol et prévenir l'érosion, tout en favorisant la biodiversité locale en offrant un habitat aux insectes pollinisateurs. Les genres d'Aracées présents en Algérie se caractérisent par des feuilles qui peuvent être lancéolées, cordées ou lobées, et par des inflorescences uniques composées

d'un spadice entouré d'une spathe. Certaines espèces, comme l'*Arum*, sont particulièrement valorisées pour leurs propriétés médicinales, notamment en tant qu'antioxydants, anti-inflammatoires et des cicatrisants (Azab 2017; Kochmarov *et al.* 2020; Abdulraziq *et al.* 2021; Arzu Sakul *et al.* 2023). Les extraits de ces plantes ont été utilisés traditionnellement pour traiter des maladies telles que les infections respiratoires, les troubles digestifs et même les morsures de serpent.

### **I.3 l'espèce *Arisarum vulgare***

#### **I.3.1 Étymologie**

- *Arisarum*: nom donné par Dioscoride, médecin et botaniste grec mort en 90 après J-C.
- *vulgare*: emprunt du latin vulgaris (adjectif) ou vulgus (nom)= la foule, la multitude=ordinaire et banal.

#### **I.3.2 Type biologique**

Le genre *Arisarum*, comprenant des espèces telles qu'*A. vulgare*, est classé parmi les géophytes à tubercule, comme l'indiquent (Maire, 1957 ; Quezel, P. Santa, 1963). Ces plantes, qui se distinguent par leur mode de vie souterrain, développent des tubercules qui leur permettent de survivre dans des conditions environnementales variées, notamment dans les régions méditerranéennes. Cette adaptation est essentielle pour leur croissance, surtout dans des habitats où les ressources en eau peuvent être limitées.

#### **I.3.3 Systématique de la plante *Arisarum vulgare* Targioni-Tozzetti**

La systématique d'*Arisarum vulgare*, telle que décrite par Quezel et Santa (1963), met en lumière l'importance de cette espèce dans le contexte méditerranéen.

**Tableau 1** : Position systématique de l'espèce étudiée.

<b>Embranchement</b>	Spermatophytes.
<b>Sous Embranchement</b>	Angiospermes.
<b>Class</b>	Monocots.
<b>Ordre</b>	Arales.
<b>Famille</b>	Aracées.
<b>Genre</b>	<i>Arisarum</i> .
<b>Genre /Esp</b>	<i>Arisarum vulgare</i> .
<b>Sous Espèce</b>	<i>Arisarum vulgare</i> subsp. <i>exsertum</i> M. et W.

### **I.3.4 Noms vernaculaires de la plante**

La diversité des noms vernaculaires d'*Arisarum vulgare* témoigne de son importance culturelle et médicinale dans différentes régions. La reconnaissance de ces appellations est essentielle pour préserver le savoir traditionnel associé à cette plante et pour encourager une valorisation durable de ses ressources. La synonymie de l'espèce diffère en fonction de deux critères : la population et la localisation de la plante. La plante *Arisarum vulgare* Targioni-Tozzetti possède plusieurs noms vernaculaires. Ces noms reflètent souvent des caractéristiques morphologiques ou des usages traditionnels de la plante.

**Nom scientifique** : *Arisarum vulgare* Targioni-Tozzetti (Parlatore 2014)

**Nom synonyme** : *Arum arisarum* (Ferrer-Gallego 2014; Güner and Kandemir 2018; Iamónico 2020)

**Noms en Français** : les noms vernaculaires dans la communauté Française évoquent souvent la forme distinctive des fleurs de la plante, qui ressemblent à des oreilles ou à un capuchon. *Arisarum vulgare* est communément appelée :

- Les oreilles des cochons
- Capuchon de moine
- Couet à capuchon

**Noms en Arabe** : les noms chez les magrébines reflètent la diversité linguistique et culturelle de la région, ainsi que l'utilisation traditionnelle de la plante dans les pratiques médicinales locales.

En Algérie, cette plante est connue sous plusieurs noms :

- Tabgouga
- Labgûga
- Tabquqt (Meddour 2015; Senouci *et al.* 2023) .

Au Maroc, on lui attribue également plusieurs appellations :

- Irnî
- Yarni Ayarna
- Tabgouga
- Kawhzin (Kharchoufa *et al.* 2021a; Elachouri *et al.* 2023)

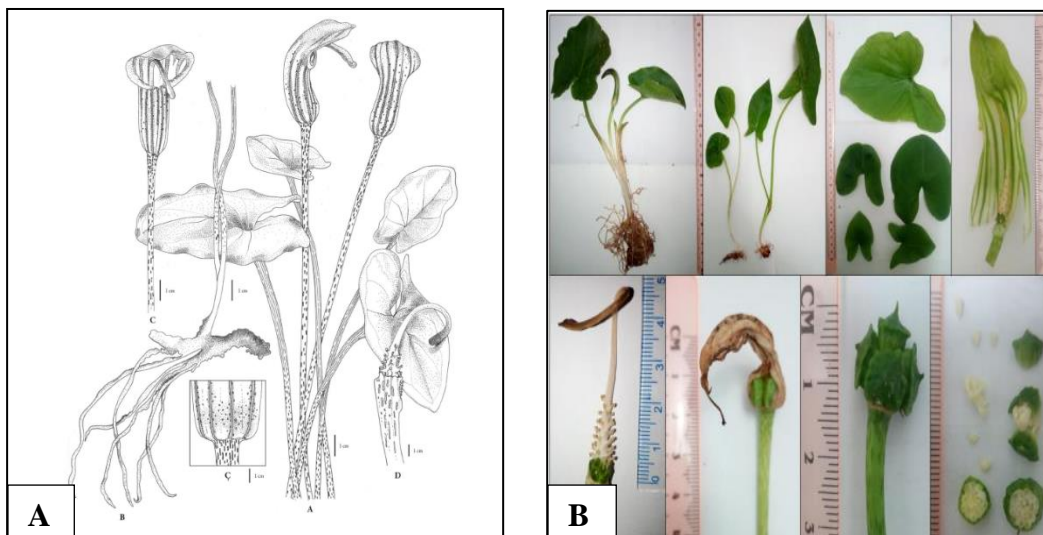
### **I.3.5 Morphologie de l'espèce**

L'*Arisarum vulgare* est une plante vivace herbacée qui se distingue par sa morphologie unique et ses caractéristiques botaniques. Mesurant entre 10 cm et 45 cm de hauteur, cette plante est monoïque et possède des racines tubéreuses, ce qui lui permet de se développer

généralement en colonies. Les feuilles basales, simples et ovales à cordiformes, mesurent entre 6 et 12 cm de long. Elles sont glabres sur le dessus, affichant une couleur vert brillant, parfois marbrées ou tachetées, et sont portées par un long pétiole fin (Mohammed Salih *et al.* 2024).

L'*Arisarum vulgare*, également connu sous le nom de gouet à capuchon ou capuchon de moine, présente une floraison qui s'étend d'octobre à mai. Les fleurs de cette plante sont caractérisées par l'absence de périanthes et se distinguent par leur disposition unique : les fleurs mâles et femelles sont rapprochées, groupées en épi autour d'un spadice libre. Ce spadice est grêle, avec une massue terminale nue, verdâtre, qui se courbe en avant et dépasse le tube de la spathe. La spathe elle-même mesure environ 1 cm de diamètre et entre 1 et 5 cm de long. Elle peut être brune ou jaune verdâtre, souvent rayée de pourpre, et présente une forme tubulaire qui se courbe en capuchon acuminé au sommet. Cette structure est essentielle pour attirer les pollinisateurs, car elle émet des odeurs qui incitent les insectes à visiter les fleurs. Les fruits d'*Arisarum vulgare* sont des baies capsulaires vertes, en forme de tête hémisphérique, contenant de 2 à 8 graines. Ces fruits se développent après la pollinisation, qui est principalement assurée par des insectes attirés par l'odeur des fleurs (Buchet and Gatin 1908; Dupont and Guignard 2012). (Figure 02).

L'*Arisarum vulgare* présente une morphologie fascinante qui reflète son adaptation à son environnement méditerranéen. Sa structure unique contribue non seulement à son rôle écologique mais aussi à son intérêt dans la médecine traditionnelle et l'horticulture.



**Figure 2:** Aspect morphologique d'*Arisarum vulgare*.

(A) (Yildirim 2018)(B) (Mohammed Salih *et al.* 2024)

### I.3.6 Distribution géographique de la plante *Arisarum vulgare*

*Arisarum vulgare* prospère généralement à des altitudes allant de 0 à 800 mètres au-dessus du niveau de la mer. Il préfère des conditions d'humidité modérée et se retrouve souvent dans des zones ombragées où la concurrence avec d'autres plantes est limitée. Sa capacité à former des colonies grâce à ses racines tubéreuses lui permet de s'établir efficacement dans son habitat naturel.

#### Distribution Mondiale

Dans le monde, *Arisarum vulgare* est principalement localisé dans les régions côtières du sud de l'Europe, y compris des pays comme la France, l'Espagne, l'Italie, et la Grèce. Sa présence s'étend également à des pays d'Afrique du Nord tels que le Maroc et l'Algérie.

Cette plante est souvent trouvée dans des habitats variés, y compris les prairies humides, les forêts ombragées et les terrains vagues, où elle préfère les sols riches en humus et bien drainés.



- *Arisarum vulgare subsp. Simrrhinum*
- *Arisarum vulgare subsp. Transiens*
- *Arisarum vulgare subsp. exsertum*

**Figure 3 :** Répartition dans le monde d'*Arisarum vulgare* .

#### Distribution en Algérie

En Algérie, *A. vulgare* est bien documenté dans plusieurs études botaniques, notamment celles de Maire (1957) , Quézel et Santa (1962). La plante y est particulièrement abondante dans les régions du Tell occidental, où elle se développe dans des milieux frais et ombragés. Elle est souvent observée dans les garrigues rocheuses, les friches et les pelouses sèches.

### I.3.7 Composition chimique de la plante

Les principaux métabolites secondaires qui caractérisent la famille des Aracées sont les saponines, les polyphénols, les composés cyanogènes, et les alcaloïdes, ce qui confère à cette famille quelques propriétés pharmacologiques (Abdulraziq et al., 2021; Azab, 2017; Hegnauer, 1963). Récemment, l'*Araceae* a été signalé comme étant une riche famille de lectines comme le N-acetyllactosamine, l'acide 13-phenyl tridécanoïque, l'acide 11-phenylundécanoïque, l'acide 15-phenylpentadécanoïque (Van Damme et al. 1995; Kaur et al. 2006), les méthyl ester de l'acide hexadécanoïque, l'acide 9-octadécénoïque et l'acide 9,12-octadécadiénoïque, aussi des aliphatiques ont été identifiés comme dodécane, le tridécane, le tétradécane, pentadécane, hexadécane, héptadécane, octadécane, nonadécane et eicosane (Azab 2017; Qi et al. 2021).

La famille des *Aracées* contient aussi des composés phénoliques comme les anthocyanines, les flavone C-glycosides, les flavonols, les flavones, et les proanthocyanidines (Ali and Yaqoob 2021). Sachant que les flavone C-glycosides sont les composants majoritaires des feuilles

- Les flavonoïdes caractéristiques de cette famille sont : orientine, isoorientine, isovitexine. (Williams et al. 1981)
- Les anthocyanines comme : cyanidin 3-rutinoside ; proanthocyanidins (Williams et al. 1981).
- Les flavones comme : luteoline, chrysoériol, acacétine (Kant et al. 2020).
- Les flavonoles et les flavonoles glycosides comme : kaempférol, quercétine, kaempférol 3-xylosylgalactoside (Williams et al. 1981), glucosylvitexine et isolariciresinol (Kim et al. 2012).

A notre connaissance, *Arisarum vulgare* été peu étudié auparavant d'un point de vue phytochimique et pharmacologique. l'*Arisarum vulgare* contient les Flavone C-glycosides (Williams et al. 1981), les cristaux d'oxalate de calcium dans la plante entière (Nelson 2007), les alcaloïdes comme : (2R)-Nméthyl-2-(9-phénylnonyl) pyrrolidine (irniine), (2R)-N-méthyl-2-tetradecylpyrrodine (bgugaine), (-)-(2S,3S,6R)-1,2-diméthyl-3-hydroxy-6-(9'-phénylnonyl) piperidine (Nméthylirniigaine) isolés à partir des tubercules (Bodo B. Melhaoui A. 1992; Melhaoui and Belouali 1998; Rakba et al. 1999; Rakba et al. 2000). Les acides phénoliques identifiés dans les tubercules comme acides gallique et acide caféique (Kadri et al. 2013).

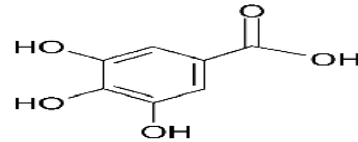
**Tableau 2:** Quelques métabolites secondaires isolés d'*Arisarum vulgare*.

Composant	Formule brute	Classe	Structure	Référence
<b>Irniine</b>	$C_{20}H_{33}N$	Pyrrolidine		(Bodo B. Melhaoui A. 1992)
<b>Bgugaine</b>	$C_{19}H_{33}N$	Pyrrolidine		(Rakba <i>et al.</i> 1999)
<b>Nméthylirnigaine</b>	$C_{22}H_{37}NO$	Piperidine		(Bodo B. Melhaoui A. 1995)
<b>Irnigaine</b>	$C_{21}H_{35}NO$	Piperidine		(Bodo B. Melhaoui A. 1995)
<b>Irnidine</b>	$C_{21}H_{35}NO$	Pyrrolidine		(Benamar Malika 2009)
<b>Irnidiine</b>	$C_{22}H_{37}NO_2$	Pyrrolidine		(Benamar Malika 2009)
<b>Acide caféique</b>	$C_9H_8O_4$	Acide phénolique		(Kadri <i>et al.</i> 2013)

Acide gallique

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

Acide  
phénolique

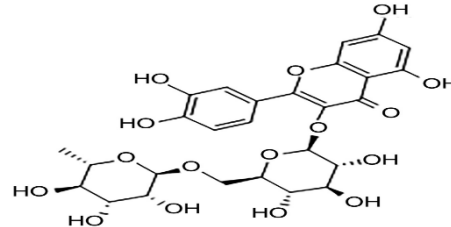


(Kadri *et al.* 2013)

Rutine

C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>

Flavonoïde



(Kadri *et al.* 2013)

### I.3.8 Utilisations de la plante en médecine traditionnelle

*L'Arisarum vulgare* est l'une des espèces les plus courantes avec un potentiel d'importance pour des fins médicinales traditionnelles. Dans le nord algérien, *l'Arisarum vulgare* est très connu pour ses vertus thérapeutiques ; les feuilles sont utilisées pour le traitement de plusieurs maladies telles que les troubles gastro-intestinaux, les maladies dermatologiques, les pathologies de la circulation, la cicatrisation, l'eczéma, les blessures, le cancer et traite la constipation. (Meddour 2015; Senouci *et al.* 2023; Elachouri *et al.* 2023).

En outre, le tubercule de la plante est appliqué sous forme de cataplasme pour soulager les douleurs liées au cancer et pour traiter divers problèmes digestifs et cutanés (Kharchoufa *et al.* 2021a). Les racines, quant à elles, sont parfois utilisées comme éméto-cathartiques, indiquant leur rôle dans le traitement des maladies des voies respiratoires et des affections dermatologiques (Melhaoui and Belouali 1998; Ilyass *et al.* 2021; Kharchoufa *et al.* 2021b). Les tubercules ou bulbes d'*Arisarum vulgare* ont également été consommés pendant les périodes de pénurie alimentaire après avoir été soigneusement bouillis pour éliminer leurs composés potentiellement toxiques. Cette préparation implique plusieurs ébullitions avec rejet de l'eau de décoction, ce qui permet de réduire leur toxicité tout en conservant certaines propriétés nutritives.

De plus, une décoction de la plante entière est utilisée pour traiter les maladies dermatologiques, tandis que son utilisation crue ou en décoction a été rapportée pour aider à réguler le diabète (Mohammed *et al.* 2021).

Les recherches scientifiques soutiennent ces utilisations traditionnelles en mettant en évidence la richesse en composés bioactifs présents dans *A. vulgare*, notamment les polyphénols, qui ont montré des effets antibactériens et antioxydants (Kadri *et al.* 2013; Aydin *et al.* 2017) ; ainsi les alcaloïdes comme l'irniine et la bbugaine, qui ont montré des effets antibactériens et antifongiques (Bodo B. Melhaoui A. 1992; Bodo B. Melhaoui A. 1995; Rakba *et al.* 2000). Lamkadem et ses collègues ont examiné l'impact toxique et électrophysiologique de ces molécules sur les fibroblastes MRC-5. La R-bbugaine a été démontré être plus toxique pour les cellules MRC-5 que la S-bbugaine, la R et la S-irniine. Ces trois dernières substances présentent environ le même effet cytotoxique sur les cellules MRC-5 (Lamkadem *et al.* 2000).

Ces composés contribuent non seulement à ses propriétés médicinales mais aussi à sa toxicité potentielle, soulignant l'importance d'une préparation adéquate avant consommation.

# **MATERIEL ET METHODES**

## MATERIEL ET METHODES

### II.1 Le matériel végétal

La partie aérienne d'*Arisarum vulgare* a été récoltée en période de floraison durant le mois de Janvier 2022 dans la région d'Illietene, située à Bouira (36°23'49" N et 4°14'55" E) (Figure 06).



**Figure 4 :** *Arisarum vulgare* (Bouira, Algérie)

L'identification botanique de la plante a été faite par le professeur H. Hadj-Arab, botaniste à la faculté des sciences biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Alger. Un spécimen de référence AB-110 a été déposé au niveau de l'herbier du laboratoire de recherche Biologie : Applications en Santé et Environnement, Université de M'sila. La plante a été nettoyée, séchée puis réduite en poudre en vue de son utilisation ultérieure.

### II.2 Les animaux

Des rats Wistar albinos pesant entre 200 et 220 g ont été ramenés de l'Institut Pasteur d'Algérie/Alger. Ils ont été alimentés *ad libitum* avec un régime de croquette (Office Nationale de l'Alimentation du Bétail, Bejaia) et de l'eau. Ils ont été maintenus dans les conditions de température et de lumière ambiante. Les expériences ont été menées conformément à la directive 2010/63/UE (<http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>) et ont obtenues une autorisation préalable par le Comité d'éthique de l'expérimentation animale de l'USTHB (CEEA-USTHB-01-2023/11111).

### II.3 Les microorganismes

Quatre souches bactériennes pathogènes dont 2 souches bactériennes Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecium* ATCC 19434) et 2 souches Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028), ont été fournies

aimablement par les responsables du laboratoire des Substances Naturelles (LSN) de l'Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-Chimique de Tunis.

#### II.4 Outils bio-informatiques

Dans le cadre de notre thèse, nous avons eu recours à divers outils bio-informatiques pour mener à bien nos analyses. La Protein Data Bank (PDB) a été utilisée comme source principale pour obtenir les structures tridimensionnelles des protéines, tandis que la base de données de molécules chimiques américaine (PubChem) nous a permis d'accéder à des informations détaillées sur les composés chimiques étudiés (Velankar *et al.* 2021; Kim *et al.* 2023b). De plus, le logiciel AutoDock Vina a été employé pour effectuer des simulations de docking moléculaire et de criblage virtuel (Eberhardt *et al.*, 2021), facilitant ainsi l'évaluation des interactions entre les ligands et les cibles protéiques. Ces outils ont grandement contribué à la précision et à la rigueur de nos recherches (Trott and Olson 2010).

#### II.5 Préparation des extraits

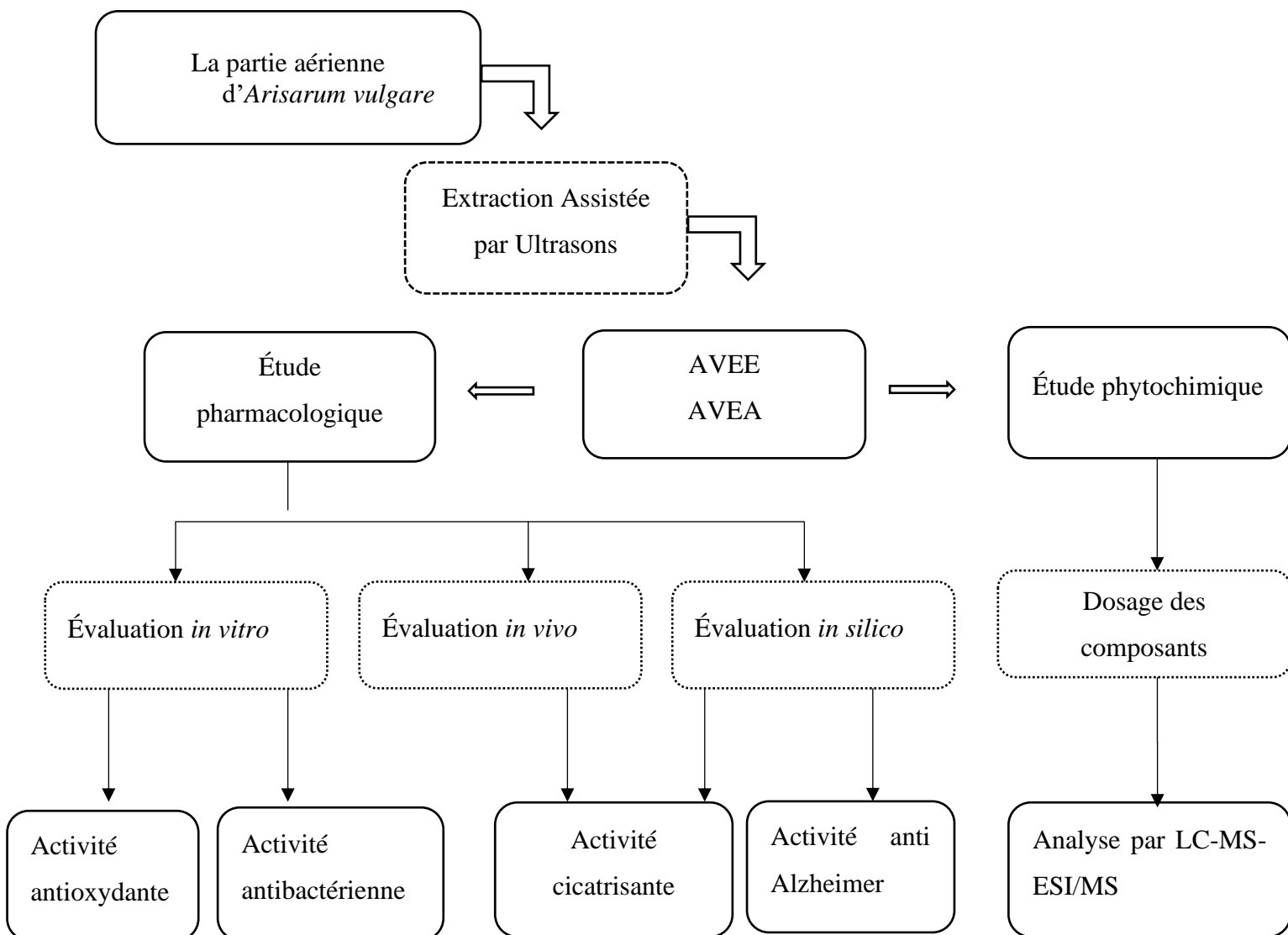
La technique d'extraction assistée par ultrasons a été utilisée selon la méthode décrite par Comlekcioglu, (2021). Un échantillon de 50 g de plante a été mélangé à 500 ml de solvant (éthanol et eau respectivement) puis soumis à une sonication pendant 1 heure à température ambiante dans un bain à ultrasons (Elma EL P070H Digital Ultrasonic Baths, Allemagne), avec une puissance de 220 W et une fréquence de 37 kHz. Après la sonication, le mélange a été centrifugé à 3500 rpm pendant 15 minutes. (Comlekcioglu and Kutlu 2021). L'éthanol a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide (Buchi, R-100) à 40°C pour obtenir l'extrait sec éthanolique d'*Arisarum vulgare* (AVEE), tandis que l'extrait aqueux a été lyophilisé grâce à un lyophilisateur (Christ alpha 1-4 LD plus) pour obtenir l'extrait sec aqueux d'*Arisarum vulgare* (AVEA), Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = [(M_{\text{Extrait}} / M_{\text{Plante sèche}})] \times 100$$

Où :

R (%) : Rendement d'extraction  
 M<sub>Extrait</sub> : Masse de l'extrait  
 M<sub>Plante sèche</sub> : Masse de la plante sèche

Les extraits obtenus ont été conservés à 4°C dans des flacons ambrés pour une analyse phytochimique et des tests pharmacologiques *in vitro* et *in vivo* (Figure 05).



**Figure 5 :** Extraction, identification et activités biologiques des deux extraits d'*A. vulgare*.

## II.6 Analyses phytochimique

### II.6.1 Dosage des polyphénols totaux

Une aliquote de 20  $\mu\text{L}$  de chaque extrait a été déposée dans une microplaque à 96 puits, suivie de l'ajout de 100  $\mu\text{L}$  de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 minutes d'incubation, 80  $\mu\text{L}$  d'une solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 7,5 % ont été ajoutés. La microplaque a ensuite été incubée à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance de la solution a ensuite été mesurée à 760 nm à l'aide d'un lecteur automatisé Fluostar Optima (BMG Labtech., USA). La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression obtenue à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimée en milligrammes

équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (M'rabet *et al.* 2017) . Toutes les mesures ont été réalisées en triplicata.

### II.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes des extraits d' *A. vulgare* a été effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (Djeridane *et al.*,2006) . Pour cela, 1 ml de chaque extrait (aqueux et éthanolique) a été mélangé avec 1 ml d'une solution de méthanol à 2% d'AlCl<sub>3</sub>. Après 10 min, l'absorbance a été déterminée à 430 nm. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ / g ES). Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

### II.6.3 Analyse de l'AVEA et l'AVEE par HPLC-ESI-MS/MS

L'étude HPLC-ESI-MS/MS des extraits aqueux et éthanolique d' *Arisarum vulgare* a été réalisée au niveau laboratoire de recherche ALUM, université d'Igdir/Turquie.

La composition phytochimique des extraits AVEA et AVEE a été analysée par HPLC-ESI-MS/MS selon Lekmine *et al.* (2023) (Lekmine *et al.* 2023) à l'aide d'un instrument 6460 Triple Quad HPLC/MS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). La séparation a été effectuée sur une colonne analytique en phase inversée Poroshell 120 EC-C18 de 100 mm × 3,0 mm, 2,7 µm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). L'élution en gradient avec une phase mobile composée d'eau avec 5,0 mM de formiate d'ammonium et 0,1% d'acide formique (solvant A) et de méthanol avec 5,0 mM de formiate d'ammonium et 0,1% d'acide formique (solvant B) a été utilisée selon le programme suivant : 0-3 min, 75% A ; 3-15 min, 50% A ; 15-16 min, 10% A ; 16-21 min, 10% A ; 21-24 min, 75% A. Le débit, la température et le volume d'injection étaient respectivement de 0,4 mL/min, 40°C et 5,12 µL.

La source d'ionisation par électrospray (ESI) a été utilisée en mode de polarité positive et négative. L'analyse HPLC-ESI-MS/MS a été réalisée dans les conditions suivantes : température capillaire à 350°C, débit du gaz nébuliseur (N<sub>2</sub>) à 8 L/min, et voltage de fragmentation de 4 kV.

Les composants phytochimiques ont été correctement identifiés et quantifiés à l'aide de la technique de surveillance des réactions multiples (MRM). Selon Yilmaz (Yilmaz 2020), les paramètres de validation de la méthode analytique, incluant les transitions ioniques (ions fragmentés et ions moléculaires des analytes standards), la limite de détection (LOD), la limite de quantification (LOQ), la plage de linéarité et le taux de récupération pour les composants identifiés ont été calculés.

## II.7 Analyses pharmacologiques (*in vivo*, *in vitro* et *in silico*)

### II.7.1 Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Différentes techniques peuvent être utilisées pour évaluer, *in vitro*, la capacité antioxydante des extraits de plantes. La majorité de ces techniques reposent sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans un environnement réactionnel. L'objectif de cette étude est de vérifier le potentiel antioxydant des extraits d'*Arisarum vulgare*.

#### II.7.1.1 Test de piégeage de radical libre DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le pouvoir anti-radicalaire ou le test de piégeage de radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), est une méthode employée pour déterminer les donneurs de protons dans les substances naturelles. En présence de donneurs de protons, le DPPH• (2, 2-phényl-1-picryl hydrazyl), qui est un radical libre de couleur violette est converti en DPPH de couleur jaune. L'activité anti-radicalaire est inversement liée à l'intensité de la coloration.

Ce test est réalisé selon le protocole décrit par Li et al. (2009)( Li et al., 2009), où un volume de 1.5 mL des extraits (AVEA, AVEE et Acide ascorbique) à différentes concentrations a été bien mélangé avec 0.5 mL du DPPH (0.1 mM). Le mélange a été laissé à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 min et l'absorbance a été lue à 517 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) estimée selon l'équation suivante :

$$I (\%) = ([A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}] / A_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Où :

$A_{\text{contrôle}}$  : Absorbance du contrôle DPPH (contrôle négatif).

$A_{\text{extrait}}$  : Absorbance de l'extrait à différentes concentrations.

L'IC<sub>50</sub> (la concentration qui correspond à 50% d'inhibition) a été calculée en traçant des pourcentages d'inhibition par rapport aux concentrations de l'échantillon. Le contrôle positif est représenté par un antioxydant standard : acide ascorbique. Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

#### II.7.1.2 Test de réduction du radical-cation ABTS•+

Le test TEAC (Capacité Antioxydante Équivalente au Trolox) évalue la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>o+</sup>, un composé bleu-vert. Ce radical, lorsqu'il capte un proton d'un antioxydant, se transforme en ABTS<sup>+</sup> incolore. La diminution de l'absorbance mesure l'efficacité de l'antioxydant à neutraliser les radicaux libres. Ce pouvoir antioxydant est comparé à celui du Trolox, un analogue hydrosoluble de la vitamine E, utilisé

comme référence. Ainsi, plus la décoloration est importante, plus l'antioxydant est efficace (Re *et al.* 1999).

La solution du radical cationique ABTS•+ a été préparée en mélangeant 2,45 Mm d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution ABTS•+ est diluée avec l'eau déminéralisée, afin d'obtenir une absorbance de  $0,7 \pm 0,05$  à 734 nm.

Un volume de 2850  $\mu$ L de cette solution fraîchement préparée a été ajouté à 150  $\mu$ L de divers extraits, puis l'absorbance a été mesurée après 7 minutes d'incubation à température ambiante. L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence. Tout comme pour le test DPPH, les résultats sont exprimés en termes de concentration inhibitrice à 50% (IC50) .

### **II.7.2 Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne**

#### **II.7.2.1 Méthode de diffusion en milieu gélosé**

L'activité antibactérienne des deux extraits aqueux et éthanolique d'*A. vulgare* a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé, conformément aux protocoles décrits par Sateriale et al. À partir de colonies bactériennes jeunes (18 à 20 heures), une suspension bactérienne a été préparée dans une solution saline physiologique stérile à 0,9 % de NaCl pour chaque souche.

Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont ajustées pour obtenir une turbidité équivalente à 0,5 McFarland (NCCLS 2001), ce qui correspond approximativement à une densité optique (DO) de 0,08 à 0,1 mesurée à 600 nm. Cette turbidité est équivalente à une concentration d'environ  $10^6$  UFC/mL (unités formant colonie par millilitre) .

Cet inoculum a été réparti uniformément à l'aide d'un écouvillon sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton. Des disques stériles de 6 mm de diamètre (papier Wattman n° 1) ont été placés sur les géloses en les imprégnant de 10  $\mu$ l des différentes concentrations des extraits à étudier, dissous dans le diméthyle sulfoxyde 10% (DMSO).

Les boîtes Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. L'évaluation de l'inhibition a été réalisée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour de chaque puits, incluant celui des disques. Ces mesures sont fréquemment retranscrites en symboles divers (Tableau 03) (CASFM,2013), proportionnels à l'activité antimicrobienne (Jorgensen and Ferraro 2009).

**Tableau 3** : Échelle de sensibilité des germes.

Inhibition (mm)*	Transcription	Sensibilité
0	0	Résistant
<8	±	Non sensible
8 < Ø < 14	+	Moyennement sensible
14 < Ø < 20	++	Sensible
> 20	+++	Extrêmement sensible

\* valeur du diamètre du disque imbibé soustraite.

### II.7.2.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits étudiés a été évaluée en utilisant la méthode de microdilution pour évaluer leur effet bactériostatique. La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un extrait ou d'un agent antimicrobien à laquelle le micro-organisme ne présente aucune croissance visible après incubation. Elle permet de déterminer l'efficacité de l'extrait contre un micro-organisme donné, en indiquant la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne (Balouiri *et al.* 2016). Dans des microplaques de microtitration de 96 puits, on dépose 5 µL de suspension microbienne (10<sup>6</sup> UFC/mL) avec de 95 µL de bouillon Mueller-Hinton et de 100 µL de chaque extrait dans la gamme de concentrations choisie. Après incubation (pendant 24 heures à 37 °C), 10 µL de MTT (bromure de 3-(4,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2,5-diphényl-2H-tétrazolium) à 5 mg/mL sont ajoutés dans chaque puits. La méthode colorimétrique utilisant le MTT permet d'évaluer la viabilité des bactéries (Balouiri *et al.* 2016).

### II.7.2.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme la concentration la plus faible d'un extrait ou d'un agent antimicrobien qui tue 99.9% de la population microbienne (soit moins de 0.01% de survivants). C'est la plus petite concentration d'une substance qui peut tuer les bactéries après 24 h de culture à 37 °C. On peut les déterminer, soit en milieu liquide soit en milieu solide (Balouiri *et al.* 2016). Afin de déterminer cette concentration, un volume de 100 µl provenant de chaque puits qui ne présente ni turbidité ni changement de couleur est ensemencé sur gélose nutritive. Après une incubation de 24 heures à 37°C, la concentration de l'extrait pour laquelle aucune surcroissance n'est observée est considérée comme la CMB (CLSI 2020).

### II.7.3 Évaluation *in vitro* de l'activité protectrice de l'ADN

La capacité des extraits à préserver l'ADN plasmidique pBR322 (Thermo Fisher) des dommages oxydatifs causés par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'irradiation UV a été mesurée en observant la fragmentation de l'ADN (Karas *et al.* 2013; Ozen *et al.* 2022). Pour résumer la procédure, 5 µL de chaque extrait (aqueux et éthanolique), 3 µL d'ADN plasmidique (dans un rapport 1:3, v/v) et 1 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) ont été mélangés. Pour le contrôle négatif (C1), 6 µL d'eau et 3 µL d'ADN plasmidique ont été combinés dans un rapport 1:3 (v/v). Le contrôle positif (C2) se composait de 6 µL d'eau, 3 µL d'ADN plasmidique (1:3, v/v) et 1 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %). De plus, la quercétine a été ajoutée à une concentration standard de 1000 µg/mL.

La réaction a été initiée en exposant le mélange à une irradiation UV pendant 5 minutes. Après irradiation, 2 µL de colorant de chargement ont été ajoutés au mélange, qui a ensuite été appliqué sur un gel d'agarose à 1 %. Du bromure d'éthidium (2 µL) a également été incorporé dans le gel. L'électrophorèse a été réalisée à 90 V pendant 60 minutes. Le gel obtenu a été visualisé à l'aide d'un Trans-illuminateur UV avec une longueur d'onde de 320 nm et une intensité de 8000 µW/cm<sup>2</sup>. En outre, le programme ImageJ a été utilisé pour déterminer le pourcentage de protection offert par les extraits et la quercétine pour la forme d'ADN super-enroulé (Forme I) et la forme d'ADN fragmentée (Forme II).

### II.7.4 Évaluation *in vitro* de l'activité anticholinestérase

Les capacités inhibitrices de l'AChE et de la BChE ont été évaluées par spectrophotométrie. Chaque mélange réactionnel contenait 750 µL de tampon Na-K à 100 mM (pH 8,0), 50 µL de solutions de l'extrait à diverses concentrations ou de galantamine, et 100 µL de solution enzymatique (0,03 U/mL, dans un tampon Na-K à 100 mM, pH 8,0).

Les composants ont été mélangés puis incubés pendant 15 minutes à 25 °C. À ce mélange, 50 µL de DTNB à 3,3 mM et 50 µL d'iodure d'acétylcholine ou de chlorure de butyrylcholine à 1 mM ont été ajoutés. L'absorbance de chaque mélange a été mesurée à 412 nm. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour les deux extraits d'*A. vulgare* et la galantamine ont été calculées et sont exprimées en µg/mL (Ozen *et al.* 2022). L'IC<sub>50</sub> de l'AChE ou BChE a été déterminé par comparaison des absorbances d'échantillons par rapport à l'échantillon témoin (éthanol dans du tampon phosphate, pH 8) qui représentent l'activité enzymatique selon la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{(E - S)}{E} 100$$

Où : E : l'activité de l'enzyme sans extrait

S : l'activité de l'enzyme en présence de l'extrait

## II.7.5 Évaluation *in vivo* de l'activité cicatrisante

Le pouvoir cicatrisant des extraits de la plante (AVEA et AVEE) a été réalisée *in vivo* sur un modèle de plaie d'excision sur des rats Wistar albinos.

### II.7.5.1 Préparation de l'onguent

Lors de l'étude de l'activité cicatrisante, l'onguent a été préparé en mélangeant les extraits (AVEA et AVEE) avec de la vaseline (Unilever, France) à une concentration de 5 % pour obtenir les onguents suivants : OAVEA (Onguent *Arisarum vulgare* Extrait Aqueux) et OAVEE (Onguent *Arisarum vulgare* Extrait Ethanolique). La vaseline a été choisie parce qu'elle dépourvu de vertus thérapeutiques. Madecassol® (Bayer Healthcare, France) a été utilisé comme médicament de référence (MAD).

### II.7.5.2 Test de l'irritation cutanée

Le test a été conduit en conformité aux directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OECD 2015). Le but de cette étude est d'évaluer le potentiel d'irritation cutanée de l'onguent 5 % par voie topique. Les rats ont été rasés à l'aide d'un rasoir électrique sur le tronc et les zones latérales. Le côté gauche a servi de site d'essai, tandis que les zones non traitées de la peau de l'animal servant de témoin. Les différents onguents (OAVEA et OAVEE) ont été appliqués topiquement à raison de 0.5 g. Les animaux traités ont été observés durant la première heure, ensuite 4h et 24 heures puis une fois par jour pendant une période de 14 jours après l'application de l'onguent. Aux sites d'application, la peau a été observée pour des signes d'érythème, d'œdème et de blessure locale. L'irritation cutanée a été marquée et enregistrée selon une échelle de valeurs décrite dans l'OCDE 404 (2015) (Tableau 04). (OECD 2015)

**Tableau 4:** Classement des réactions cutanées.

<b>Formation d'érythème et d'escarre</b>	
Pas d'érythème	0
Érythème très léger (à peine perceptible)	1
Érythème bien défini	2
Érythème modéré à grave	3
Érythème grave (rouge violacé) à formation d'escarre empêchant la cotation de l'érythème	4

---

**Formation d'œdème**


---

Pas d'œdème	0
Œdème très léger (à peine perceptible)	1
Œdème léger (pourtour de la zone oedémateuse bien délimité par une enflure nette)	2
Œdème modéré (enflure d'environ 1 mm)	3
Œdème grave (enflure de plus de 1 mm s'étendant au-delà de l'aire exposée)	4

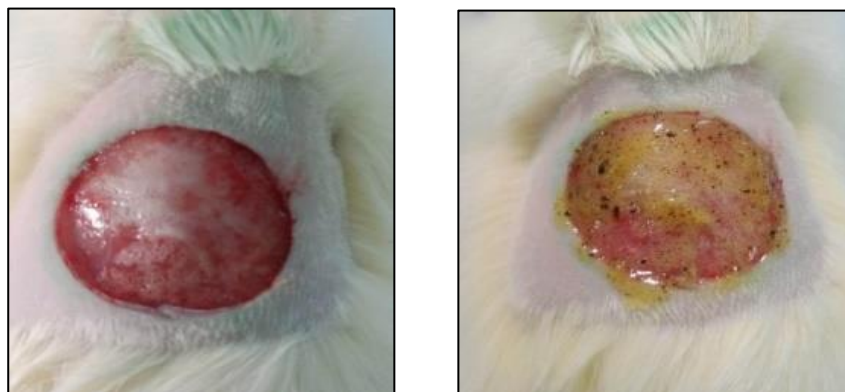
---

### II.7.5.3 Évaluation du potentiel cicatrisant de l'*Arisarum vulgare*

Le dos de chaque rat a été rasé avec un rasoir électrique. Les animaux ont été laissés dans leurs cages 24 heures pour vérifier l'absence d'irritation de la zone rasée (Chabane *et al.* 2021). Les animaux ont été répartis en 5 groupes de 5 rats chacun comme suit : le premier groupe non traité (NT), le deuxième groupe a été traité avec Madecassol<sup>®</sup>, médicament de référence (MAD), le troisième groupe a été traité avec la vaseline (VAS), le quatrième groupe traité avec OAVEA 5 % et le cinquième groupe a été traité avec l'OAVEE 5%.

### II.7.5.4 Induction des plaies d'excision, traitement et suivi de la cicatrisation

Les animaux ont été anesthésiés grâce à une injection de kétamine (90 mg/kg) et de xylazine (10 mg/kg) par voie intrapéritonéale (Mashreghi *et al.* 2013). Un cercle de 2,5 cm de diamètre a été tracé sur la peau de la région lombaire qui a ensuite été excisée. Les plaies ont été immédiatement traitées après l'excision par les différentes préparations (MAD, OAVEA 5 %, OAVEE 5 % et VAS). L'application a été réalisée par voie topique à raison de 0,5 g par rat une fois par jour jusqu'à une cicatrisation complète (Boudjelal *et al.* 2022) (Figure 06).



**Figure 6:** Plaie d'excision et application topique.

Le poids corporel des rats a été suivi chaque trois jours durant le traitement. Les dimensions des plaies d'excision ont été mesurées tous les 4 jours pendant la période d'essai, en traçant les plaies sur un papier transparent et en mesurant à travers le papier millimétrique (Chabane *et al.* 2021). Le pourcentage de l'évolution de la contraction de la plaie a été calculé

à l'aide de la formule suivante (Boudjelal *et al.* 2022):

$$\% \text{ Contraction de plaie} = \frac{\text{Taille initiale} - \text{Taille d'une journée spécifique}}{\text{Taille initiale}} \times 100$$

Les plaies ont été prises en photo tous les 5 jours afin de suivre la progression de la cicatrisation.

### **II.7.5.5 Les coupes histologiques**

A la fin de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et 1cm de la peau saine et cicatrisée a été prélevé par excision. Les échantillons de peau ont été fixés dans du formol (10%) pendant 72 h. Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire privé d'anatomopathologie a M'sila, sous la direction du Dr. Terfes. Les échantillons ont été déshydratés par passage dans trois bains d'éthanol successifs de 8h à 16h (70-75° ; 90-95° et 100°). Ensuite ils étaient éclaircis dans deux bains de xylène puis inclus dans la paraffine par deux bains successifs à 60°C.

L'inclusion définitive a été réalisée dans des moules métalliques contenant de la paraffine fondue par chauffage à 60°C. Après refroidissement, les blocs de paraffines obtenus sont coupés grâce à un microtome (LEICA RM 2145).

Les coupes de 5 µm d'épaisseur obtenues sont étalées sur des lames, séchées pendant 1 heure à 37°C puis réhydratées et colorées à l'hématoxyline-éosine. Les analyses de la peau ont été effectuées à l'aide d'un microscope Optika B-500BPL (40×) afin de vérifier les altérations des tissus (Marque 2010) .

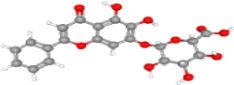
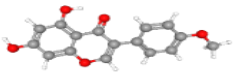
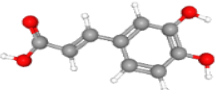
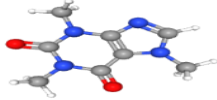
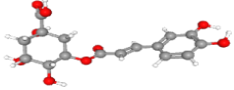
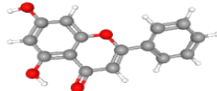
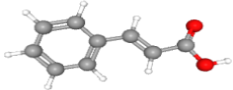
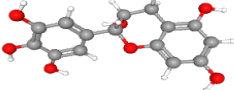
### **II.7.6 Évaluation *in silico* de potentiel thérapeutique**

Une étude de modélisation moléculaire utilisant la technique de docking moléculaire a été réalisée pour examiner le mode d'interaction le plus probable des composants phytochimiques identifiés dans les extraits d'*Arisarum vulgare* avec les sites actifs des protéines cibles impliquées dans le processus de cicatrisation et la maladie d'Alzheimer.

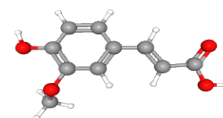
### II.7.6.1 Préparation des structures des ligands étudiés

Les structures initiales des ligands ont été modélisées en utilisant le programme Discovery Studio Visualizer V24.1.0 (BIOVIA 2024). Le tableau 05 illustre les structures des ligands étudiés qui sont enregistrés au format PDB.

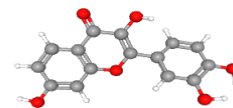
**Tableau 05** : Structures des ligands exploités

Ligands	Structure en 3D
Baicaline	
Biochanine A	
Acide caféique	
Caféine	
Acide Chlorogénique	
Chrysine	
Acide Cinnamique	
Epigallocatechine	

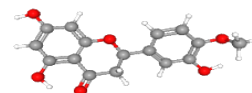
**Acide Férulique**



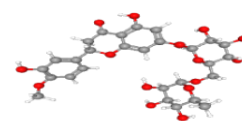
**Fisetine**



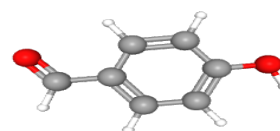
**Hespérétine**



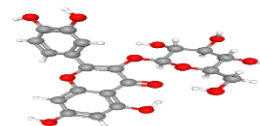
**Hespéridine**



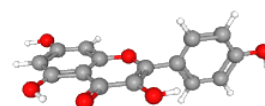
**Hydroxybenzaldehyde**



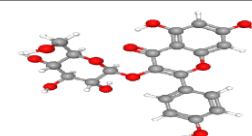
**Isoquercétrine**



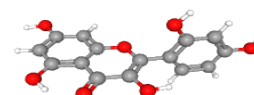
**Kaempférol**



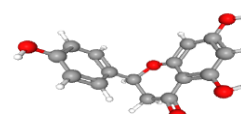
**Kaempferol -3-glucoside**



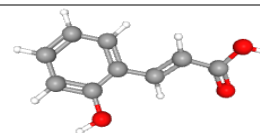
**Morine**



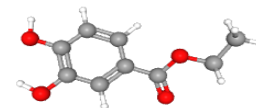
**Naringénine**



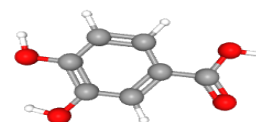
**Acide o-Coumarique**



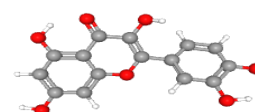
**Acide Ethyl Ester Protocatechuique**



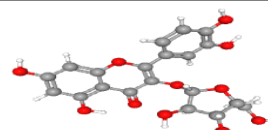
**Acide Protocatechuique**



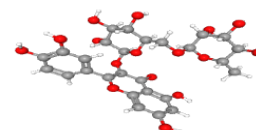
**Quercétine**



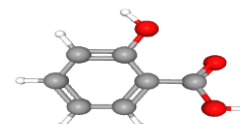
**Quercétine 3-xyloside**



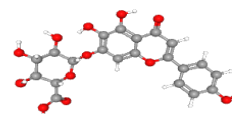
**Rutine**



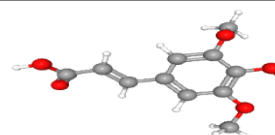
**Acide Salicylique**



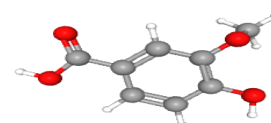
**Scutellarine**



**Acide Sinapique**



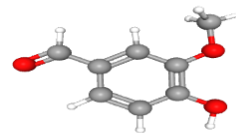
**Acide Vanillique**



---

## Vanilline

---



### II.7.6.2 Simulations de docking moléculaire

Le logiciel AutoDock Vina 1.2.0 a été utilisé pour réaliser les études d'amarrage moléculaire (Docking moléculaire) en utilisant l'interface graphique AutodockTools (Eberhardt et al., 2021). L'interaction entre la structure des composés polyphénoliques identifiés dans les deux extraits d'*A.vulgare* ainsi que les sept protéines, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  R-1 MMP-9, EGFR, AChE et BChE a été étudiée.

Les fichiers PDB des protéines ont été obtenus via la base de données PDB. Après avoir retiré les ligands et les molécules d'eau des structures protéiques, des atomes d'hydrogène ont été ajoutés à toutes les protéines cibles. Le processus de Docking avec AutoDock Vina comprend plusieurs étapes distinctes. Tout d'abord, un fichier PDBQT (Protein Data Bank, Partial Charge, Atom Type) est créé à partir du fichier PDB de la protéine. Ensuite, un fichier PDBQT est également préparé pour le ligand. Une fois les fichiers d'entrée de chaque protéine et des ligands sont prêts, l'espace en 3D que prendra en compte AutoDock est défini en créant une grille avec un centre (x, y, z) et un volume de (40, 40, 40) Å. La distance entre les points de la grille est de 0,575 Å. De ce fait, un fichier de paramètres est configuré pour le docking. La dernière étape consistera à analyser les scores de docking, calculés par le logiciel AutoDock Vina. Les conformations à faible énergie, considérées comme optimales, seront retenues pour la suite de notre étude (Eberhardt *et al.* 2021; Mathur *et al.* 2024).

## II.8 Analyses statistiques

Les résultats obtenus lors des différents tests sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ET pour les tests *in vitro* et moyenne  $\pm$  ESM pour les tests *in vivo* et les différences ont été considérées significatives à  $p \leq 0.05$ . Les comparaisons des résultats des contrôles et ceux des différents essais ont été fait par le test de Tukey pour les comparaisons multiples en utilisant le logiciel Graph Pad. Prism (version 8.00). Le test ANOVA univariée a été appliqué sur les résultats de l'activité cicatrisante et la signification intergroupe a été analysée à l'aide du test de Tukey.

# **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## RESULTATS ET DISCUSSION

### III.1 Analyse phytochimique

L'extraction assistée par ultrasons, respectueuse de l'environnement et connue pour son efficacité, permet une extraction plus rapide et plus complète des composés bioactifs, réduisant ainsi le temps d'extraction par rapport aux méthodes conventionnelles (Esclapez *et al.* 2011; Shen *et al.* 2023).

#### III.1.1 Rendement de l'extraction

L'extraction a donné des rendements de  $26.9 \pm 0.5 \%$  et  $34.2 \pm 0.48\%$  en matière sèche pour l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux respectivement.

#### III.1.2 Dosage des polyphénols totaux

Les extraits bruts d'*Arisarum vulgare* ont été analysés quantitativement pour déterminer leur contenu en polyphénols grâce à la méthode de Folin-Ciocalteu. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg EAG/g d'extrait sec en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Le tableau 06 présente des variations significatives dans la teneur en polyphénols totaux des extraits étudiés. Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux étaient de  $176,00 \pm 0,83$  mg EAG/g pour l'extrait éthanolique et  $199,43 \pm 0,87$  mg EAG/g pour l'extrait aqueux. Les résultats des dosages ont révélé que l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Arisarum vulgare* contient des concentrations plus importantes en polyphénols en comparaison avec l'extrait éthanolique. Il est scientifiquement prouvé que les espèces de la famille des *Aracées* sont riches en composés phénoliques (Silva *et al.* 2013; Azab 2017).

Cette observation souligne l'importance de l'extraction aqueuse, qui semble mieux préserver les composés bioactifs. Les différences notées entre les deux types d'extraits peuvent être attribuées à la polarité des solvants utilisés, influençant ainsi la solubilité et la récupération des polyphénols.

**Tableau 06 :** Teneurs en polyphénols totaux des deux extraits secs d'*A.vulgare* .

Extraits d' <i>A.vulgare</i>	Teneurs en polyphénols totaux (mg GAE/g)
Extrait éthanolique	$176.00 \pm 0.83$
Extrait aqueux	$199.43 \pm 0.87$

*Les données sont présentées sous la forme moyenne (n = 3) ± erreur standard.*

Plusieurs études ont montré l'effet du solvant sur la composition chimique d'extrait. La qualité du solvant joue un rôle crucial dans l'extraction des molécules d'intérêt (Mokrani and Madani 2016; Bontzolis *et al.* 2024). La solubilité des substances phénoliques est un phénomène complexe influencé par la nature chimique des composés, la polarité du solvant utilisé pour l'extraction, le degré de polymérisation et les interactions entre les différents composants. Comprendre ces facteurs est essentiel pour choisir les méthodes d'extraction et maximiser le rendement en composés bioactifs lors de l'analyse phytochimique (Mokrani and Madani 2016; Bontzolis *et al.* 2024).

L'eau et l'éthanol, ainsi que leurs combinaisons, sont couramment utilisés pour l'extraction des substances phénoliques en raison de leur faible toxicité et de leur coût abordable. Ces solvants offrent une alternative sûre par rapport à d'autres solvants organiques plus toxiques, ce qui les rend particulièrement attrayants pour les applications pharmaceutiques. Les solvants purs, tels que l'éthanol, présentent généralement une efficacité d'extraction inférieure par rapport aux solvants aqueux ou aux mélanges d'eau et d'éthanol (Islam *et al.* 2024). Cela s'explique par le fait que de nombreux composés phénoliques sont polaires et se dissolvent mieux dans des milieux contenant de l'eau (Dai and Mumper 2010). Cependant et dans notre cas, l'extraction des composés phénoliques totaux est meilleure en présence de solvant aqueux peut être expliquer par l'interférence des chlorophylles et d'autres composés avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Turkmen *et al.* 2006).

Il est intéressant de noter que les résultats obtenus étaient supérieurs à ceux rapportés par Aydin *et al.*, (2017) qui ont démontré que la teneur totale en polyphénols dans l'extrait éthanolique, est de  $53.4 \pm 2.01$  mg GAE/ mg plante sèche d'*A. vulgare* issue de la Turquie. De même Kadri *et al.*, (2013) ont observé que la teneur totale en polyphénols de l'extrait méthanolique d'*A. vulgare*, collectée dans le Parc National d'El Kala, était de  $449,53 \pm 9,2$  mg EGA/100g de matière sèche. Le taux en composés phénoliques peut être également influencés par d'autres facteurs, tels que la température, le temps d'extraction ainsi que la méthode d'extraction (Pandey *et al.* 2018).

### **III.1.3 Dosage des flavonoïdes totaux**

Les flavonoïdes ont été quantifiés par une méthode colorimétrique utilisant du chlorure d'aluminium. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg EQ/g d'extrait sec. En utilisant la quercétine comme standard .

L'extrait éthanolique a montré une teneur de  $81.21 \pm 0.91$  mg EQ/g, tandis que l'extrait aqueux a révélé une teneur de  $91.32 \pm 0.84$  mg EQ/g.

Les résultats des dosages ont révélé que l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Arisarum vulgare* contient des concentrations intéressantes en flavonoïdes par rapport à l'extrait éthanolique. En outre, la teneur en flavonoïdes la plus élevée de l'extrait aqueux peut être attribuée à la structure des flavonoïdes qui peuvent être sous la forme de glycosides et ainsi plus solubles dans l'eau (Xie *et al.* 2022).

Les composés phénoliques présentent une grande diversité chimique, allant des simples acides phénoliques aux flavonoïdes complexes. Leur solubilité dans un solvant donné dépend largement de leur structure moléculaire, notamment du nombre et de la position des groupes hydroxyles (-OH) sur le squelette carboné (Panche *et al.* 2016). Ces groupes hydroxyles sont polaires et peuvent former des liaisons hydrogène avec les solvants, facilitant ainsi leur extraction (Kumar and Pandey 2013).

Kadri *et al.*, (2013) ont trouvé que la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique d'*A. vulgare*, collectée dans le Parc National d'El Kala, était de  $195,08 \pm 15,48$  mg équivalents catéchine/100g de matière sèche. Cette concentration est faible par rapport à celles que nous avons obtenues. Selon les données de la littérature, nous notons que la teneur en flavonoïdes varie pour la même plante en fonction de sa région de récolte peut résulter des différences dans les conditions environnementales (comme le climat, le type de sol et l'altitude) qui influencent le métabolisme des plantes (Boutennoun *et al.* 2023).

**Tableau 7 :** Teneurs en flavonoïdes totaux des deux extraits secs d'*A. vulgare*.

Extraits d' <i>A. vulgare</i>	Teneurs en flavonoïdes totaux mg QE/g
Extrait éthanolique	$81.21 \pm 0.91$
Extrait aqueux	$91.32 \pm 0.84$

Les données sont présentées sous la forme moyenne ( $n = 3$ )  $\pm$  erreur standard.

#### III.1.4 Analyse des extraits d'*Arisarum vulgare* par HPLC- ESI-MS/MS

L'utilisation de l'analyse par HPLC- ESI-MS/MS est devenue indispensable pour séparer, identifier et mesurer les composés dans différents domaines, tels que la chimie analytique et la biologie. Les résultats obtenus grâce à cette approche sont extrêmement bénéfiques pour appréhender la composition chimique des extraits, ce qui permet d'établir des liens significatifs entre les données analytiques et les perspectives thérapeutique. Dans cette section, nous allons présenter les résultats obtenus lors des analyses HPLC- ESI-MS/MS effectuées sur les extraits aqueux et éthanoliques de la partie aérienne d'*A. vulgare*.

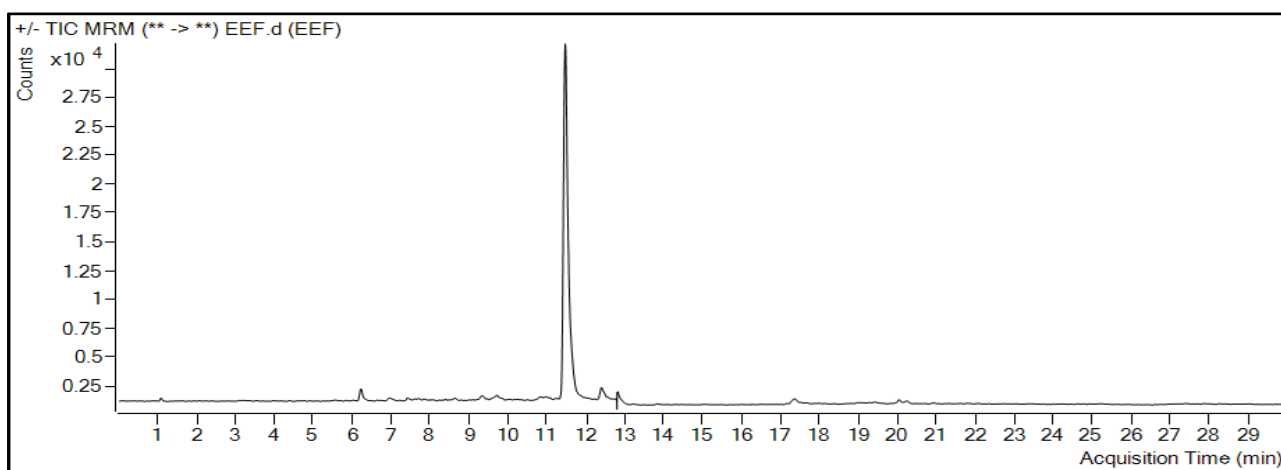
Les profils chromatographiques des extraits éthanoliques et aqueux d'*Arisarum vulgare* sont représenté au niveau des Figures 07 et 08 et les tableaux 08 et 09, respectivement

#### III.1.4.1 Analyse de l'extrait éthanolique d'*Arisarum vulgare* par HPLC- ESI-MS/MS

Le profil de l'extrait éthanolique révèle la présence de trois composants majeures détectées. Le chromatogramme a montré un pic distinct à un temps de rétention de 11.45 minutes, identifié comme la Rutine (11.856 mg/g d'extrait). Les pics restants ont montré une gamme de composés phénoliques, avec des composés notables tels que l'Hespéridine (4.125 mg/g d'extrait) et l'Isoquercitrine (1.327 mg/g d'extrait) (Figure 07).

De plus, de faibles quantités de divers polyphénols ont été observées, y compris l'acide coumarique, la baicaléine, l'acide syringique et la catéchine.

Dans le tableau 08, vingt-huit composés ont été identifiés dans l'extrait éthanolique, avec des temps de rétention allant de 3.2 à 18.04 minutes. Les flavonoïdes se sont révélés être la classe prédominante de phytochimiques détectée dans l'extrait éthanolique, suivis par les acides phénoliques.



**Figure 7 :** Chromatogrammes HPLC-ESI-MS/MS de l'extrait éthanolique d'*Arisarum vulgare*.

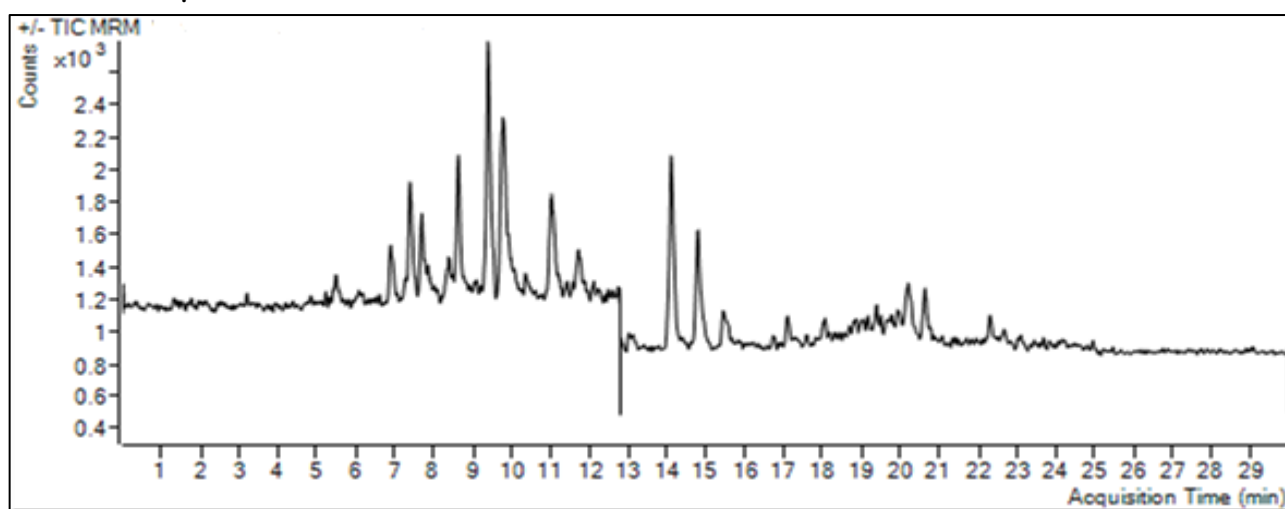
Tableau 8 : La composition chimique de l'extrait éthanolique d'*Arisarum vulgare*.

Compound	RT <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup> (m/z)	FI <sup>c</sup> (m/z)	Ion mode	mg/g DE <sup>d</sup>	Calibration equation	Correlation factor (R <sup>2</sup> )	Linear range (µg/mL)	LOQ <sup>f</sup> (ng/mL)	LOD <sup>g</sup> (ng/mL)	Recovery (%)
Galic acid	3.213	169.0	125.1	Negative	0.042	y = 78.09 x - 1269.76	0,9986	31.25-500	18,5862	7,1674	97.10
Protocatechuic acid	5.576	153.0	109.0	Negative	0.019	y = 60.76 x - 351.85	0,9969	15.625-250	13,1729	3,1564	93.40
Catechin	6.958	288.9	245.1	Negative	0.154	y = 1.62 x + 16.77	0,9946	343.750-5500	7,5013	1,7055	96.70
Chlorogenic acid	7.420	353.0	191.0	Negative	0.080	y = 43.40 x - 269.68	0,9981	31.25-500	25,9023	11,589	98.50
Hydroxybenzaldehyde	7.720	121.0	92.0	Negative	0.027	y = 147.07 x - 885.96	0,9993	15.625-250	12,8651	4,9742	99.20
Vanillic acid	7.836	167.0	151.8	Negative	0.005	y = 0.76 x - 123.14	0,9958	1250-20000	1424,213	219,04	92.10
Caffeic Acid	7.867	178.9	135.1	Negative	0.016	y = 75.90 x - 464.85	0,9994	31.25-500	24,1620	6,9205	98.60
Syringic acid	8.398	197.1	181.8	Negative	0.329	y = 0.66 x - 110.41	0,9990	1250-20000	857,3388	358,50	94.30
Vanillin	8.631	153.0	125.0	Positive	0.030	y = 226.09 x - 2389.43	0,9949	62,5-1000	40,5411	14,588	100.30
o-coumaric acid	9.346	137.0	93.1	Negative	0.039	y = 128.49x - 802.71	0,9981	112.5-1800	82,9646	47,669	99.80
Salicylic Acid	9.722	137.0	93.1	Negative	0.378	y = 58.76 x - 3013.89	0,9981	112.5-1800	82,9646	47,6695	99.85
Polydatine	9.858	163.0	119.1	Negative	0.002	y = 41.85x + 22598.13	0,9996	15.625-500	7,9973	4,0164	100.8
Trans-ferulic acid	10.088	193.1	193.1	Negative	0.066	y = 5.62 x - 94.33	0,9950	31.25-1000	11,5276	6,1184	98.14
Sinapic acid	10.408	223.1	208.0	Negative	0.028	y = 4.50 x - 70.63	0,9972	125-2000	4,9652	1,9437	93.30
p-coumaric acid	11.536	163.0	119.0	Negative	0.013	y = 22.85 x - 120.45	0,9987	31.25-500	17,5416	3,5348	100.30
Protocatechuic ethyl ester	11.481	181.0	107.9	Negative	0.002	y = 111.19 x - 628.43	0,9996	15.625-1000	24,9201	14,561	96.30
Hesperidin	11.444	611.0	302.9	Positive	4.125	y = 35.99x + 647.10	0,9957	31.25-500	17,6753	4,1396	92.40
Isoquercitrin	11.492	464.9	302.8	Positive	1.327	y = 244.70 x + 120.11	0,9982	18.75-300	11,2680	9,9382	101.00
Rutin	11.452	611.0	302.8	Positive	11.856	y = 7.59 x + 52.47	0,9980	125-2000	240,6720	59,559	98.90
Kaempferol-3-glucoside	13.173	448.8	286.9	Positive	0.005	y = 417.63x - 1087.18	0,9997	7.8125-125	4,5238	1,1609	98.00
Fisetin	13.234	287.0	137.0	Positive	0.020	y = 593.92x - 4511.11	0,9954	15.625-250	44,3662	10,896	95.00
Baicalin	13.822	446.8	270.9	Positive	0.006	y = 243.50 x - 604.24	0,9991	15.625-250	3,0988	0,5276	101.20
Chrysin	14.221	254.9	153.0	Positive	trace	y = 2949.22 x - 386.40	0,9989	1.5625-25	0,1338	0,0737	95.50
Naringenin	14.730	270.9	119.1	Negative	0.035	y = 39.09 x - 687.63	0,9960	31.25-500	0,4575	1,3694	95.50
Hesperetin	16.051	300.9	164.0	Negative	0.030	y = 35.95 x - 420.56	0,9966	31.25-500	0,6496	0,3008	100.10
Kaempferol	16.456	284.9	116.9	Negative	0.113	y = 1.05x - 60.75	0,9997	312.5-10000	5,4004	1,8683	102.10
Luteolin	17.362	285.0	133.1	Positive	0.234	y = 26.03x + 1523.92	0,9962	31.25-500	21,4535	20,000	102.40
Biochanin A	18.036	284.9	151.9	Positive	trace	y = 850.34 x - 175.57	0,9963	1.5625-25	0,7333	0,1475	101.10

### III.1.4.2 Analyse de l'extrait aqueux d'*Arisarum vulgare* par HPLC- ESI-MS/MS

L'analyse de l'extrait aqueux a montré l'existence de nombreux pics correspondant aux flavonoïdes et aux acides phénoliques (Figure08). Le Tableau 09 présente l'identification de vingt-sept composés dans l'extrait aqueux. Ces composés ont des temps de rétention allant de 5.4 à 17.88 minutes.

Certains des composés identifiés incluent l'acide caféique, l'acide vanillique, la naringénine, l'acide o-coumarique, l'acide salicylique, le kaempférol, l'acide trans-férulique, l'acide chlorogénique, l'acide trans-cinnamique et la quercétine. Les acides phénoliques ont été trouvés comme la classe phytochimiques la plus abondante dans l'extrait aqueux, avec les flavonoïdes en deuxième position.



**Figure 8 :** Chromatogrammes HPLC-ESI-MS/MS de l'extrait aqueux d'*Arisarum vulgare*.

Tableau 9: La composition chimique de l'extrait aqueux d'*Arisarum vulgare*.

Compound	RT <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup> (m/z)	FI <sup>c</sup> (m/z)	Ion mode	mg/g DE <sup>d</sup>	Calibration equation	Correlation factor (R <sup>2</sup> )	Linear range (µg/mL)	LOQ <sup>e</sup> (ng /mL)	LOD <sup>g</sup> (ng/mL)	Recovery (%)
Protocatechuic acid	5.483	153.0	109.0	Negative	0.055	y = 60.76 x -351.85	0.9969	15.63-250	13.17	3.16	93.40
Epigallocatechin	6.752	307.0	139.0	Positive	0.002	y = 138.42x - 137.10	0.9995	12.50-200	3.88	2.09	96.40
Chlorogenic acid	7.396	353.0	191.0	Negative	0.261	y = 43.40x - 269.68	0.9981	31.25-500	25.90	11.59	98.50
Hydroxybenzaldehyde	7.697	121.0	92.0	Negative	0.054	y = 147.07x - 885.96	0.9993	15.63-250	12.87	4.97	99.20
Vanillic acid	7.789	167.0	151.8	Negative	1.490	y = 0.76x - 123.14	0.9958	1250-20000	1424.21	219.04	92.10
Caffeic Acid	7.859	178.9	135.1	Negative	1.977	y = 75.90x - 464.85	0.9994	31.25-500	24.16	6.92	98.60
Caffein	8.412	195.0	137.9	Positive	0.005	y = 292.33 x +1350.23	0.9986	18.75-300	15.50	6.81	98.50
Vanillin	8.631	153.0	125.0	Positive	0.070	y = 226.09x - 2389.43	0.9949	62.50-1000	40.54	14.59	93.65
o-coumaric acid	9.401	163.0	119.1	Negative	1.097	y = 128.49x - 802.71	0.9981	15.63-500.0	82.97	47.67	100.30
Salicylic Acid	9.785	137.0	93.1	Negative	0.438	y = 5.62x - 94.33	0.9981	112.50-1800	82.97	47.67	99.85
Trans-ferulic acid	10.080	193.1	133.9	Negative	0.228	y = 4.50x - 70.638	0.9950	31.25-1000	11.53	6.12	98.14
Sinapic acid	10.432	223.1	208.0	Negative	0.051	y = 361.03x - 49.94	0.9972	125-2000	4.97	1.94	93.90
Scutellarin	11.031	462.8	286.8	Positive	0.029	y = 111.19x - 628.43	0.9978	9.36-300	4.00	3.13	99.60
Protocatechuic ethyl ester	11.692	181.0	107.9	Negative	0.012	y = 244.70x + 120.11	0.9996	15.63-1000	24.92	14.56	96.30
Isoquercitrin	11.734	464.9	302.8	Positive	0.020	y = 4.08x - 8.97	0.9982	18.75-300	11.27	9.94	99.80
Quercetin-3-Ksilozid	12.433	432.7	299.5	Negative	0.005	y = 417.63x - 1087.18	0.9900	125-2000	69.41	18.71	91.20
Kaempferol-3-glucoside	13.021	448.8	286.9	Positive	0.010	y = 593.92x - 4511.11	0.9997	7.81-125	4.52	1.16	98.00
Fisetin	13.318	287.0	137.0	Positive	0.015	y = 243.50x - 604.24	0.9954	15.63-250	44.37	10.90	95.00
Baicalin	13.519	271.0	270.9	Positive	0.005	y = 2949.22x - 386.40	0.9991	15.63-250	3.10	0.53	101.20
Chrysin	14.364	254.9	153.0	Positive	trace	y = 0.31x + 1532.89	0.9989	1.56-25	0.13	0.07	95.10
Trans-cinnamic acid	14.104	149.0	131.1	Positive	0.311	y = 47.94x + 704.81	0.9999	31.25-500	22.03	11.19	100.00
Quercetin	14.746	300.8	151.0	Negative	0.059	y = 29.11x - 801.90	0.9964	27.50-440	16.91	4.66	101.80
Naringenin	14.805	270.9	119.1	Negative	0.751	y = 39.09x - 687.63	0.9960	31.25-500	0.46	1.37	95.50
Hesperetin	15.571	300.9	164.0	Negative	0.023	y = 35.95x - 420.56	0.9966	31.25-500	0.65	0.30	93.00
Morin	15.685	302.8	153.0	Positive	trace	y = 3146.76x - 450.44	0.9981	1.56-50	0.53	0.13	100.10
Kaempferol	16.759	284.9	116.9	Negative	0.116	y = 1.05x - 60.75	0.9997	312.50-10000	5.40	1.87	102.10
Biochanin A	17.884	284.9	151.9	Positive	trace	y = 850.34x - 175.57	0.9963	1.56-25	0.73	0.15	101.10

### III.2 Évaluation pharmacologique (*in vivo*, *in vitro* et *in silico*)

L'analyse des vertus phytothérapeutiques des plantes, en particulier celles moins connues ou utilisées de manière sporadique, représente un enjeu essentiel pour la recherche en médecine traditionnelle. Les polyphénols, en tant que composés bioactifs majeurs présents dans de nombreuses espèces végétales, suscitent un intérêt croissant en raison de leurs multiples activités biologiques et pharmacologiques. En effet, ces molécules sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et même anti-cancérigènes (Atanasov et al., 2015 ; Fraga et al., 2019 ; Hassanpour & Doroudi, 2023a). Leur efficacité repose sur leur capacité à interagir avec diverses cibles biologiques, notamment en neutralisant les radicaux libres et en modulant les voies de signalisation cellulaire.

#### III.2.1 Étude de l'activité antioxydante *in vitro*

De nombreuses enquêtes ont rapporté les puissantes propriétés antioxydantes des plantes médicinales en raison de leur riche teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes qui sont bien connus pour leurs activités antioxydantes (Wink 2015). Dans la présente étude, nous avons évalué l'activité antioxydante de deux extraits de la parties aérienne d'*A. vulgare*.

##### III.2.1.1 Activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH

Le DPPH est le radical libre largement utilisé comme modèle pour estimer la capacité antioxydante des plantes (Mareček *et al.* 2017). L'évaluation de la capacité des deux extraits la plante à piéger le radical libre DPPH a été évalué en utilisant la méthode décrite par Li et al. (2009).

L'activité anti-radicalaire estimée par la valeur IC<sub>50</sub>, exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration en DPPH de 50%, plus la valeur IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydante est grande. On note que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante plus efficace supérieure à celle de l'extrait éthanolique (IC<sub>50</sub>= 93.20±10.26 µg/mL et 142.60 ± 5.52µg/mL respectivement).

**Tableau 10:** IC<sub>50</sub> de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux et éthanoliques de *A. vulgare* et du standard vis-à-vis du radical DPPH.

	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	Acide Ascorbique
DPPH (µg/mL)	142.60 ± 5.52***	93.20 ± 10.26**	30.34 ± 2.96

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n=3). \**p* ≤ 0.01; \*\**p* ≤ 0.01 ; \*\*\**p* ≤ 0.001 lorsque les IC<sub>50</sub> des extraits sont comparés avec le standard.

### III.2.1.2 Activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical ABTS•+

A partir des valeurs obtenues, des  $IC_{50}$  des deux extraits et l'antioxydant standard (Acide Ascorbique) ont été calculés. Au vu de ces résultats, on s'aperçoit que les deux extraits de la plante investiguée possèdent des activités antioxydantes qui varient considérablement d'un extrait à un autre, L'extrait aqueux s'est montré le plus actif ( $IC_{50} = 165.20 \pm 1,88 \mu\text{g/mL}$ ) (Tableau 11).

En général, les extraits bruts de la plante étudiée ont montré une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait éthanolique de la même plante d'origine la Turquie qui a rapporté une valeur  $IC_{50}$  de  $1.075 \pm 1.04 \text{ mg/mL}$ . Le choix de la méthode d'extraction est un paramètre clé qui affecte de manière significative l'efficacité du potentiel antioxydant.

De plus, la nature du solvant, la température et le temps d'extraction affectent considérablement l'efficacité de l'extraction et l'activité antioxydante des extraits obtenus, ainsi cette variation peut être liée à l'origine géographique de la plante (Deghima *et al.* 2020).

**Tableau 11** :  $IC_{50}$  de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux et éthanoliques de *A. vulgare* et du standard vis-à-vis du radical ABTS .

	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	Acide Ascorbique
<b>ABTS (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	$236.10 \pm 0.22^{***}$	$165.20 \pm 1,88^{***}$	$13.01 \pm 1.28$

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD ( $n=3$ ).  $*p \leq 0.01$ ;  $**p \leq 0.01$  ;  $***p \leq 0.001$  lorsque les  $IC_{50}$  des extraits sont comparés avec le standard.

Les travaux de Kadri *et al.*, (2013) ont montré que l'extrait hydro-méthanolique des graines d'*A. vulgare* issu de la région d'El Kala possède une activité antioxydante puissante, comme le démontrent les tests anti oxydants  $ABTS^+$  et DPPH ( $1300.8 \pm 66.21 \text{ mg}$  et  $991.2 \pm 55.45 \text{ mg}$ , exprimés en capacité antioxydante équivalente à la vitamine C). Par conséquent, il ne pouvait pas être comparé à nos résultats en raison des différences dans la partie de la plante étudiée, la méthode d'extraction, le solvant et le standard de référence.

L'activité antioxydante d'*Arisarum vulgare* est due à la présence des composés phénoliques dans ces extraits qui contribuent à leur effet antioxydant. Ces derniers sont des composés issus du métabolisme secondaire des plantes et qui assurent plusieurs fonctions chez la plante. Ces composés sont considérés comme molécules bioactives (effets thérapeutiques) pour leurs activités : anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, antibactérienne, et antioxydant (Fraga *et al.* 2019; Smeriglio *et al.* 2020; Ahmed *et al.* 2024). En effet, la plupart des effets pharmacologiques exercés par les polyphénols sont liées à leur potentiel antioxydant agissant comme des agents scavenger des radicaux libres, des chélateurs des ions de transition et des

agents réducteurs puissants (Deghima *et al.* 2020; Hassanpour and Doroudi 2023b). Leur fonction est attribuée à leurs propriétés redox, qui leur confèrent la capacité d'agir soit en tant qu'agents réducteurs (donateurs d'hydrogène), soit en tant que chélateurs de métaux (Rice-Evans *et al.* 1996). De nombreuses études ont montré que les groupes hydroxyles dans les composés phénoliques et flavonoïdes sont à l'origine de leur capacité antioxydante. Ces groupes hydroxyles sont essentiels pour permettre à ces molécules de neutraliser les radicaux libres susceptibles de provoquer des lésions cellulaires, contribuant ainsi à leur activité antioxydante (Wink 2015; Hassanpour and Doroudi 2023b).

En se basant sur les résultats obtenus, il est possible de conclure que l'extrait aqueux renferme le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport à l'extrait éthanolique. Cela est directement lié à sa plus grande teneur en antioxydants phénoliques notamment les acides phénoliques.

En effet, Les polyphénols agissent principalement par leur pouvoir réducteur et leur affinité pour les protéines ainsi que pour les ions métalliques, ce qui leur confère des propriétés antioxydantes bien établies (Rice-Evans *et al.* 1996).

Ces mécanismes d'action sont cruciaux dans la prévention des dommages oxydatifs au niveau cellulaire et tissulaire. De plus, leur capacité à inhiber l'oxydation dans des contextes physiologiques et pathologiques souligne leur potentiel thérapeutique dans la lutte contre diverses maladies chroniques (Ou *et al.* 2021). En intégrant ces composés dans des approches phytothérapeutiques, il est possible d'explorer de nouvelles avenues pour le traitement et la prévention de maladies telles que le cancer, les troubles inflammatoires et les maladies neurodégénératives (Atanasov *et al.* 2015). Ainsi, la recherche continue sur les polyphénols pourrait non seulement enrichir notre compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents mais aussi favoriser l'innovation dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur la richesse phytogénétique (Gurib-Fakim 2006).

### **III.2.2 Activité antibactérienne**

Les molécules de synthèse chimique, bien qu'elles aient révolutionné la médecine moderne, ne répondent plus aux attentes croissantes des consommateurs qui recherchent des alternatives plus saines et moins nocives pour leur santé et leur environnement. Dans ce contexte, les plantes médicinales émergent comme une solution prometteuse pour lutter contre diverses maladies infectieuses causées par des bactéries, des champignons, des levures ou des virus. Les extraits de plantes présentent un rapport effet thérapeutique/toxicité souvent favorable, ce qui en fait des candidats idéaux pour le développement de nouveaux traitements (Nortjie *et al.* 2022). L'analyse des effets antimicrobiens des plantes médicinales et aromatiques

a suscité un intérêt croissant, notamment en raison de la recherche de solutions naturelles face aux défis posés par les agents pathogènes. De nombreuses études se concentrent sur l'utilisation de divers solvants, qu'ils soient organiques ou dits "verts", pour extraire les composés bioactifs des plantes (Dorman and Deans 2000).

L'évaluation du potentiel antimicrobien des extraits éthanoliques et aqueux d'*Arisarum vulgare* a été réalisée sur plusieurs microorganismes, mettant en lumière l'efficacité de ces extraits contre divers agents pathogènes. La sensibilité des microorganismes testés a été déterminée par l'apparition de zones d'inhibition, qui reflètent l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires présents dans ces extraits. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 12, où les diamètres des zones d'inhibition sont exprimés en millimètres pour chaque souche testée. Cette approche permet non seulement d'évaluer l'efficacité antimicrobienne des extraits, mais aussi de comprendre les interactions complexes entre les composés phytothérapeutiques et les microorganismes.

Tous les organismes testés étaient sensibles aux extraits d'*A. vulgare*, bien que dans des degrés variés. Les trois concentrations utilisées ont montré une bonne efficacité contre tous les microorganismes testés. En examinant ces résultats, il ressort que, même pour la plus faible concentration à savoir 5 mg/ml, les deux extraits sont révélés actifs envers tous les microorganismes testés mais avec des degrés de sensibilité différents. Cependant, 15 mg/ml était la plus efficace. L'effet antibactérien était contre *Enterococcus faecium* ( $36.00 \pm 0.10$  mm), *Staphylococcus aureus* ( $27.00 \pm 0.25$  mm), *Salmonella typhimurium* ( $24.00 \pm 0.20$  mm), *Escherichia coli* ( $22.00 \pm 0.10$  mm) pour l'extrait éthanolique ; et *Enterococcus faecium* ( $36,00 \pm 0,10$  mm), *Staphylococcus aureus* ( $30.00 \pm 0.20$ ), *Escherichia coli* ( $28.00 \pm 0.25$ ) , *Salmonella typhimurium* ( $22.00 \pm 0.10$ ) pour l'extrait aqueux. La taille des zones d'inhibition présentait une corrélation directe avec la concentration de l'extrait dans les disques, indiquant une activité dépendante de la concentration. De plus, l'efficacité variait en fonction de la souche spécifique de bactéries testée.

Les paramètres d'inhibition (CMI et CMB) permettent non seulement de valider, mesurer et comparer les activités, mais aussi de préciser la nature de l'effet observé par un extrait sur un micro-organisme spécifique. Les tableaux 13 et 14 présentent les résultats réalisés avec les extraits éthanoliques et aqueux.

**Tableau 12 :** Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits éthanoliques et aqueux d'*A.vulgare* et la Gentamicine .

Micro -organismes	Concentration (mg/mL)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
		Extrait éthanolique	Extrait aqueux	DMSO	Gentamicine (10 mg)
<b>E. coli, ATCC 8739</b>	5	09.00± 0.30 <sup>a, b</sup>	12.00 ± 0.30 <sup>a,b</sup>	- <sup>c</sup>	21.75 ±0.30
	10	14.00 ± 0.70 <sup>a, b</sup>	20.00 ± 0.30 <sup>a,b</sup>		
	15	22.00 ± 0.10 <sup>a</sup>	28.00 ± 0.25 <sup>a</sup>		
<b>S. typhimurium, ATCC 14028</b>	5	8.00 ± 0.70 <sup>a, b</sup>	8.00 ± 0.30 <sup>a,b</sup>	- <sup>c</sup>	23.00 ±0.01
	10	16.00 ± 0.20 <sup>a, b</sup>	13.50 ± 0.10 <sup>a,b</sup>		
	15	24.00 ± 0.20 <sup>a</sup>	22.00 ± 0.10 <sup>a</sup>		
<b>S. aureus, ATCC 6538</b>	5	10.00 ± 0.30 <sup>a, b</sup>	15.00 ± 0.10 <sup>a,b</sup>	- <sup>c</sup>	25.75 ±0.01
	10	23.00 ± 0.30 <sup>a</sup>	23.00 ± 0.30 <sup>a</sup>		
	15	27.00 ± 0.25 <sup>a</sup>	30.00 ± 0.20 <sup>a</sup>		
<b>E. feacium, ATCC 19434</b>	5	20.00 ± 0.10 <sup>a, b</sup>	21.00 ± 0.30 <sup>a,b</sup>	- <sup>c</sup>	31.5 ± 0.70
	10	29.00 ± 0.30 <sup>a</sup>	28.00 ± 0.10 <sup>a</sup>		
	15	36.00 ± 0.10 <sup>a</sup>	37.00 ± 0.70 <sup>a</sup>		

Le diamètre des zones d'inhibition (mm), y compris le diamètre du puits (6 mm), est donné en moyenne ± écart-type (n = 3). <sup>a</sup>: P < 0,001 par rapport au contrôle négatif (DMSO), <sup>b</sup>: P < 0,05 par rapport au contrôle positif (gentamicine), <sup>c</sup> : ne montre aucune zone d'inhibition.

Les résultats ont indiqué que les bactéries Gram-positives montraient une plus grande sensibilité aux deux extraits d'*A.vulgare* que les pathogènes Gram-négatifs. Ces résultats soutiennent des études antérieures indiquant que les extraits de plantes présentent une plus grande efficacité contre les bactéries gram-positives par rapport aux bactéries gram-négatives. La valeur de 15 mg/mL a été choisie pour évaluer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en se basant sur les résultats obtenus lors du test de diffusion sur disque. Le test de microdilution en bouillon a démontré que la CMI de l'extrait éthanolique contre *E. feacium*, *S. aureus*, *S. typhimurium* et *E. coli* était de 15,62 µg/mL. La CMB de l'extrait éthanolique d'*A. vulgare* contre *S. typhimurium*, *E. coli*, et *E. faecium*, *S. aureus* était de 62.50 et 31.25 µg/m (tableau 13).

Pour l'extrait aqueux, la CMI obtenue varie de 31.25 à 62.5 µg/mL pour les bactéries Gram négatif et les bactéries Gram positif. Toutefois la CMB montre une valeur de 62.5 µg/mL pour les bactéries Gram positif et les bactéries gram négatif sauf contre *Enterococcus feacium* l'extrait aqueux monte une CMB de 125 µg/mL (tableau 14).

**Tableau 13 :** Détermination de CMI et de CMB de l'extrait éthanolique d'*A.vulgare*.

Nom de la souche microbienne	CMI µg/mL	CMB µg/mL
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	15.625	62.5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	15.625	62.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	15.625	31.25
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	15.625	31.25

CMI = Concentration minimale inhibitrice, CMB = Concentration minimale bactéricide

**Tableau 14 :** Détermination de CMI et de CMB de l'extrait aqueux d'*A.vulgare*.

Nom de la souche microbienne	CMI µg/mL	CMB µg/mL
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	31.25	62.5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	31.25	62.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	31.25	62.5
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	62.5	125

CMI = Concentration minimale inhibitrice, CMB = Concentration minimale bactéricide

Comme indiqué précédemment, il existe peu d'études sur l'activité antibactérienne d'*A.vulgare* pour réaliser une comparaison. La seule étude disponible, réalisée par Aydin et al. (2017), a révélé que les extraits éthanoliques (parties souterraines et aériennes) avaient une activité antibactérienne variant de 50 à 100 µg/mL (Aydin *et al.* 2017). Des concentrations plus élevées d'extraits ont entraîné une réduction de la viabilité des cellules bactériennes, et une inhibition marquée de la croissance de *S. aureus* a été notée avec les extraits souterrains d'*A.vulgare* (CMI < 50 µg/mL).

Ces résultats étaient supérieurs à ceux de notre étude. La variation des effets de la plante peut s'expliquer par des facteurs tels que la partie de la plante utilisée, la méthode d'extraction et les composés phytochimiques obtenus (Nikom Srikacha 2020).

D'après Baccouri et ses collègues (2007), divers éléments environnementaux, tels que la localisation géographique, la température, la diversité des variétés, la durée du jour, les éléments nutritifs, etc., ont un impact significatif sur la composition chimique des extraits issus des végétaux. Ces éléments ont un impact sur les processus de biosynthèse de la plante, ce qui a une influence sur la proportion relative des composés cruciaux (Baccouri *et al.* 2007).

La tolérance des bactéries aux polyphénols est un phénomène complexe influencé par l'espèce bactérienne et la structure chimique des polyphénols. Comprendre ces interactions est essentiel pour développer des applications biotechnologiques exploitant les propriétés antimicrobiennes des polyphénols (Fraga *et al.* 2019).

Selon Radulovic *et al.*, (2013), la membrane des bactéries à Gram positif est facilement traversée par les polyphénols, leur permettant d'atteindre leur site d'action. Ces polyphénols ont été démontrés comme capables de détruire la membrane plasmique, d'affecter la force motrice des protons et de perturber le transport des électrons, ce qui active l'évacuation des contenus cellulaires. En revanche, les bactéries à Gram négatif présentent généralement une résistance accrue aux agents antimicrobiens (Radulovic *et al.* 2013). Cette résistance est due à la réduction de la perméabilité de leur membrane externe, qui entoure la paroi cellulaire, aux agents antibactériens hydrophobes. La structure lipopolysaccharidique de cette membrane joue un rôle clé dans cette résistance, et son efficacité dépend de la composition lipidique ainsi que de la charge nette extérieure des membranes microbiennes.

Les deux extraits d'*A. vulgare* présentent des propriétés antibactériennes, probablement attribuées à divers composés phytochimiques, y compris les flavonoïdes et les composés phénoliques. De nombreuses recherches scientifiques ont montré un lien clair et direct entre les produits chimiques phénoliques et leur capacité à inhiber efficacement la croissance des bactéries (Akter *et al.* 2023; Hasnat *et al.* 2024; Chalkha *et al.* 2024).

La rutine, l'hespéridine et l'isoquercitrine, les principaux composés présents dans l'extrait éthanolique, ont démontré une capacité notable à inhiber la prolifération des micro-organismes. Ils ont efficacement entravé la croissance bactérienne et perturbé la formation de biofilm (Valentová *et al.* 2014; Ivanov *et al.* 2022; Ji *et al.* 2024). L'effet antimicrobien observé serait alors attribuable à une ou plusieurs molécules actives, présentes en forte ou en faible proportion dans l'extrait éthanolique.

L'activité de l'extrait aqueux est probablement due à la présence de plusieurs composés connus pour leurs activités antimicrobiennes en tant que constituants majoritaires ou minoritaires comme l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide o-coumarique, la naringénine, l'acide salicylique, l'acide trans-cinnamique, l'acide chlorogénique, l'acide trans-ferulique et le kaempférol, peut être aussi associée aux effets synergiques entre les acides phénoliques et les flavonoïdes (Panche *et al.* 2016; Baessa *et al.* 2019; Hasnat *et al.* 2024).

Les données obtenues pourraient ouvrir la voie à l'utilisation de *Arisarum vulgare* comme source potentielle de nouveaux agents antimicrobiens naturels, contribuant

ainsi à la lutte contre les infections résistantes aux antibiotiques et à la promotion de solutions thérapeutiques plus durables et respectueuses de l'environnement.

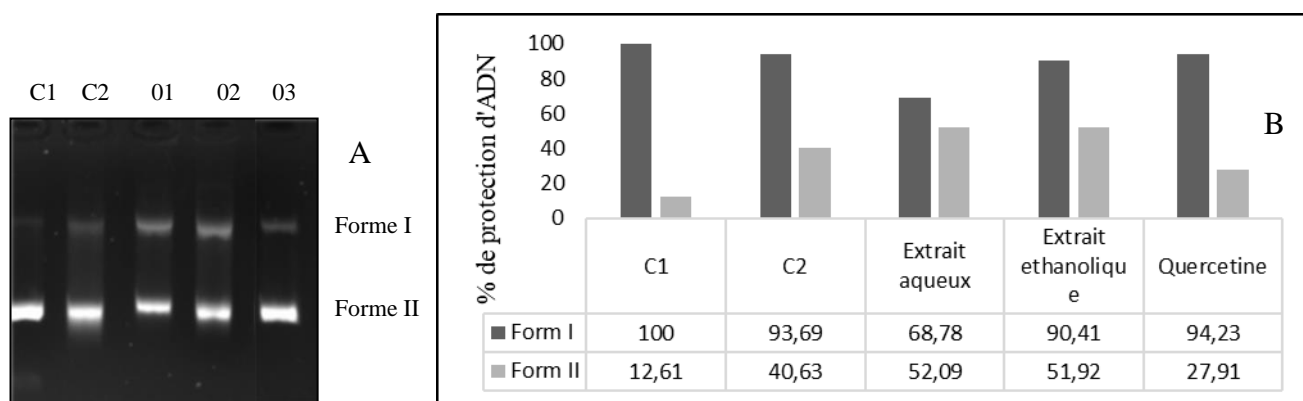
### **III.2.3 Activité protectrice d'ADN**

L'effet protecteur d'ADN de l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux des parties aériennes d'*Arisarum vulgare* a été analysé en milieu anaérobie pour évaluer son effet protecteur sur l'ADN plasmidique, en se concentrant sur ses interactions avec les formes I et II de l'ADN. Cette analyse vise à déterminer si les métabolites secondaires présents dans les deux extraits peuvent prévenir les dommages à l'ADN causés par des agents oxydants ou d'autres stress environnementaux. (Figure 09).

L'électrophorèse sur gel a révélé deux formes distinctes d'ADN plasmidique : la forme I, correspondant à de l'ADN circulaire super-enroulé, qui se déplace rapidement, et la forme II, représentant de l'ADN linéarisé, qui se déplace plus lentement. Cette distinction est cruciale pour évaluer l'intégrité et la protection de l'ADN face à des agents oxydants. Les résultats montrent que le contrôle positif, ainsi que les extraits éthanolique et aqueux d'*Arisarum vulgare*, ainsi que la quercétine, exhibent une activité protectrice plus marquée pour la forme I que pour la forme II. En particulier, l'introduction de l'extrait éthanolique d'*A. vulgare* dans un mélange réactionnel contenant du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a démontré une protection significative contre les dommages à l'ADN circulaire super-enroulé, atteignant un taux de protection de 90.41 %. De plus, l'activité protectrice des extraits aqueux (52.09 %) et éthanoliques (51.92 %) était significativement supérieure à celle de la quercétine (27.91 %), comme illustré dans la Figure 09.

Ces résultats soulignent non seulement le potentiel des extraits d'*A. vulgare* en tant qu'agents protecteurs de l'ADN, mais également leur efficacité par rapport à des composés connus comme la quercétine. À notre connaissance, il s'agit du premier rapport dans la littérature évaluant l'effet protecteur des deux extraits de la partie aérienne d'*Arisarum vulgare*, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour leur utilisation dans des applications phytothérapeutiques et médicinales.

L'évaluation des effets des polyphénols sur l'intégrité de l'ADN est d'une importance cruciale dans le contexte de la santé humaine. Lorsque l'ADN subit des dommages, cela peut compromettre la fonction cellulaire et conduire à des conséquences graves telles que le cancer ou la mort cellulaire. Ces dommages peuvent résulter de divers facteurs, notamment des agents biologiques, des toxines et des produits chimiques (Chatterjee and Walker 2017). Les mécanismes de réparation de l'ADN sont essentiels pour restaurer les séquences de nucléotides à leur état original, permettant ainsi à la cellule de maintenir son intégrité génétique (Dizdaroglu and Jaruga 2012).



**A.** Image d'électrophorèse sur gel d'agarose, C1: Contrôle négatif, C2: Contrôle positif, 01: extrait aqueux, 02: extrait éthanologique, 03: Quercétine.

**B.** L'intensité (%) de la protection d'ADN, la Forme I (ADN superenroulé), la Forme II (ADN linéarisé)

**Figure 9 :** Activité protectrice de l'ADN des deux extraits d'*A. vulgare*.

Les polyphénols, qui englobent une vaste gamme de composés phénoliques, jouent un rôle protecteur significatif vis-à-vis de l'ADN (Kourti *et al.* 2023). Parmi les principaux constituants des extraits éthanologiques et aqueux d'*Arisarum vulgare*, on trouve des acides phénoliques et des flavonoïdes, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à neutraliser les radicaux libres. Cette activité antioxydante est cruciale pour prévenir les dommages oxydatifs à l'ADN, contribuant ainsi à la protection de son intégrité (Lopez 2023). Le potentiel protecteur de l'ADN peut être attribué soit à un constituant spécifique, soit à l'effet synergique de plusieurs phytochimiques présents dans ces extraits (Azqueta and Collins 2016). En effet, les interactions complexes entre ces composés peuvent renforcer leur efficacité globale contre les agents nocifs. Cette synergie pourrait expliquer pourquoi les extraits d'*A. vulgare* montrent une activité protectrice significative contre les dommages induits par des agents oxydants tels que le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, comme en témoignant les résultats d'électrophorèse sur gel. Ainsi, la recherche sur les propriétés phytothérapeutiques d'*Arisarum vulgare* pourrait non seulement enrichir notre compréhension des mécanismes de protection de l'ADN mais aussi ouvrir la voie à de nouvelles approches thérapeutiques basées sur des extraits naturels pour prévenir ou traiter les maladies liées aux dommages à l'ADN.

Les résultats obtenus fourniront des informations précieuses sur l'efficacité des extraits d'*Arisarum vulgare* en tant qu'agents protecteurs de l'ADN, ouvrant ainsi la voie à des recherches futures sur leur utilisation dans la médecine préventive et curative. En intégrant ces données dans un cadre plus large d'études phytothérapeutiques, nous pourrions mieux

comprendre comment ces plantes peuvent contribuer à la santé humaine tout en minimisant les risques associés à l'utilisation de produits chimiques synthétiques.

### III.2.4 Activité anti Alzheimer

L'activité anticholinestérase des extraits d'*Arisarum vulgare* a été évaluée à l'aide de l'approche colorimétrique d'Ellman, en utilisant les enzymes acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE). Cette étude vise à déterminer le potentiel thérapeutique de cette plante dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. Les résultats obtenus sont les premières données documentées sur l'activité anticholinestérase d'*A. vulgare*, illustrées dans le tableau 15.

**Tableau15** : IC<sub>50</sub> de l'activité anticholinestérase des extraits aqueux et éthanoliques de *A. vulgare* et du standard.

Échantillons	Activité anticholinestérase (IC <sub>50</sub> (µg/mL))	
	AChE	BChE
<b>Extrait éthanolique</b>	89.9 ±18,76 <sup>***</sup>	98.28 ±44.68 <sup>***</sup>
<b>Extrait aqueux</b>	95.12 ±16,01 <sup>***</sup>	101.33 ±30.15 <sup>***</sup>
<b>Galantamine</b>	164.54 ± 8.35	171.26 ± 8.3

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n=3). \*\*\*p ≤ 0.001 lorsque les IC<sub>50</sub> des extraits sont comparés avec le standard.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> indiquent que l'extrait éthanolique, l'extrait aqueux et le médicament de référence ont une activité inhibitrice potentielle du cholinestérase. L'extrait éthanolique d'*A.vulgare* semble avoir une activité anticholinestérase plus importante que l'extrait aqueux. De plus, les deux extraits d'*A.vulgare* ont montré une inhibition AChE et BChE plus élevée et significative que la galantamine. (Tableau 15). La galantamine est utilisée comme inhibiteur de l'AChE pour augmenter les quantités d'acétylcholine naturellement présentes dans le corps, ainsi la galantamine diffère des autres inhibiteurs par son mécanisme à double action : en plus d'inhiber l'AChE et la BChE, elle provoque une modulation allostérique des récepteurs présynaptiques nicotiniqes, ce qui augmente la libération de neuromédiateurs (Gali and Bedjou 2019).

Les inhibiteurs enzymatiques jouent un rôle crucial dans le traitement de divers troubles tels que la maladie d'Alzheimer, le diabète sucré, l'obésité, le glaucome, la gastrite, les ulcères et les problèmes de peau. Ces inhibiteurs ciblent l'AChE, la BChE, l'α-amylase, l'α-glucosidase, la lipase, l'anhydrase carbonique (CA), l'urase et la tyrosinase. De nombreuses recherches ont montré des preuves que les composés naturels et leurs dérivés peuvent traiter efficacement la maladie d'Alzheimer en supprimant les enzymes AChE et BChE (Yenigun *et al.* 2024) .

Les flavonoïdes sont reconnus comme des antioxydants naturels prometteurs, capables d'éliminer les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène.(Li *et al.* 2021a) Leur structure chimique, caractérisée par des cycles conjugués et des groupes hydroxyles, joue un rôle clé dans leur action antioxydante (Heim *et al.* 2002) . Ces composés, dérivés de diverses sources naturelles, possèdent également des propriétés pharmaceutiques variées, notamment la suppression de l'activité de la cholinestérase et l'inhibition de l'agrégation du peptide amyloïde- $\beta$  (A $\beta$ ), ce qui est particulièrement pertinent dans le contexte de la maladie d'Alzheimer (Gajendra *et al.* 2024) .

Les substances bioactives provenant des plantes, notamment les polyphénols, montrent un potentiel prometteur en tant qu'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE), surpassant souvent l'efficacité des médicaments de synthèse. Parmi ces composés, les flavonoïdes tels que la rutine, l'héspéridine et l'isoquercitrine, présents dans les extraits éthanoliques d'*Arisarum vulgare*, ainsi que d'autres constituants comme l'acide caféique, l'acide vanillique, et le kaempférol, ont été identifiés comme des inhibiteurs efficaces de l'AChE (Panche *et al.* 2016; Wira Waskitha *et al.* 2023). Ces molécules jouent un rôle crucial dans le traitement de la maladie d'Alzheimer en améliorant la transmission cholinergique, ce qui est essentiel pour atténuer les symptômes cognitifs associés à cette pathologie.

Les flavonoïdes sont particulièrement intéressants en raison de leurs propriétés neuroprotectrices. Leur structure chimique, comprenant des cycles conjugués et des groupes hydroxyles, est associée à leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à réduire le stress oxydatif ; cela contribue non seulement à la protection des neurones mais aussi à la prévention des dommages à l'ADN, qui peuvent être exacerbés par des agents oxydants. En outre, ces composés peuvent également interférer avec l'agrégation du peptide amyloïde- $\beta$  (A $\beta$ ), un processus clé dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer (Tamilselvam *et al.* 2013; Valentová *et al.* 2014; Ganeshpurkar and Saluja 2017; Losada-Barreiro *et al.* 2022; Sun *et al.* 2023).

En inhibant l'anticholinestérase, ces produits naturels contribuent à rétablir les niveaux d'acétylcholine dans le cerveau, ce qui est crucial pour améliorer les fonctions cognitives .

De plus, l'utilisation de composés naturels comme inhibiteurs de l'AChE présente des avantages significatifs par rapport aux traitements synthétiques(Liu *et al.* 2017). Non seulement ils ciblent efficacement l'enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine, mais ils offrent également des propriétés neuroprotectrices supplémentaires(Hasnat *et al.* 2024). Cette combinaison d'effets pourrait non seulement améliorer la cognition à court terme, mais aussi contribuer à la protection des neurones contre les dommages oxydatifs et l'inflammation (Wang

et al. 2014; Gajendra et al. 2024). Ainsi, ces produits naturels représentent une avenue prometteuse pour le développement de traitements plus sûrs et potentiellement plus efficaces contre la maladie d'Alzheimer, en particulier dans les stades précoces où les récepteurs cholinergiques sont encore fonctionnels (Mutha et al. 2021).

Dans cette étude, la présence significative de flavonoïdes et d'acides phénoliques dans les extraits d'*Arisarum vulgare* souligne leur potentiel thérapeutique dans la lutte contre la maladie d'Alzheimer. Ces composés bioactifs sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, les effets inhibiteurs sur l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase .

En combinant ces propriétés antioxydantes et anticholinestérases, *A. vulgare* pourrait offrir une approche complémentaire aux traitements conventionnels, renforçant ainsi l'intérêt pour son utilisation dans la médecine traditionnelle et moderne. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de traitements phytothérapeutiques basés sur cette plante prometteuse.

### **III.2.5 Évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo***

#### **III.2.5.1 Test d'irritation cutané**

D'après les résultats de cette étude, les différents onguents à base d'extraits d'*Arisarum vulgare* n'ont pas entraîné de signes d'inflammation, comme l'érythème ou l'oedème, sur le dos des rats. Ces observations permettent de conclure que les extraits éthanoliques et aqueux d'*A. vulgare* peuvent être considérés comme non irritants pour la peau, conformément aux directives de l'OCDE n° 404. L'absence de sensibilité cutanée laisse entendre que ces extraits pourraient être utilisés sans danger dans des formulations topiques, ce qui renforce leur potentiel pour des utilisations thérapeutiques dermatologiques.

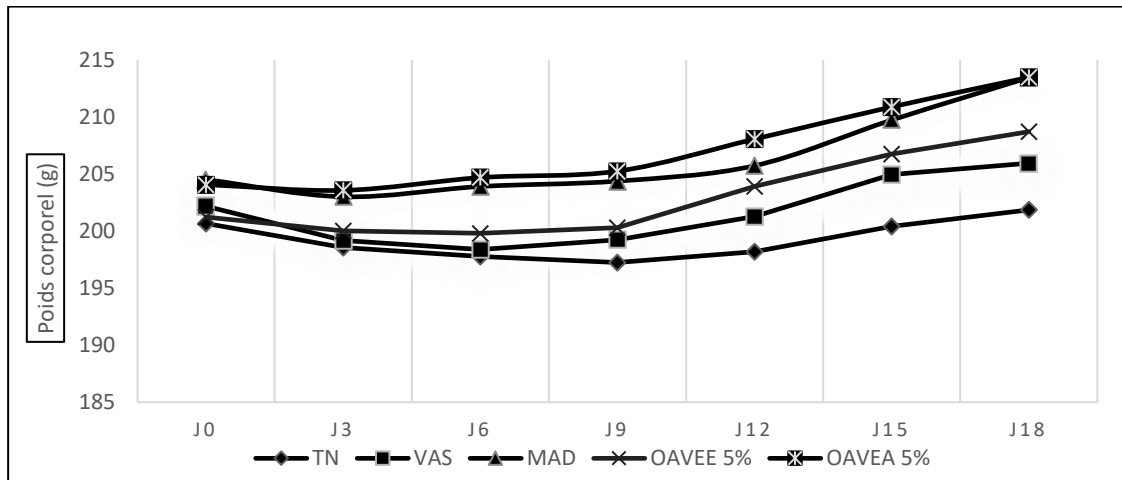
Ces résultats incitent également à continuer les études sur les propriétés pharmacologiques de *A. vulgare*, en particulier en tant qu'anti-inflammatoire ou cicatrisant.

#### **III.2.5.2 Variations du poids des animaux**

La surveillance régulière du poids corporel permet d'évaluer non seulement l'état général de santé des rats mais aussi l'impact potentiel des traitements sur leur métabolisme. La fluctuation du poids corporel chez les rats, qu'ils soient non traités ou traités avec différentes formulations (MAD, VAS et onguents d'*A. vulgare*), a été enregistrée tous les trois jours tout au long de l'expérience, permettant ainsi le suivi de l'effet des traitements. (Figure 10) .

La légère perte de poids observée après l'excision peut être considérée comme une réponse physiologique normale au stress chirurgical, où le corps mobilise ses ressources pour initier le processus de guérison .

Par la suite, une prise de poids normale a été constatée dans tous les groupes, y compris le groupe non traité. Cette reprise du poids témoigne d'une absence d'effets indésirables significatifs dus aux traitements appliqués. Cela est encourageant pour l'utilisation des onguents d'*Arisarum vulgare*, suggérant qu'ils n'ont pas perturbé le métabolisme normal des rats.



**Figure 10 :** Évolution du poids corporel des rats non traités (NT), traités par Madecassol® (MAD), vaseline (VAS), les onguents des extraits éthanoliques (OAVEE 5%) et par les onguents des extrait aqueux (OAVEA 5 %) d' *Arisarum vulgare* .

### III.2.5.3 Évolution du processus cicatriciel des plaies

Les propriétés cicatrisantes des plantes de la famille des Aracées, notamment d'*Arisarum vulgare*, sont bien établies dans la médecine traditionnelle ( Sakul et al., 2023). Utilisée depuis longtemps pour le traitement des plaies, la partie aérienne de cette plante est souvent appliquée localement pour favoriser la guérison. Dans les pratiques traditionnelles, les extraits de cette plante sont préparés sous forme d'infusions ou d'onguents, qui sont ensuite appliqués sur les blessures pour accélérer le processus de cicatrisation et réduire le risque d'infection.

L'utilisation de modèles *in vivo* dans les études scientifiques permet de valider ces applications traditionnelles en fournissant des données empiriques sur l'efficacité cicatrisante des extraits d'*A. vulgare*. Ces modèles permettent d'évaluer non seulement la vitesse de guérison des plaies, mais aussi les mécanismes biologiques impliqués, tels que la régénération cellulaire et l'inflammation. En démontrant l'efficacité de cette plante dans un cadre expérimental, les

résultats renforcent son utilisation dans la médecine traditionnelle et ouvrent la voie à des recherches plus approfondies sur ses composés bioactifs.

Des mesures régulières de la surface des plaies ont été effectuées à intervalles précis et accompagnées de photographies pour évaluer l'évolution des cicatrices. L'activité cicatrisante a été quantifiée en fonction du pourcentage de contraction de chaque plaie, tant pour les animaux traités que pour ceux non traités.

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité ni autre signe de maladie (diarrhée, manque d'appétit.) n'a été observée chez les rats. Les observations visuelles quotidiennes pendant 20 jours (Figure 11) indiquent la présence des signes d'inflammation (rougeur et fièvre) autour de la plaie chez les rats des différents groupes les premiers jours qui suivent l'excision de la peau. Ces signes disparaissent rapidement pour les lots traités par MAD, OAVEE 5% et OAVEA 5%, et persistent quelques jours pour le reste des groupes (NT et VAS). Selon la figure 15, l'évolution du processus cicatriciel des plaies est observée à partir du 6<sup>ème</sup> jour et s'accélère jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour.

Selon le tableau 16, on remarque qu'une modification significative du pourcentage de contraction des plaies est observée durant les quatre premiers jours qui suivent l'excision pour les groupes traités avec le médicament de référence et les onguents d'*A.vulgare*, et qu'aucune modification est observée chez le groupe traité avec la vaseline jusqu'au 16<sup>ème</sup> jour.

A partir du 8<sup>ème</sup> jour, tous les rats traités par le médicament de référence (MAD) et les deux onguents d'*A.vulgare* (OAVEE 5% et OAVEA 5%) ont montré un pourcentage de contraction très significative de la zone de la plaie par rapport aux groupes non traités (NT) ( $p \leq 0.001$ ). Il n'y a pas de différence significative entre les groupes traités avec les préparations de l'onguent et du médicament de référence MAD. L'OAVEA 5% a prouvé son efficacité dans le processus de cicatrisation avec  $98.32 \pm 0.43\%$  de contraction des plaies d'excision chez le rat, ce qui était mieux que  $98.25 \pm 0.25\%$  obtenu avec le médicament de référence MAD et l'OAVEE 5% avec un pourcentage de contraction de  $96.90 \pm 0.42\%$ . Plusieurs études ont examiné le rôle des métabolites secondaires dans la protection de la peau et la réparation de différents types de blessures en raison de leurs effets antibactériens, antioxydants et régénérateurs des tissus (Casadiego *et al.* 2023). L'effet thérapeutique des composés phénoliques est étroitement corrélé à leur structure chimique et à leurs mécanismes d'action. D'après les données de la littérature, il existe une synergie entre les composés chimiques, tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes identifiés dans l'extrait aqueux d'*A.vulgare*.

**Tableau 16 :** L'évolution du pourcentage de contraction des plaies pour les groupes non traités et ceux traités avec VAS, MAD, et les onguents d'*Arisarum vulgare* (OAVEE 5% et OAVEA 5%).

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  SEM ( $n = 5$ ),  $*P \leq 0.05$ ,  $**p \leq 0.01$ ,  $***p \leq 0.001$  lorsque les groupes traités sont comparés au groupe NT

Les composés détectés incluent des constituants majoritaires ou minoritaires tel que l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide l'o-coumarique, la naringénine, l'acide salicylique, l'acide trans-cinnamique, l'acide chlorogénique, l'acide trans-férulique et le kaempférol, tous

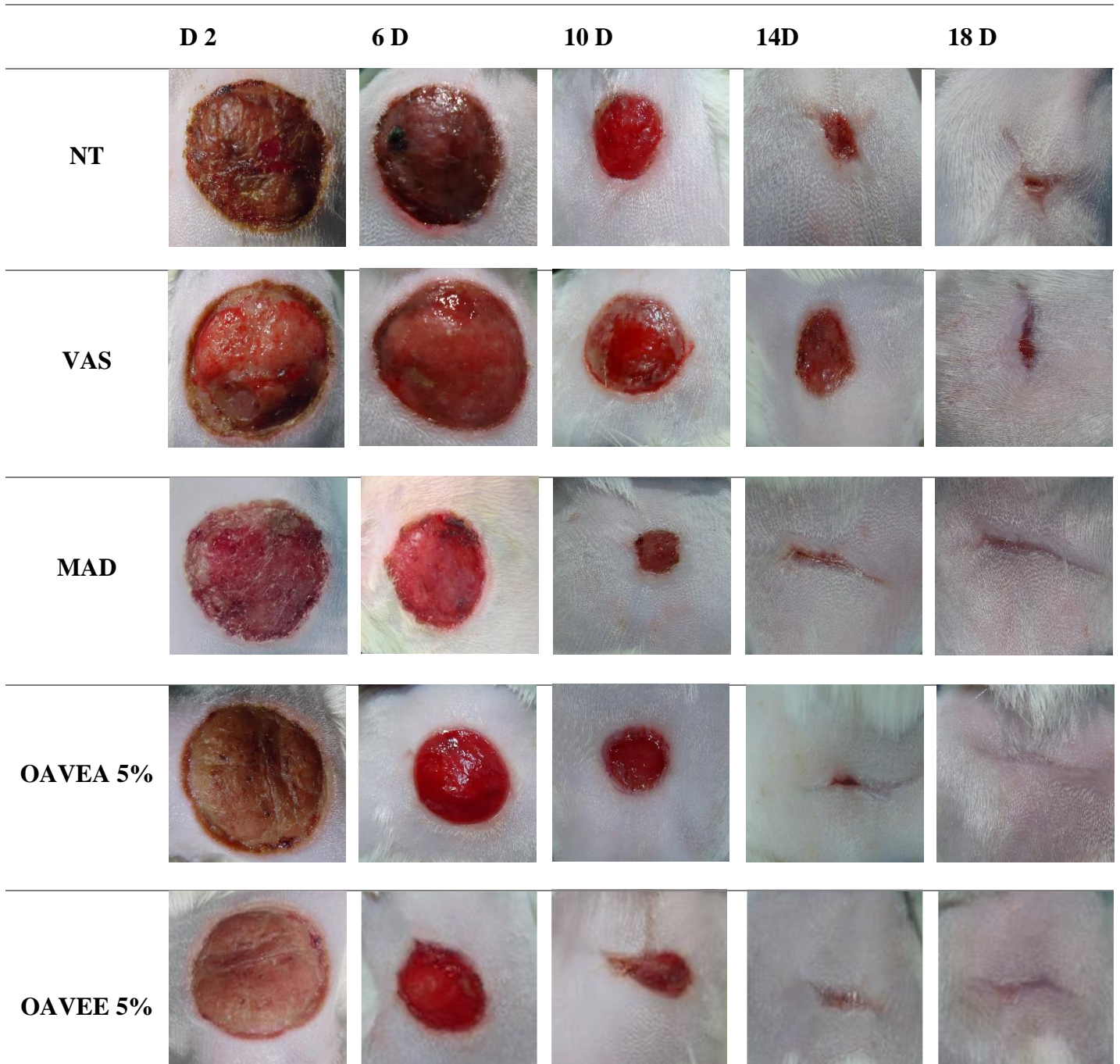
Groupes	Pourcentage des plaies (%)				
	Nombre de jours				
	4	8	12	16	20
NT	5.76 $\pm$ 0.16	15.52 $\pm$ 0.42	38.32 $\pm$ 0.40	43.76 $\pm$ 0.16	55.36 $\pm$ 0.37
VAS	4.48 $\pm$ 0.43	13.04 $\pm$ 0.41	33.92 $\pm$ 0.62	50.24 $\pm$ 0.51*	62.08 $\pm$ 0.26**
MAD	7.53 $\pm$ 0.66*	35.00 $\pm$ 0.41***	63.20 $\pm$ 0.49***	88.60 $\pm$ 0.38***	98.25 $\pm$ 0.25***
OAVEE 5%,	7.60 $\pm$ 0.41*	22.40 $\pm$ 0.43***	50.08 $\pm$ 0.39***	75.92 $\pm$ 0.50***	96.90 $\pm$ 0.42***
OAVEA 5%	8,32 $\pm$ 0,67*	29,64 $\pm$ 0,6***	62,86 $\pm$ 0,44***	89,6 $\pm$ 0,53***	98.32 $\pm$ 0.43***

montrant divers effets thérapeutiques, réduisant le stress oxydatif, la réponse inflammatoire, et favorisant la cicatrisation des plaies et le processus de régénération (Velkov *et al.* 2007; Dai and Mumper 2010; Koilpillail 2014; Baessa *et al.* 2019; Chen *et al.* 2020; Ingole *et al.* 2021; Sun *et al.* 2023; Kim *et al.* 2023a). De plus, ces molécules montrent une progression significative de la cicatrisation des plaies chez les rats, tout en stimulant efficacement la production d'enzymes antioxydantes et en modulant les cytokines inflammatoires dans les plaies (Venkadakrishnan *et al.* 2024). En parallèle, les composés trouvés en plus grande quantité dans l'extrait éthanoliques était la rutine, qui a été documentée pour réduire la réponse inflammatoire au stress oxydatif, améliorer le processus de cicatrisation des plaies et atténuer la probabilité des ulcères de plaies (Ganeshpurkar and Saluja 2017). Les hydrogels incorporant de la rutine ont été étudiés pour leur efficacité à améliorer la cicatrisation des plaies lorsqu'ils sont appliqués topiquement sur la peau dans des modèles animaux (Pivec *et al.* 2019). De plus, des recherches indiquent que la rutine améliore considérablement la guérison retardée des plaies chez les rats hyperglycémiques (Chen *et al.* 2020; Yoon *et al.* 2022). D'autre part, l'héspéridine a prouvé son efficacité en tant qu'antioxydant, cicatrisant, antibactérien et anti-inflammatoire (Yoon *et al.* 2022; Ji *et al.* 2024). Il a été découvert que l'héspéridine améliore le mouvement des fibroblastes dermiques et accélère le processus de réépithélialisation chez les souris. De plus, cela a accéléré

les processus biologiques impliqués dans la cicatrisation des plaies, y compris l'angiogenèse et la production de collagène (Lee and Yoon 2022). L'isoquercitrine, une forme glycosidique prédominante de la quercétine et la rutine possèdent diverses actions pharmacologiques telles que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et de cicatrisation des plaies (Bhatia *et al.* 2016). La catéchine, la lutéoline, le kaempférol, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, l'acide salicylique et l'acide o-coumarique sont des composés phénoliques présents dans l'extrait éthanolique. On les qualifie d'antioxydants organiques puissants qui ont un effet significatif sur de nombreuses caractéristiques biologiques et pharmacologiques, comme les effets anticancéreux, anti-inflammatoires, antimicrobiens et de cicatrisation des plaies (Venkadakrishnan *et al.* 2024).

Le stress oxydatif et l'infection microbienne ralentissent généralement le processus de cicatrisation des plaies (Rhimi *et al.* 2019; Mssillou *et al.* 2022). Dans cette perspective, les antioxydants et les agents antimicrobiens comme les polyphénols stimulent l'activité des enzymes antioxydantes et protègent les tissus contre les effets de l'oxydation. Cette action coordonnée aide à accélérer le processus de guérison et provoque le processus de la cicatrisation (Iyyam Pillai *et al.* 2010). Des recherches antérieures ont démontré que les produits médicaux exercent leurs effets biologiques en activant plusieurs voies et en ciblant plusieurs phases cruciales du processus de cicatrisation des plaies. Ces étapes incluent l'angiogenèse, qui se réfère au développement de nouveaux vaisseaux sanguins, la déposition de fibres de collagène est le processus de dépôt de fibres de collagène ; et la réépithélialisation, qui est la régénération de la couche épithéliale (Akhtari *et al.* 2024).

Les polyphénols présents dans ses extraits jouent un rôle clé en stimulant la contraction des plaies et en favorisant la réépithélialisation, ce qui est essentiel pour une cicatrisation efficace (Lu *et al.* 2021). En outre, ces composés bioactifs encouragent la production de facteurs de croissance, tels que le VEGF, qui soutiennent le processus de guérison en améliorant l'angiogenèse et l'apport sanguin aux tissus lésés (Andjić *et al.* 2021). Les propriétés cicatrisantes d'*Arisarum vulgare* sont bien ancrées dans la médecine traditionnelle, où cette plante est utilisée pour favoriser la guérison des plaies. Par conséquent, la composition botanique d'*Arisarum vulgare* indique que ses extraits possèdent un potentiel de guérison significatif, probablement attribué à la présence de composés phénoliques, qui fournissent de puissantes activités antioxydantes et antibactériennes.



**Figure 11 :** Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision chez le groupe non traités (NT), traités par Madecassol® (MAD), vaseline (VAS), les onguents des extraits aqueux (OAVEA 5%) d' *A. vulgare* et des extraits éthanoliques (OAVEE 5%).

#### III.2.5.4 Coupes histologiques

À travers la coloration à l'Hématoxyline, il est possible d'observer l'organisation structurale de la peau. Les résultats de l'analyse des coupes histologiques des échantillons traités et non traités sont illustrés dans la figure 12. Cette analyse permet de comparer les zones

cicatricielles chez les rats (traités ou non) avec une zone saine sur la même coupe histologique d'un échantillon donné.

Un épiderme normal est composé d'une couche de cellules basales, suivie de deux ou parfois trois couches de cellules intermédiaires, couronnées par trois couches de cellules granuleuses. Le derme, un tissu conjonctif, est généralement relâché en surface et plus dense en profondeur. Il contient de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques, des nerfs, des terminaisons nerveuses libres et corpusculaires sensibles, ainsi que diverses annexes cutanées issues de l'épiderme et réparties sur la peau(Cioce *et al.* 2024).

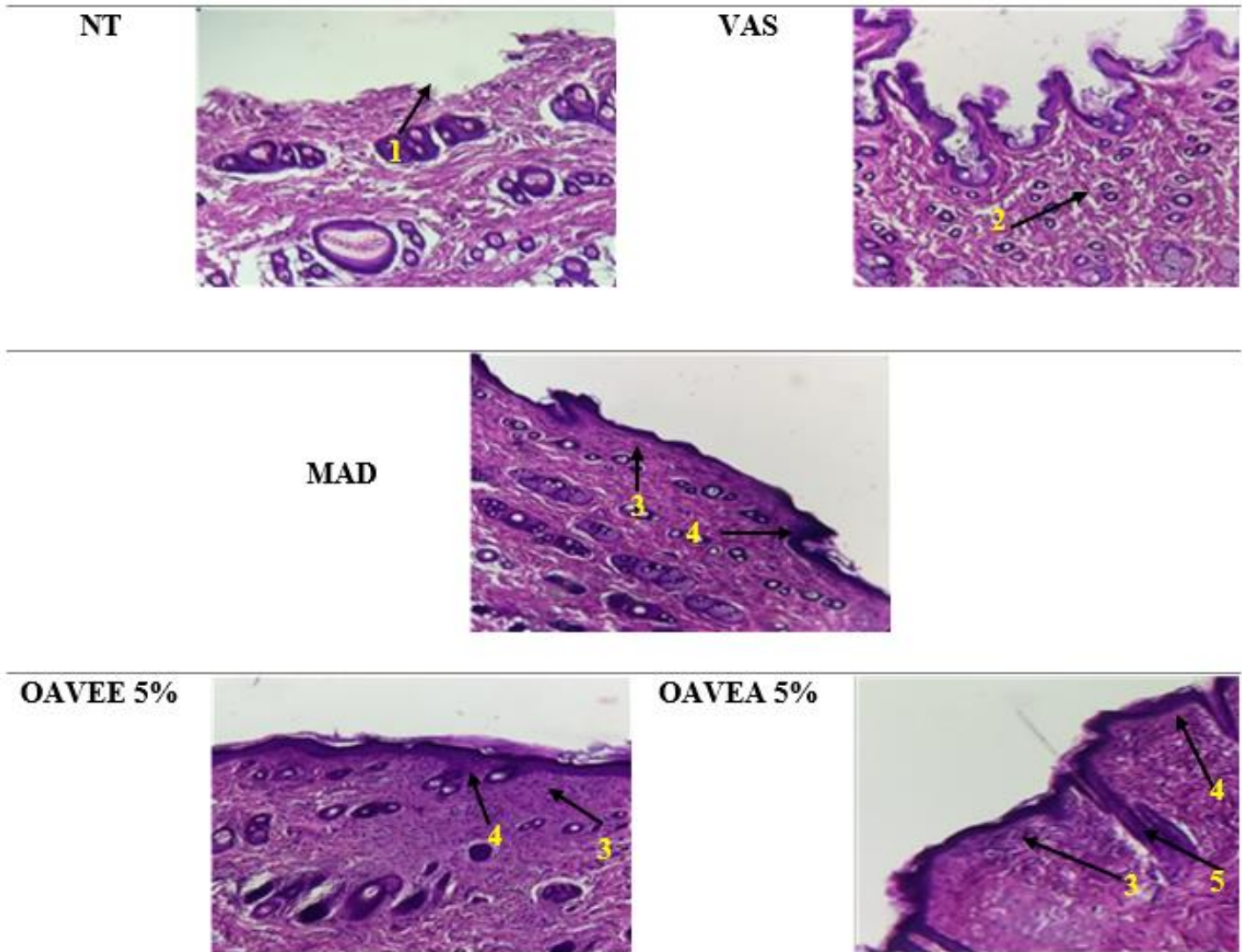
Les coupes histologiques des groupes NT et VAS ont révélé la présence de cellules inflammatoires, une moindre quantité de dépôts de collagène et une maturation incomplète du derme et de l'épiderme. En comparaison avec la peau saine, la réépithélialisation semble incomplète. Cela suggère que, bien que la plaie se contracte, la vaseline ne possède pas de propriétés thérapeutiques significatives. En effet, la vaseline peut inhiber l'évaporation de l'eau de la plaie durant la cicatrisation, créant un environnement humide qui favorise la réparation de la peau et la régénération des tissus endommagés. Toutefois, son utilisation peut entraîner une altération et une destruction des tissus (DJerrou , 2011).

Le processus de cicatrisation des plaies après excision chez les rats a été significativement renforcé par les onguents OAVEE 5% et OAVEA 5% générés à partir de la plante *Arisarum vulgare*. Les groupes thérapeutés (MAD, OAVEE 5% et OAVEA 5%) ont présenté une augmentation du réservoir de collagène et une réépithélialisation totale lors de l'examen histologique. Avec une concentration d'OAVEA de 5%, les effets les plus positifs ont été observés. Ce traitement a eu un effet significatif sur la granulation et l'épithélialisation des plaies, stimulé la réparation tissulaire et minimisé la durée de la cicatrisation.

Les remèdes à base de plantes ont montré la capacité de stimuler l'angiogenèse, d'augmenter la croissance des fibroblastes et de faciliter le développement d'une matrice extracellulaire provisoire. En effet, des recherches supplémentaires ont indiqué que les extraits de plantes contribuent à une contraction accélérée des plaies par plusieurs mécanismes en raison de leur capacité à exhiber des propriétés antibactériennes et à éliminer les espèces réactives de l'oxygène(Akhtari *et al.* 2024; Riaz *et al.* 2024). Cela inclut la prévention des infections, la réduction de l'inflammation, la promotion de la formation de tissu de granulation et la facilitation de la déposition de collagène. En abordant ces aspects critiques de la cicatrisation des plaies, les extraits de plantes peuvent favoriser une fermeture des plaies plus rapide et plus efficace (Babenko *et al.* 2023; Zulkefli *et al.* 2023; Gounden and Singh 2024)

Dans ce contexte, l'action cicatrisante de l'extrait aqueux d'*A.vulgare* (OAVEA 5%) est susceptible être attribuée aux impacts synergiques des composants polyphénoliques , principalement des acides phénoliques et des flavonoïdes (l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide l'o-coumarique, la naringénine, l'acide salicylique, l'acide trans-cinnamique, l'acide chlorogénique, l'acide trans-ferulique , le kaempférol et la quercétine). L'activité cicatrisante de l'extrait éthanolique d'*A.vulgare* (OAVEE 5%) est probablement due aux constituants bioactifs, principalement les flavonoïdes (rutine, hespéridine et isoquercitrine) identifiées dans l'extrait éthanolique, qui peuvent optimiser la synthèse du collagène, favoriser la croissance de nouvelles cellules cutanées, améliorer le développement du tissu de granulation et enrichir la formation vasculaire (Hu *et al.* 2023; Vendrame *et al.* 2024; Cedillo-Cortezano *et al.* 2024).

Cette étude met en lumière l'importance de valider les connaissances traditionnelles par des recherches scientifiques rigoureuses. Les résultats obtenus ouvrent la voie à des investigations plus approfondies sur les mécanismes d'action des composés bioactifs présents dans *A. vulgare*, ce qui pourrait non seulement confirmer son utilisation dans la médecine traditionnelle, mais aussi encourager son intégration dans des formulations thérapeutiques contemporaines. En explorant davantage ces propriétés, il est possible de développer des alternatives naturelles aux traitements conventionnels, offrant ainsi de nouvelles options pour la gestion des plaies et d'autres affections cutanées.



1: épiderme incomplet ; 2:derme incomplet; 3: collagène; 4: derme complet; 5: follicule pileux.

**Figure 12 :** Évaluation histologique de coupes de peau de plaie colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (G X 40) de divers groupes (MAD, OAVEE 5%, OAVEA 5%, VAS et NT).

### III.2.6 Évaluation des activité biologiques *in silico*

L'approche *in silico*, intégrant des techniques de modélisation moléculaire telles que le docking moléculaire, a révolutionné la découverte de nouveaux médicaments en permettant une exploration rapide et efficace des interactions entre les ligands et les cibles protéiques (Chaudhary and Tyagi 2024). Dans le contexte de la recherche sur les propriétés cicatrisantes et neuroprotectrices des extraits d'*Arisarum vulgare*, cette méthode permet de prédire les modes d'interaction entre les composés polyphénoliques présents dans la plante et les protéines impliquées dans la cicatrisation ainsi que dans la maladie d'Alzheimer.

Les polyphénols, reconnus pour leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires, jouent un rôle crucial dans la guérison des plaies en stimulant la régénération cellulaire et en réduisant l'inflammation. Parallèlement, leur capacité à interagir avec des cibles protéiques spécifiques liées à la maladie d'Alzheimer ouvre de nouvelles pistes pour le développement de traitements potentiels.

En utilisant des simulations *in silico*, nous avons pu identifier rapidement les composés les plus prometteurs pour des études ultérieures, tout en réduisant le temps et les ressources nécessaires à la recherche expérimentale traditionnelle (Chaudhary and Tyagi 2024). Cette approche permet non seulement d'accélérer le processus de découverte, mais aussi de mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents aux effets thérapeutiques des extraits d'*A. vulgare*.

L'évaluation du docking moléculaire dans notre étude a permis d'identifier les interactions clés entre les composés polyphénoliques d'*Arisarum vulgare* et les cibles protéiques impliquées dans la cicatrisation et à la maladie d'Alzheimer. En analysant les valeurs d'énergie de liaison, représentées par  $\Delta G$  binding, nous avons pu déterminer la force des interactions entre les ligands et les protéines cibles (Khotimah *et al.* 2021). Des valeurs plus négatives indiquent une affinité de liaison plus forte, suggérant que le processus est non seulement spontané mais également thermodynamiquement favorable (Hammad *et al.* 2020).

Les interactions de type liaison d'hydrogène, qui jouent un rôle crucial dans la stabilisation du complexe ligand-protéine, ont également été étudiées, car elles sont essentielles pour la reconnaissance moléculaire (Sachdeo *et al.* 2024). La validation de notre approche de docking a été renforcée par l'analyse des interactions du ligand expérimental lorsqu'il a été redocké dans la structure du récepteur, confirmant ainsi la robustesse de notre méthodologie (Saha *et al.* 2013).

### **III.2.6.1 L'étude du potentiel cicatrisant de l'extrait aqueux *in silico***

Les 27 composants identifiés par l'analyse HPLC-ESI-MS/MS dans l'extrait aqueux d'*Arisarum vulgare* ont été évalués pour leur potentiel de modulateur des voies de signalisation moléculaire, en examinant leurs interactions avec les protéines impliquées dans les différents processus de la cicatrisation dans le corps humain. Les résultats de docking ont été classés par scores d'affinité, avec une valeur seuil de  $-7\text{kcal/mol}$  pour identifier les meilleures cibles.

#### **III.2.6.1.1 Docking moléculaire avec $\text{TNF}\alpha$ , PDB ID :2AZ5**

Dans le processus de régénération de la peau blessée, l'inflammation est considérée comme l'étape la plus importante (Sachdeo *et al.* 2024).  $\text{TNF-}\alpha$ , une cytokine inflammatoire

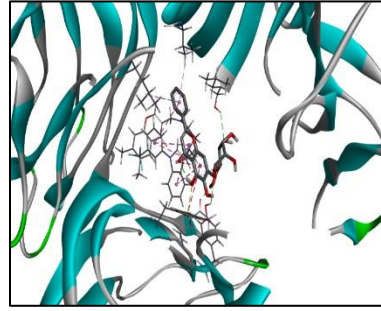
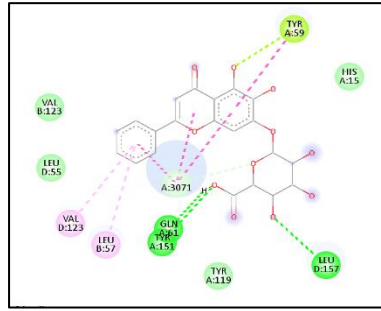
multifonctionnelle cruciale, est synthétisée en grandes quantités par les monocytes activés en cas d'inflammation et joue un rôle significatif à la fois dans les fonctions physiologiques normales et les processus pathologiques anormaux (Velnar *et al.* 2009) .

Des niveaux accrus de TNF- $\alpha$  local et systémique perturbent l'activité des fibroblastes, entraînant une réduction considérable du collagène, de l'hydroxyproline et du tissu de granulation (Boshra *et al.* 2023). En conséquence, la guérison des plaies est altérée. D'autre part, l'inhibition des effets du TNF- $\alpha$  a montré qu'elle réduisait l'inflammation et favorisait la cicatrisation des plaies en augmentant la déposition de collagène et la formation de matrice (Dharshan 2018).

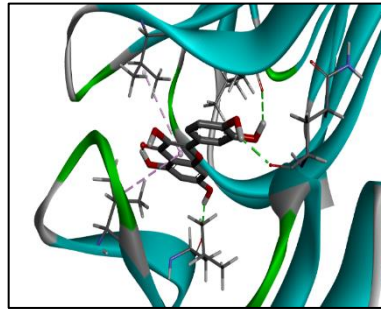
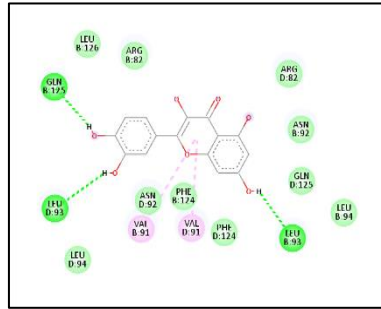
Les données présentées dans le Tableau 17 indiquent qu'aucun des composés étudiés n'a dépassé la valeur d'énergie de liaison prédite du ligand de référence de -9.2 kcal/mol. Cependant, parmi les composés testés, l'épigallocatechine, la baicaline, la quercétine, l'hésperétine, la scutellarine, la naringénine et le kaempférol ont démontré la plus grande capacité de liaison au sein du site actif du TNF- $\alpha$ , avec des énergies de liaison allant de -9.1 à -8,1 kcal/mol. La figure 13 illustre les différentes interactions de ces composés avec des résidus d'acides aminés spécifiques. L'épigallocatechine interagit avec LEU 93, LEU 93 et ARG 82 ; la baicaline interagit avec GLN 61, GLN 149 et TYR 151 ; la quercétine interagit avec TNF- $\alpha$  en se liant à GLN 125, LEU 93 et LEU 93 ; l'hésperétine interagit avec GLN125 ; et la scutellarine interagit avec ASN 92, GLU 127 et ARG 82 ; la naringénine interagit avec LEU 93 et le kaempférol interagit avec ARG 82, LEU 93 et GLN 125. D'autres recherches indiquent que l'épigallocatechine est fréquemment reconnue pour inhiber la production de TNF- $\alpha$ , le Baicaline a révélé des effets anti-inflammatoires en diminuant les niveaux de TNF- $\alpha$  et la Quercétine a été observée pour réguler les réponses inflammatoires en bloquant la production de TNF- $\alpha$  (Zhang *et al.* 2017; Boots *et al.* 2020).

Ces constatations laissent penser que la composition phytochimique de l'extrait aqueux pourrait être efficace pour atténuer l'inflammation provoquée par une sécrétion excessive de TNF- $\alpha$  suite à une lésion cutanée.

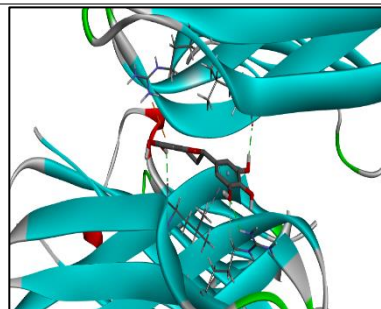
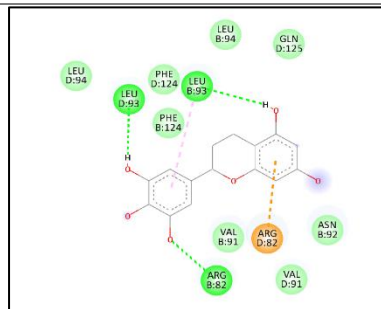
*Baicaline*



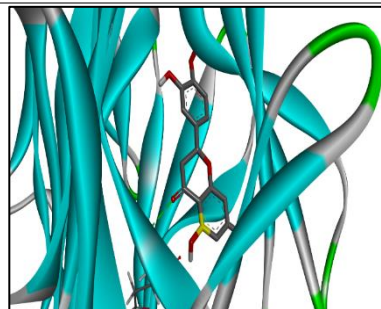
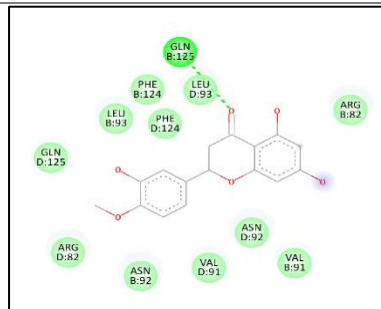
*Quercetine*

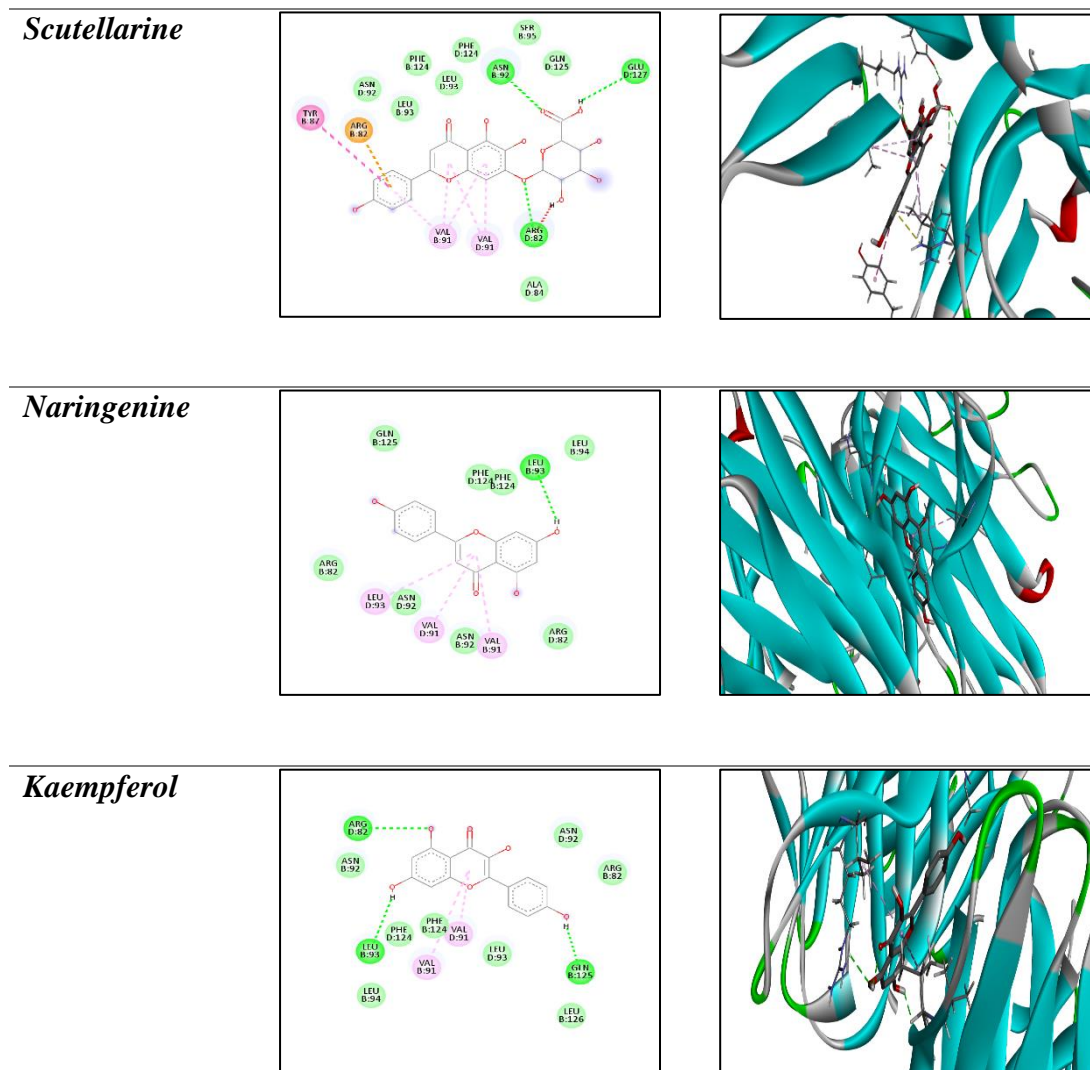


*Epigallocatechine*



*Hesperetine*





**Figure 13 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de TNF- $\alpha$ .

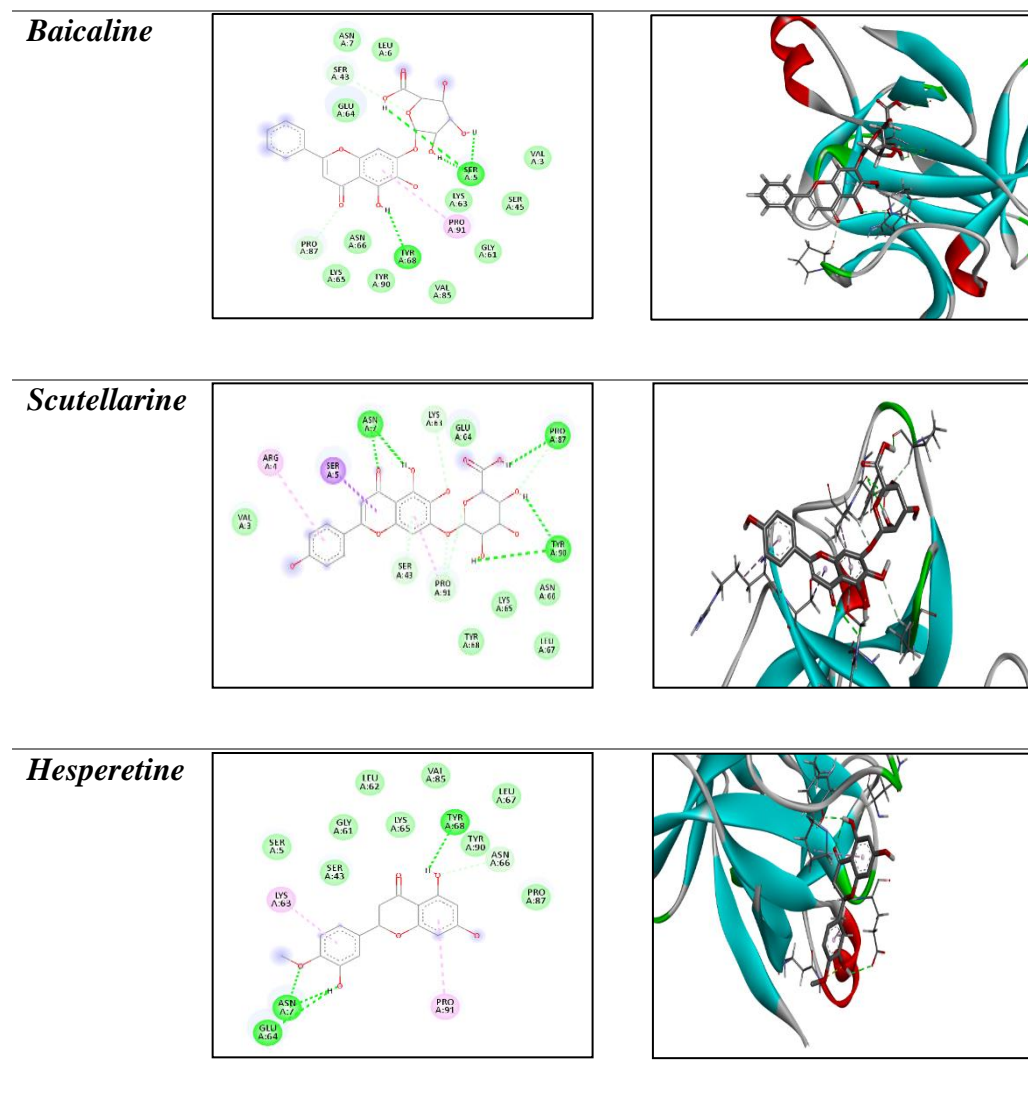
### III.2.6.1.2 Docking moléculaire avec IL-1 $\beta$ , PDB ID: 6Y8M

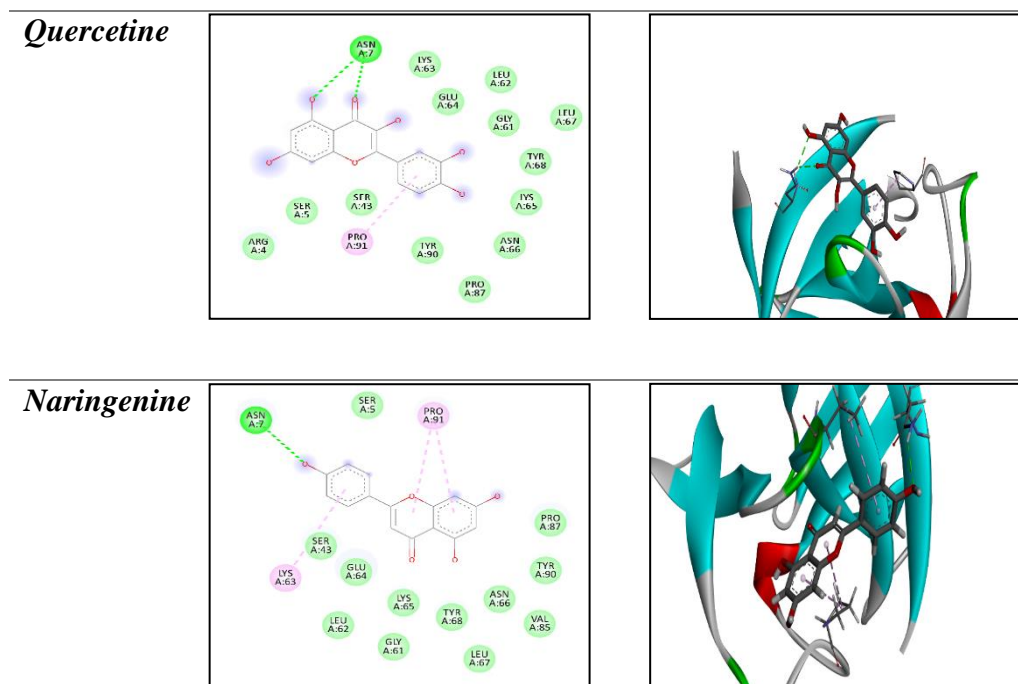
IL-1 $\beta$ , un puissant agent pro-inflammatoire, est généré par plusieurs types de cellules du système immunitaire inné pour promouvoir l'inflammation au site de la blessure (Dinarello 2011). L'IL-1 $\beta$  est un médiateur clé dans le processus de cicatrisation des plaies, en particulier dans l'initiation et la régulation de la réponse inflammatoire. Bien qu'il joue des rôles essentiels dans le recrutement des cellules immunitaires, l'activation des fibroblastes et la promotion de l'angiogenèse, son activité doit être soigneusement régulée pour prévenir l'inflammation chronique et assurer une cicatrisation adéquate des plaies (Velnar *et al.* 2009).

Selon les résultats de docking, mentionnés dans le tableau 17, la baicaline, la scutellarine, l'hespérétine, la quercétine, la naringénine, l'épigallocatechine, la morine, la chrysine, la fisétine, l'isoquercétine, le kaempférol, l'acide chlorogénique, la biochanine A et l'acide caféique ont démontré une affinité remarquable pour l'IL-1 $\beta$ , affichant des scores de

liaison allant de -7.6 jusqu'à -6.7 kcal/mol ; ces valeurs sont supérieures à celle du ligand co-cristallisé ( $\Delta G_{\text{binding}} = -5.7$  kcal/mol). La figure 14 illustre les interactions des cinq composants qui ont montré une plus grande affinité pour le récepteur docké. La baicaline montre des interactions avec TYR 68, la scutellarine a interagi avec ASN 7, PRO 87 et TYR 90, l'hésperétine a interagi avec TYR 68, ASN 7 et GLU 64, la quercétine a interagi avec ASN 7 et la naringinine a interagi avec ASN 7 du site actif de la IL-1 $\beta$ .

Les études de docking indiquent que les affinités de la baicaline, de la scutellarine, de l'hésperétine, de la quercétine, de la naringénine et d'autres phytoconstituants envers l'IL-1 $\beta$  sont conformes aux données de la littérature. La baicaline et la quercétine se distinguent par leurs importantes activités anti-inflammatoires, résultant de leur interaction avec des cytokines telles que l'IL-1 $\beta$  (Li *et al.* 2021b; Rathi *et al.* 2024).





**Figure 14 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de l'IL-1 $\beta$ .

### III.2.6.1.3 Docking moléculaire avec MMP-9 , PDB ID :1GKC

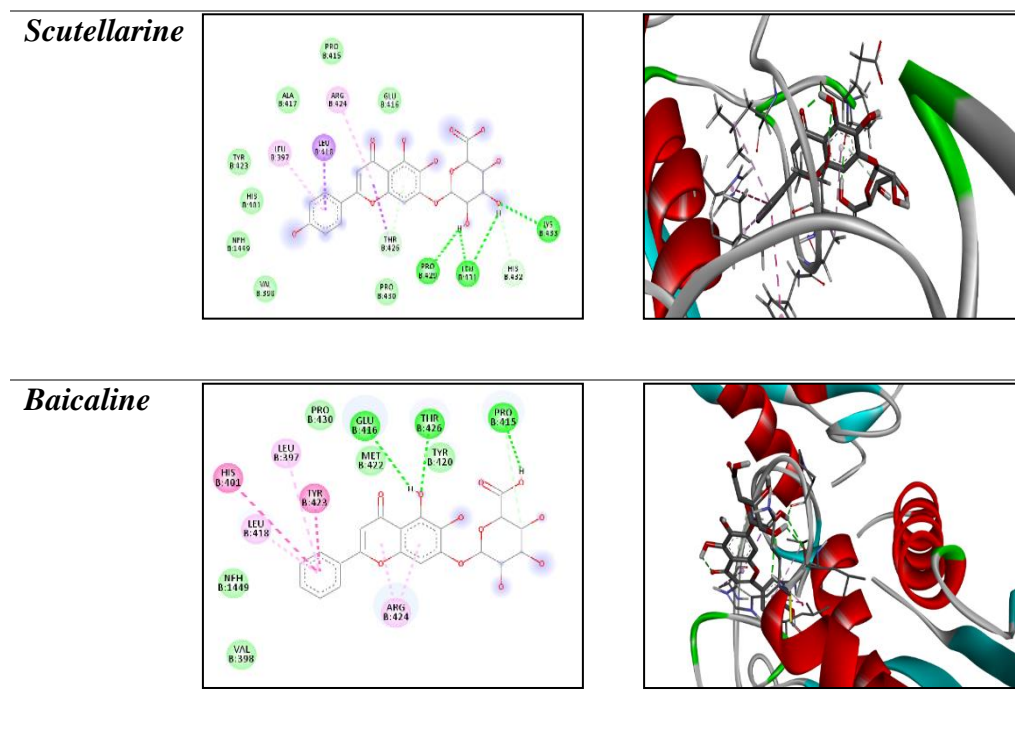
La métalloprotéinase matricielle-9 (MMP-9) est une enzyme clé dans la cicatrisation des plaies, remodelant la matrice extracellulaire (MEC) et facilitant divers processus cellulaires. Elle décompose les constituants de la MEC, créant des chemins pour la migration cellulaire vers le site de la plaie, y compris la migration des kératinocytes pour la réépithélialisation et des cellules endothéliales pour la néoangiogenèse (Ashames *et al.* 2024).

Une régulation précise de la MMP-9 est vitale pour une cicatrisation efficace. Sa dérégulation peut entraîner des plaies chroniques, ce qui en fait une cible pour des interventions thérapeutiques visant à améliorer la guérison (Mathew-Steiner *et al.* 2021). Ainsi, la recherche et le développement d'inhibiteurs de MMP-9 représentent une stratégie prometteuse dans le domaine de la cicatrisation (Khotimah *et al.* 2021).

Dans ce contexte nous avons réalisé une étude *in silico* pour déterminer l'effet inhibiteur des composants de l'extrait aqueux d'*A.vulgare*. Selon le tableau17, le ligand expérimental a montré un score énergétique de -5.3 kcal/mol, alors que les phytoconstituants ont révélé une affinité supérieure pour la cible MMP-9, avec des énergies de liaison allant de -8.3 à -5.4 kcal/mol, surpassant celle du ligand expérimental.

La scutellarine et la baicaline ont affiché les plus fortes capacités de liaison, avec -8,3 et -8,1 kcal/mol respectivement. La figure 15 illustre les interactions de ces deux molécules avec le site actif de la MMP-9. La scutellarine se lie à la MMP-9 via des interactions avec PRO

429, LEU 431 et LYS 433, tandis que la baicaline interagit avec GLU 416 , PRO 415 et THR 426 . Ces composés ont été identifiés dans d'autres études comme ayant de fortes affinités avec la MMP-9, confirmant nos résultats (Gao et al., 2017; Li et al., 2013). Ils sont donc envisagés comme accélérateurs potentiels du processus de cicatrisation des plaies, et ce qui explique cet effet thérapeutique de l'extrait à queux démontré dans les résultats *in vivo*.



**Figure 15 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de MMP-9

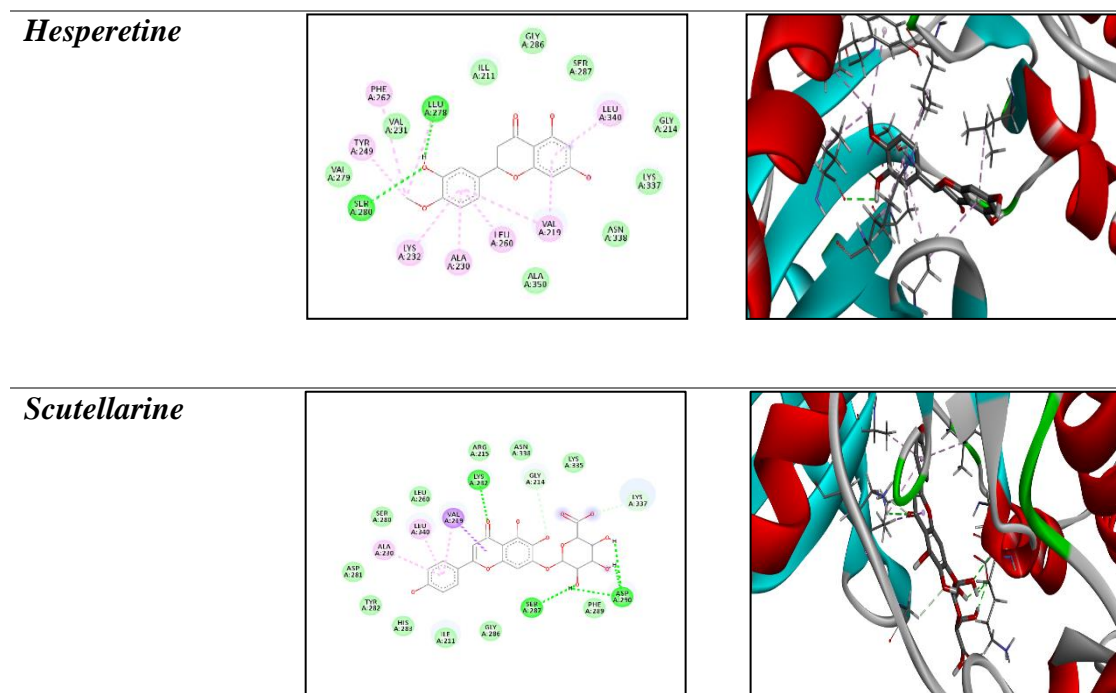
#### III.2.6.1.4 Docking moléculaire avec TGF- $\beta$ R1, PDB ID :6B8Y

Le TGF- $\beta$ R1 est un récepteur clé dans la voie de signalisation TGF- $\beta$ , jouant un rôle significatif dans diverses étapes de la cicatrisation des plaies. Il régule la prolifération cellulaire, la migration et la production de la matrice extracellulaire (MEC), essentielles pour une réparation appropriée des plaies ainsi que pour la granulation et le remodelage tissulaire (Mathew-Steiner *et al.* 2021; Firmansyah *et al.* 2024). La régulation des protéines TGF- $\beta$ 1 est cruciale pour le processus de guérison des plaies (Wang *et al.* 2006; Dharshan 2018).

D'après le Tableau 17, aucun des composés testés n'a montré des énergies de liaison meilleures que celles du ligand de référence, qui était de -11.5 kcal/mol. Néanmoins, tous les composés listés ont révélé des affinités de liaison significatives pour TGF- $\beta$ 1, avec des valeurs allant de -9.60 à -6.0 kcal/mol. Parmi eux, la naringénine, l'épigallocatechine, la baicaline, la quercétine, le quercétine-3-xyloside, le kaempférol, l'héspérétine et la scutellarine, ces







**Figure 16 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de TGF- $\beta$  Receptor type-1 .

#### III.2.6.1.5 Docking moléculaire avec EGFR, PDB ID : 1M17

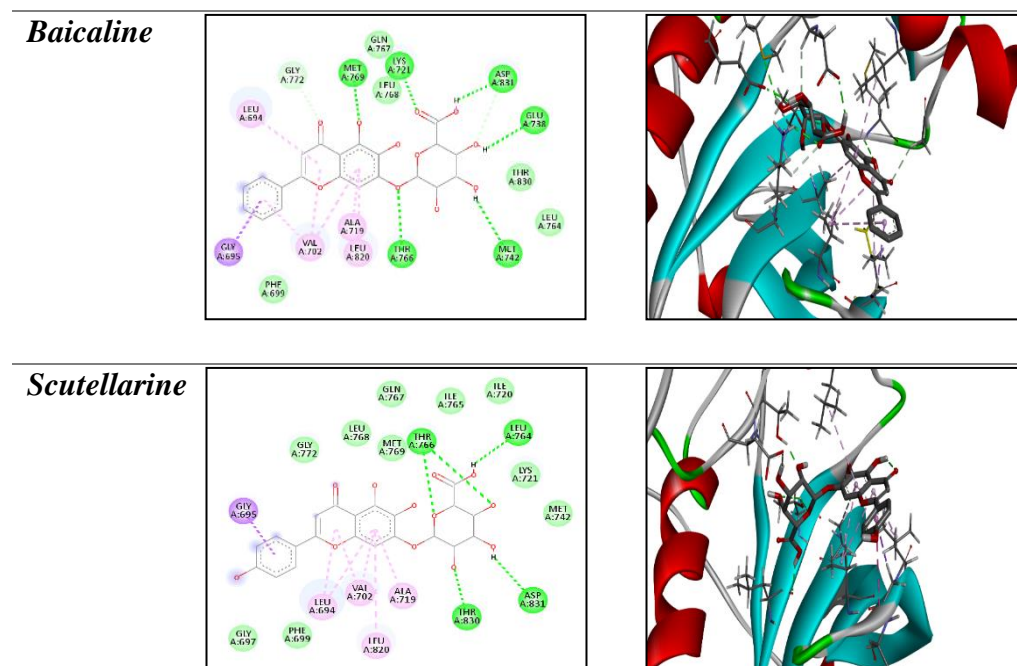
Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est une protéine transmembranaire qui, en se liant à ses ligands spécifiques tels que le facteur de croissance épidermique (EGF) et le facteur de croissance transformant- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), active de multiples voies de signalisation essentielles à divers processus cellulaires (Firmansyah *et al.* 2024). Plusieurs études ont mis en évidence l'effet positif des facteurs de croissance épidermiques (EGF) sur la guérison, aussi bien dans des modèles animaux que chez des patients atteints de divers troubles de la cicatrisation (Lu *et al.* 2021). L'EGFR est crucial pour la migration des kératinocytes, la fonction des fibroblastes et la formation du tissu de granulation (Zhou *et al.* 2017).

Les résultats des études de docking concernant les récepteurs impliqués dans la phase de prolifération sont présentés dans le Tableau 17.

Les résultats de docking montrent que l'isoquercitrine, le kaempférol, le quercétine-3-xyloside, l'acide chlorogénique, la biochanine A et l'acide caféique ont montré une affinité significative pour l'EGFR, avec des scores de liaison allant de -9.7 à -7.0 kcal/mol, comparés au ligand co-cristallisé ( $\Delta G_{\text{binding}} = -6.6$  kcal/mol). La baicaline et la scutellarine ont affiché les énergies de liaison les plus faibles parmi les composés testés.

La Figure 17 montre la liaison de la baicaline à l'EGFR via des interactions avec MET 769, LYS 721, ASP 831, GLU 738, MET 742 et THR 766 . La scutellarine a interagi avec THR 766, LEU 764, THR 830 et ASP 831.

Nos résultats concordent avec des études antérieures démontrant le potentiel des composés naturels pour améliorer les voies de signalisation de l'EGFR, favorisant ainsi les phases de réépithélialisation et de prolifération dans la cicatrisation des plaies.



**Figure 17** : Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de l'EGFR.

**Tableau 17** : Énergie de liaison ( $\Delta G_{\text{binding}}$  kcal/mol) des différents ligands de l'extrait aqueux d'*A. vulgare*.

Ligand	TNF $\alpha$ 2AZ5	IL1 $\beta$ 6Y8M	MMP9 1GKC	TGF $\beta$ 1 6B8Y	EGFR M17
Baicaline	-8.7	-7.6	-8.1	-9.5	-9.7
Biochanine A	-7.5	-6.3	-7.6	-8.6	-7.8
Acide caféique	-6.5	-5.8	-7.1	-8.0	-7.0
Caféine	-7.3	-5.4	-5.8	-7.3	-7.5
Acide Chlorogénique	-7.2	-6.4	-7.5	-8.7	-7.4
Chrysin	-7.7	-6.7	-7.7	-8.7	-8.4
Acide Cinnamique	-6.3	-5.2	-6.3	-7.4	-5.6
Epigallocatechine	-9.1	-6.8	-7.2	-9.6	-8.1
Acide Férulique	-6.6	-5.2	-6.2	-6.7	-5.9
Fisetine	-7.8	-6.6	-7.8	-8.7	-8.3
Hesperetine	-8.4	-7.2	-6.9	-9.2	-8.4
Hydroxybenzaldehyde	-4.9	-4.4	-5.7	-6.0	-5.5
Isoquercétine	-7.6	-6.5	-6.6	-7.1	-8.7
kaempférol	-8.1	-6.5	-6.8	-9.4	-8.2
kaempferol-3-glucoside	-7.3	-6.6	-7.1	-7.9	-8.5
Morine	-6.9	-6.8	-7.9	-8.1	-8.3
Naringenine	-8.2	-7.0	-7.0	-9.6	-8.3
o-Coumaric acid	-5.9	-5.1	-6.9	-6.9	-5.8
Acide Ethyl Ester Protocatechuique	-5.3	-4.8	-6.1	-7.3	-5.8
Acide Protocatechuique	-5.6	-4.9	-6.2	-6.3	-6.1
Quercétine	-8.7	-7.1	-7.0	-9.5	-8.4
Quercetin_3-xyloside	-7.5	-6.5	-7.0	-9.4	-8.8
Acide Salicylique	-5.3	-4.7	-6.2	-6.1	-5.3
Scutellarine	-8.3	-7.4	-8.3	-9.1	-9.4
Acide Sinapique	-5.9	-5.0	-5.8	-6.9	-6.1
Acide Vanillique	-5.2	-5.1	-5.7	-6.9	-6.2
Vanilline	-5.0	-4.7	-5.4	-6.5	-5.3
<b>Ligand Standard</b>	-9.1 <sup>a</sup>	-5.7 <sup>b</sup>	-5.3 <sup>c</sup>	-11.5 <sup>d</sup>	-6.6 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>307: 6,7-Dimethyl-3-[(Methyl{2-[Methyl({1-[3-(Trifluoromethyl)Phenyl]-1h-Indol

3Y1}Methyl)Amino]Ethyl}Amino)Methyl]-4hChromen-4-One

<sup>b</sup> SX2 : 4-[(5-Bromopyridin-2-Yl)Amino]-4-Oxobutanoic Acid

<sup>c</sup> NFH: N~2~-[(2R)-2-{[Formyl(Hydroxy)Amino]Methyl}-4-Methylpentanoyl]-N,3-Dimethyl-L Valinamide

<sup>d</sup> D0A: N-(3-Fluoropyridin-4-Yl)-2-[6-(Trifluoromethyl)Pyridin-2-Yl]-7H-Pyrrolo[2,3-D]Pyrimidin-4-Amine

<sup>e</sup> AQ4: [6,7-Bis(2-Methoxy-Ethoxy)Quinazoline-4-Yl]-(3-Ethynylphenyl)Amine

Globalement, l'étude *in silico* a confirmé que les constituants majoritaires et minoritaires présents dans l'extrait aqueux l'*Arisarum vulgare* présentent une forte affinité pour les protéines TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ R1, IL-1 $\beta$ , MMP-9 et EGFR. Cette affinité pourrait expliquer les effets bénéfiques de ces composés sur la cicatrisation des plaies. Les études *in vivo* ont révélé un impact significatif sur ce processus de guérison. Cet impact est corroboré par les modes de liaison et les énergies de liaison des composés phénoliques, observés lors des simulations de docking moléculaire avec les sites actifs des cibles protéiques impliquées dans le processus de la cicatrisation. Les résultats suggèrent que l'extrait aqueux des parties aériennes de l'*Arisarum vulgare* pourrait favoriser la transition de la phase inflammatoire à la phase anti-inflammatoire, offrant ainsi une nouvelle méthode pour réguler les étapes clés de la cascade de cicatrisation.

#### ***III.2.6.2 L'étude de l'activité anti Alzheimer de l'extrait éthanolique in silico***

Les enzymes jouent plusieurs rôles importants dans l'homéostasie des organismes vivants, en catalysant des réactions physiologiques essentielles. Dans le contrôle des maladies, il est possible d'utiliser la stratégie d'inhiber l'activité d'une certaine enzyme pour améliorer l'état clinique d'une maladie spécifique. Les cholinestérases comprennent deux types d'enzymes, à savoir l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. L'acétylcholinestérase hydrolyse préférentiellement l'acétylcholine, tandis que la butyrylcholinestérase hydrolyse le butyrylcholine plus efficacement que l'acétylcholine (Srief *et al.* 2023). De plus, l'acétylcholinestérase est principalement d'origine neuronale, tandis que la butyrylcholinestérase est principalement présente dans le sang et les cellules gliales (Mesulam *et al.* 2002).

L'amarrage moléculaire appelé aussi docking moléculaire est un outil essentiel en biologie moléculaire structurale et en conception de médicaments assistée par ordinateur. Le but de l'amarrage protéine-ligand est de prédire le ou les modes de liaison prédominants d'un ligand avec une protéine de structure tridimensionnelle connue (Chaudhary and Tyagi 2024). Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'usage de la modélisation moléculaire, en utilisant le « docking moléculaire » pour étudier l'inhibition de l'enzyme cholinestérase (acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase) avec les principaux composés d'*Arisarum vulgare*, identifiés par l'analyse LC-ESI-MS/MS dans l'extrait éthanolique et la prédiction des modes d'interactions possibles entre « enzyme-flavonoïdes ».

### III.2.6.2.1 Docking moléculaire avec AChE, PDB ID : 4EYS

L'acétylcholinestérase est une enzyme hydrolase de sérine dont la fonction principale est de moduler la transmission du signal cholinergique par l'hydrolyse de l'acétylcholine. L'enzyme catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine en deux composés inactifs, la choline et l'acide acétique (Ellman *et al.* 1961; Mesulam *et al.* 2002).

L'acétylcholinestérase est principalement responsable de la terminaison des impulsions nerveuses aux synapses cholinergiques en catalysant l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine et accélère l'agrégation des peptides  $\beta$ -amyloïdes. Une stratégie importante pour traiter la maladie d'Alzheimer est de maintenir les niveaux d'acétylcholine dans la fente synaptique en bloquant l'acétylcholinestérase (Abraham *et al.* 2022).

L'inhibition de l'acétylcholinestérase dans le cerveau entraîne une augmentation de la concentration d'acétylcholine et restaure en partie les altérations substantielles de la mémoire et les dysfonctionnements cognitifs (Inestrosa *et al.* 2008). Par conséquent, la découverte et le développement d'inhibiteurs de cette enzyme a été une stratégie prometteuse pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Les résultats du docking indiquent que le médicament de référence, galanthamine possédait un score énergétique de -7.7 kcal/mol tandis que les phytoconstituants majeurs de l'extrait éthanolique d'*A.vulgare* la rutine, l'hésperidine et l'isoquercitrine montraient une affinité plus élevée pour le récepteur docké avec des énergies de liaison de -9.2 ; -8.6 et -7.8 kcal/mol respectivement, inférieures à celle obtenue pour le standard (Tableau 18). La rutine a montré la plus forte énergie de liaison. La figure 18 montre les interactions des trois flavonoïdes avec le site actif de l'AChE. La liaison de la rutine avec cette cible protéique par des interactions avec ARG 525, THR 383, GLN 527, GLN 527 et HIS 381. L'isoquercitrine a interagi avec GLN 369, PRO 368 et THR 238, GLN 413, ASN 533, PRO B: 235 et ARG B:296 . L'hésperidine a interagi avec PHE 295, TYR 341, TYR 72 et SER 293.

### III.2.6.2.2 Docking moléculaire avec BChE, PDB ID : 4BDS

La butyrylcholinestérase est principalement impliquée dans la dégradation de la butyrylcholine. L'enzyme acétylcholinestérase prédomine dans le cerveau sain, la butyrylcholinestérase étant considérée comme jouant un rôle mineur dans la régulation des niveaux d'acétylcholine dans le cerveau (Mesulam *et al.* 2002). Pour cette raison, dans des conditions normales, l'acétylcholine est principalement hydrolysée par l'acétylcholinestérase. Cependant, lorsque le niveau d'acétylcholinestérase dans la transmission cholinergique diminue, la butyrylcholinestérase peut jouer un rôle de compensation pour l'acétylcholinestérase dans une certaine mesure afin de maintenir les voies cholinergiques

normales. L'activité de la butyrylcholinestérase augmente progressivement chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, tandis que l'activité de l'acétylcholinestérase reste inchangée ou diminue (Mesulam *et al.* 2002).

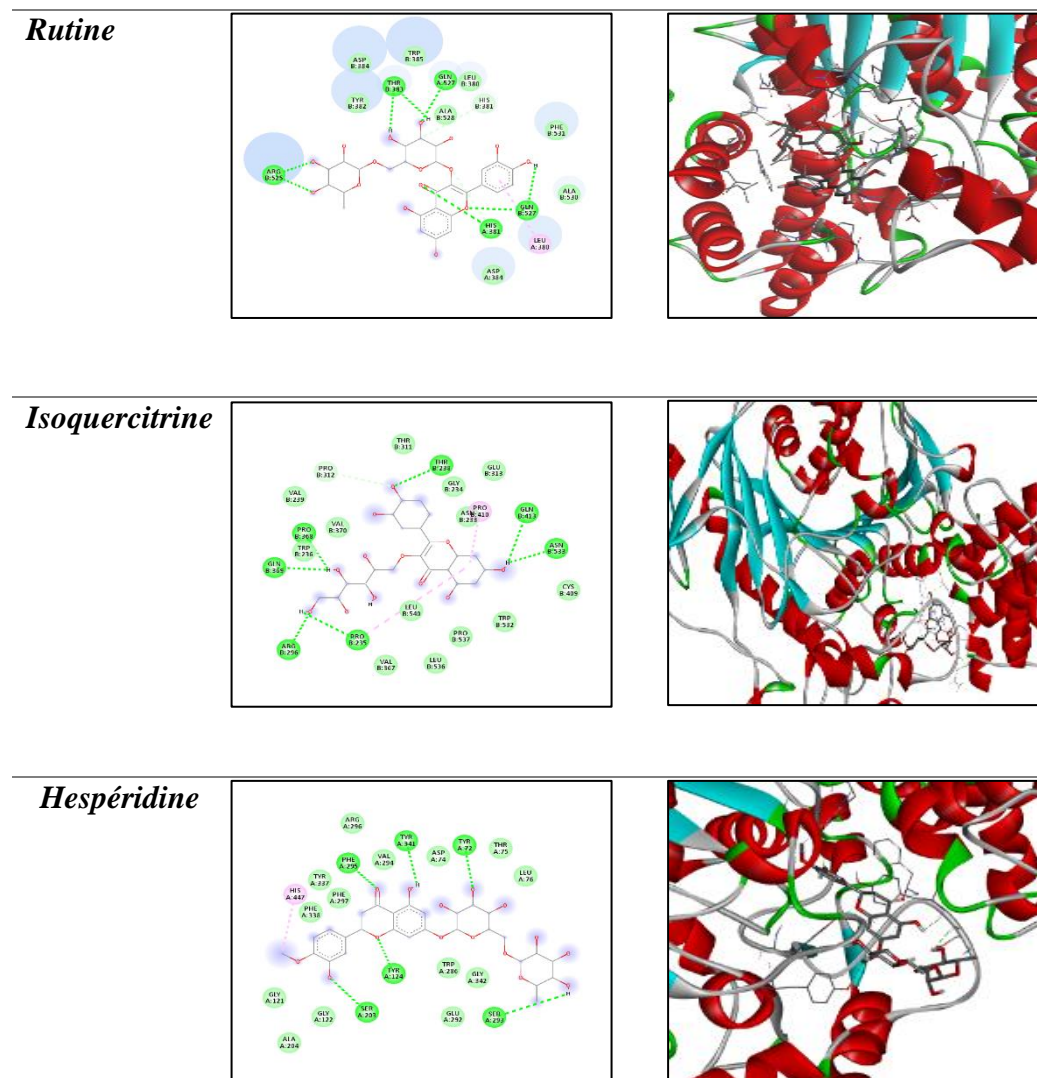
Les deux enzymes représentent donc des cibles thérapeutiques potentielles pour améliorer le déficit cholinergique considéré comme responsable des déclin du fonctionnement cognitif, comportemental et global caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (Srief *et al.* 2023). L'inhibition combinée de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase est bénéfique pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, surtout puisque la butyrylcholinestérase remplace l'acétylcholinestérase dans le catabolisme de l'acétylcholine chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer avancée (Matailo *et al.* 2020).

La butyrylcholinestérase possède une multitude d'activités hydrolysantes, non seulement une activité cholinestérase non spécifique mais aussi des activités acylamidase et peptidase (Liu *et al.* 2017). L'activité peptidase de la butyrylcholinestérase est importante car elle est considérée comme impliquée dans le développement et la progression de la maladie d'Alzheimer, étant un facteur causal dans la production de  $\beta$ -amyloïdes. Pour cette raison, la découverte d'inhibiteurs de la BChE pourrait contribuer à des traitements efficaces des maladies neurodégénératives.

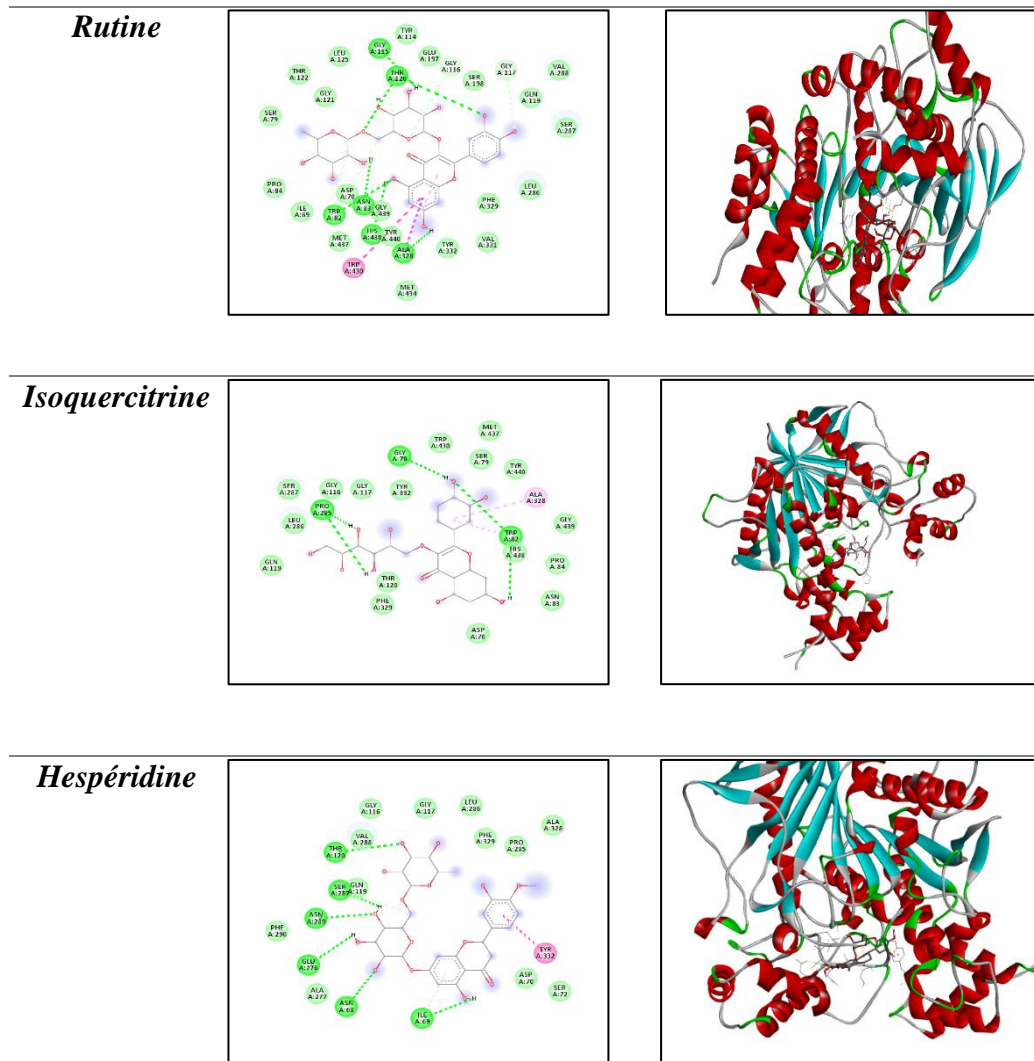
Les résultats du docking moléculaire présentés dans le tableau 18, montrent que le ligand de référence avait un score énergétique de  $-7.7$  kcal/mol, alors que les principaux phytoconstituants de l'extrait éthanolique d'*A. vulgare* présentaient une affinité supérieure pour le récepteur, avec des énergies de liaison variant de  $-10.4$  à  $-8.9$  kcal/mol, surpassant celle du standard. La rutine a démontré la meilleure énergie de liaison. La figure 19 illustre les interactions entre ces trois flavonoïdes et le site actif de l'BChE. La rutine s'est liée à cette cible protéique par des interactions avec GLY 115, THR 120, TRP 82, ASN 83, GLY 439 et ALA 328. l'isoquercitrine a formé des liaisons avec PRO 285, GLY 78, TRP 82 et HIS 438 et l'héspéridine a interagi avec TRH 120, SER 287, ASN 289, GLU 276, ILE 09 et ASN 08.

**Tableau 18 .** Énergie de liaison ( $\Delta G_{\text{binding}}$  kcal/mol) des composants majeurs de l'extrait éthanolique d'*A.vulgare* .

Ligand	AChE	BChE
Rutine	-9.2	-10.4
Isoquercitrine	-7.8	-8.9
Hespéridine	-8.6	-9.4
Galantamine	-7.7	-8.6



**Figure 18 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de l'AChE.



**Figure 19 :** Les visualisations 2D et 3D au sein du site actif de la BChE.

L'inhibition combinée de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase par divers extraits de plantes et leurs composants peut être considérée comme un avantage thérapeutique potentiel pour les maladies neurodégénératives, afin de bénéficier à la cognition, à la fonction globale et aux symptômes comportementaux, en particulier chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer avancée (Srief *et al.* 2023).

Les résultats du docking révèlent non seulement les effets potentiels inhibiteurs de la rutine, de l'isoquercitrine et de l'hespéridine, mais offrent aussi une compréhension mécanistique de comment ces composés pourraient agir biologiquement. La comparaison de ces résultats avec ceux d'inhibiteurs reconnus confirme davantage leur potentiel comme pistes pour le développement de médicaments, mettant en lumière l'importance du docking moléculaire dans la découverte d'agents prometteurs contre la maladie d'Alzheimer.

Ces résultats offrent des perspectives prometteuses pour l'exploitation des extraits d'*A. vulgare* dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. En intégrant ces données *in silico* avec les études expérimentales *in vitro* et *in vivo*, nous pouvons mieux comprendre les mécanismes d'action des composés bioactifs et leur potentiel pour traiter des conditions telles que les plaies chroniques et les troubles neurodégénératifs, ouvrant ainsi la voie à des applications cliniques innovantes.

**CONCLUSION  
ET PERSPECTIVES**

## Conclusion et perspectives

Cette étude valide scientifiquement l'usage traditionnel d'*Arisarum vulgare* et met en lumière son potentiel dans le domaine de la biotechnologie. Les résultats obtenus enrichissent une démarche scientifique visant à établir une corrélation entre l'utilisation empirique de cette plante et sa compréhension scientifique, notamment en ce qui concerne ses effets thérapeutiques. Dans un premier temps, une revue bibliographique a révélé un manque d'informations chimiques et biologiques sur *Arisarum vulgare* dans la région de Bouira. Pour combler cette lacune, notre étude a approfondi l'analyse des propriétés phytochimiques et pharmacologiques des extraits de la partie aérienne de la plante, démontrant ainsi leur potentiel en tant que sources de composés bioactifs.

Les résultats indiquent que cette plante, couramment utilisée en médecine traditionnelle, contient une riche diversité de métabolites secondaires qui contribuent à ses nombreuses activités thérapeutiques. L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour valoriser ces principes actifs. Ce processus dépend à la fois du solvant utilisé et de la nature des composés à extraire.

L'intégration de la chimie verte dans l'étude d'*Arisarum vulgare* représente une approche innovante qui valorise le patrimoine végétal local tout en contribuant à un avenir plus durable. En adoptant ces pratiques, nous pouvons maximiser les bénéfices thérapeutiques tout en minimisant notre impact sur l'environnement.

Les différents extraits obtenus par extraction assistée par ultrasons ont été analysés quantitativement par spectrophotométrie UV-visible pour leur contenu en flavonoïdes et en polyphénols. L'identification chromatographique des extraits éthanoliques et aqueux a permis de caractériser les principaux composés phénoliques, tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, ouvrant ainsi la voie à des études plus approfondies sur leurs mécanismes d'action.

Les activités antioxydantes, antimicrobiennes, anticholinestérases et protectrices de l'ADN observées dans les extraits renforcent l'idée qu'*Arisarum vulgare* pourrait jouer un rôle significatif dans le développement de nouvelles molécules phytothérapeutiques. L'intégration des approches expérimentales *in vitro*, *in vivo* et *in silico* permet une compréhension plus complète et précise des effets pharmacologiques de cette plante.

L'évaluation de l'activité antioxydante (*in vitro*) a été réalisée par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH• et le piégeage du radical cation ABTS•+. Les résultats montrent que les deux extraits bruts présentent des activités antiradicalaires intéressantes,

dépendantes du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Cependant, l'intensité de l'activité antioxydante ne dépend pas uniquement de la teneur globale en composants chimiques, mais également de leur nature. Ainsi, l'extrait aqueux a montré une très forte inhibition de l'oxydation.

Les extraits ont également été soumis à un criblage pour leur activité antimicrobienne (*in vitro*) contre quatre souches de bactéries pathogènes, utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats indiquent que les extraits aqueux et éthanolique présentent une activité antibactérienne significative, justifiant ainsi leur utilisation dans la médecine traditionnelle pour traiter les infections bactériennes.

L'évaluation du potentiel protecteur de l'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose a révélé que les deux extraits possèdent des propriétés intéressantes.

De plus, l'activité anticholinestérase a été évaluée par une approche colorimétrique d'Ellman, montrant que les deux extraits inhibent efficacement les enzymes acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE).

L'effet cicatrisant des onguents préparés à partir des extraits éthanolique et aqueux (à 5 % chacun) a été évalué sur des plaies d'excision chez des rats. L'onguent à base d'extrait aqueux a montré des propriétés cicatrisantes prometteuses, réduisant significativement la surface des plaies, comparable au médicament de référence. Ces résultats *in vivo* constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel d'*Arisarum vulgare* dans le traitement des plaies.

La simulation *in silico* indique que les composants majeurs de l'extrait éthanolique présentent une meilleure activité inhibitrice vis-à-vis de l'AChE et du BChE, formant des complexes stables avec les cibles protéiques impliquées dans la maladie d'Alzheimer. Par ailleurs, les composants de l'extrait aqueux montrent une forte affinité pour les cibles impliquées dans le processus cicatrisant.

En conclusion, cette thèse souligne non seulement l'importance de la valorisation des plantes médicinales dans la recherche pharmaceutique moderne, mais aussi la nécessité d'intégrer les connaissances traditionnelles dans les approches scientifiques contemporaines.

Les résultats obtenus constituent une première étape prometteuse dans le domaine de la phytothérapie et des antioxydants naturels. Il serait judicieux d'étayer ce travail par :

- Caractérisation et isolement des principes actifs responsables des propriétés pharmacologiques observées pour mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

- Évaluation d'autres activités biologiques, telles que l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoire et antidiabétique, afin d'élargir le potentiel thérapeutique d'*Arisarum vulgare*.

La valorisation des plantes médicinales algériennes représente une opportunité non seulement pour enrichir notre connaissance scientifique mais aussi pour favoriser le développement durable et améliorer la qualité de vie des communautés locales. En intégrant les savoirs ancestraux avec les avancées scientifiques modernes, nous pouvons ouvrir la voie à une médecine phytothérapeutique innovante et respectueuse de l'environnement.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

### Références Bibliographiques

- Abdulraziq AA, Salih SM, Alnomasy SF, Aldosari ZM, Alotaibi BS (2021). Inhibition of Fungal Plant Pathogens by Aqueous Extracts of *Arum cyreniacum*. *Journal of Advances in Microbiology*, 1–6. doi:10.9734/jamb/2021/v21i730363
- Abraham JT, Maharifa HNS, Hemalatha S (2022). In Silico Molecular Docking Approach Against Enzymes Causing Alzheimer's Disease Using *Borassus flabellifer* Linn. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **194**, 1804–1813. doi:10.1007/S12010-021-03779-3/TABLES/2
- Ahmed KR, Rahman MdM, Islam MdN, Fahim MdMH, Rahman MA, Kim B (2024). Antioxidants activities of phytochemicals perspective modulation of autophagy and apoptosis to treating cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **174**, 116497. doi:10.1016/j.biopha.2024.116497
- Akhtari N, Ahmadi M, Kiani Doust Vaghe Y, Asadian E, Behzad S, Vatanpour H, Ghorbani-Bidkorpeh F (2024). Natural agents as wound-healing promoters. *Inflammopharmacology* **32**, 101–125. doi:10.1007/s10787-023-01318-6
- Akter S, Habiba U, Rahman F (2023). Antioxidant , antibacterial , cytotoxic and thrombolytic activities of flowers of *Mirabilis jalapa* L : Possible role of phenolics and flavonoids. *Journal of Agriculture and Food Research* **14**, 100893. doi:10.1016/j.jafr.2023.100893
- Albert Chominot (2000). 'valorisation des plantes médicinales par l'industrie pharmaceutique complémentarités et contradictions'
- Ali H, Yaqoob U (2021). Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity of *Arisaema* (Areaceae): a review. *Bulletin of the National Research Centre* **45**. doi:10.1186/s42269-021-00489-y
- Andjić M, Božin B, Draginić N, Kočović A, Jeremić JN, Tomović M, Šamanović AM, Kladar N, Čapo I, Jakovljević V, Bradić J V (2021). Formulation and evaluation of *helichrysum italicum* essential oil-based topical formulations for wound healing in diabetic rats. *Pharmaceuticals* **14**. doi:10.3390/ph14080813
- Anon CASFM\_2013. Available at: <https://www.sfm-microbiologie.org/> [accessed 27 November 2024]

- Arzu Sakul A, Batur S, Okur ME, Ozdemir EM, Ayla S, Daylan B, Karadag AE, Altinalan E, Gunal MY (2023). Wound Healing Activity of Arum Maculatum. *Medeniyet medical journal* **38**, 8–15. doi:10.4274/MMJ.GALENOS.2022.73368
- Ashames A, Ijaz M, Buabeid M, Yasin H, Yaseen S, Bhandare RR, Murtaza G (2024). In Vivo Wound Healing Potential and Molecular Pathways of Amniotic Fluid and Moringa Olifera-Loaded Nanoclay Films. *Molecules* **29**. doi:10.3390/molecules29030729
- Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-wenzig E, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, Temml V, Wang L, Schwaiger S, Heiss EH, Rollinger JM, Schuster D, Breuss JM, Bochkov V, Mihovilovic MD, Kopp B, Bauer R, Dirsch VM, Stuppner H (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products : A review. *Biotechnology Advances* **33**, 1582–1614. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.08.001
- Aydin Ç, Özey C, Dusen O, Mammadov R, Orhan F (2017). Total Phenolics, Antioxidant, Antibacterial and Cytotoxic Activity Studies of Ethanolic Extracts Arisarum vulgare O.Targ.Tozz. and Dracunculus vulgaris Schott. *International Journal of Secondary Metabolite*, 124. doi:10.21448/IJSM.307944
- Azab A (2017). Arum: a plant genus with great medicinal potential. *European Chemical Bulletin* **6**, 59. doi:10.17628/ecb.2017.6.59-68
- Azqueta A, Collins A (2016). Polyphenols and DNA Damage: A Mixed Blessing. *Nutrients* **8**. doi:10.3390/NU8120785
- Babenko NM, Litvinova OB, Pavlov SB (2023). Problems of healing chronic wounds. *Modern medical technology* **3**, 1–5. doi:10.34287/MMT.3(58).2023.10
- Baccouri B, Temime S Ben, Campeol E, Cioni PL, Daoud D, Zarrouk M (2007). Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food Chemistry* **102**, 850–856. doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.012
- Baessa M, Rodrigues MJ, Pereira C, Santos T, da Rosa Neng N, Nogueira JMF, Barreira L, Varela J, Ahmed H, Asif S, Boukhari SA, Kayani WK, Ahmad KS, Zengin G, Mollica A, Custódio L (2019). A comparative study of the in vitro enzyme inhibitory and antioxidant activities of Butea monosperma (Lam.) Taub. and Sesbania grandiflora (L.) Poiret from Pakistan: New sources of natural products for public

- health problems. *South African Journal of Botany* **120**, 146–156. doi:10.1016/J.SAJB.2018.04.006
- Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* **6**, 71–79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Benamar Malika (2009). Etude de l'activité antimittotique et anticancéreuse des alcaloïdes naturels ou synthétiques d'Arisarum vulgare Targ. Université Mohammed Premier Maroc.
- Bermejo M, Camara-Martinez I, Sanchez-Dengra B, Ruiz-Picazo A, Gonzalez-Alvarez I, Gonzalez-Alvarez M (2024). In silico, in situ, in vitro, and in vivo predictive methods for modeling formulation performance. *From Current to Future Trends in Pharmaceutical Technology*, 67–116. doi:10.1016/B978-0-323-91111-5.00002-0
- Bhatia N, Kaur G, Soni V, Kataria J, Dhawan RK (2016). Evaluation of the wound healing potential of isoquercetin-based cream on scald burn injury in rats. *Burns and Trauma* **4**. doi:10.1186/S41038-016-0032-1/36111798/BURNS\_V4\_1\_32.PDF
- BIOVIA (2024). , Dassault Systèmes, Discovery Studio Visualizer v24.1.0?23298, San Diego: Dassault Systèmes,.
- Bodo B. Melhaoui A. JA (1995). Irnigaine and N-methylirnigaine tow new piperidinol alkaloida from the tubers of Arisarum vulgare. *Nat. Prod.Letters*. **7**, 101-108.
- Bodo B. Melhaoui A. JA (1992). Structure of irniine a pyrrolidine alkaloid from Arisarum vulgare. *Natural Products*, 950-952.
- Bontzolis CD, Dimitrellou D, Plioni I, Kandylis P, Soupioni M, Koutinas AA, Kanellaki M (2024). Effect of solvents on aniseed aerial plant extraction using soxhlet and ultrasound methods , regarding antimicrobial activity and total phenolic content. *Food Chemistry Advances* **4**, 100609. doi:10.1016/j.focha.2024.100609
- Boots AW, Veith C, Albrecht C, Bartholome R, Driittij MJ, Claessen SMH, Bast A, Rosenbruch M, Jonkers L, Van Schooten FJ, Schins RPF (2020). The dietary antioxidant quercetin reduces hallmarks of bleomycin-induced lung fibrogenesis in mice. *BMC Pulmonary Medicine* **20**, 1–16. doi:10.1186/S12890-020-1142-X/FIGURES/6
- Boshra YR, Mostafa YA, Hamed ANE, Desoukey SY, Fahim JR (2023). Wound healing potential of Narcissus pseudonarcissus L. bulbs supported with chemical and

- molecular docking investigations. *South African Journal of Botany* **157**, 490–501. doi:10.1016/j.sajb.2023.04.028
- Boudjelal A, Napoli E, Benkhaled A, Benazi L, Bey R, Gentile D, Ruberto G (2022). In vivo wound healing effect of Italian and Algerian Pistacia vera L. resins. *Fitoterapia* **159**, 105197. doi:10.1016/J.FITOTE.2022.105197
- Boyce PC, Croat TB The Überlist of Araceae, Totals for Published and Estimated Number of Species in Aroid Genera.
- Boyce PC, Wong SY (2019). Borneo and its disproportionately large rheophytic aroid flora. *Gardens' Bulletin Singapore* **71**, 497–524. doi:10.26492/gbs71(suppl)
- Buchet S, Gatin CL (1908). Un cas de polyembryonie chez le Triglochin palustre L. et une germination anormale de l'Arisarum vulgare Targ.-Tozz. *Bulletin de la Societe Botanique de France* **55**, 164–169. doi:10.1080/00378941.1908.10831951
- Casadiego O, Macias O, García L, Sanabria-Chanaga E, Baay-Guzmán GJ, Mantilla JC, Escobar P (2023). In-Silico Selection of Wound-Healing Plant Secondary Molecules and Their Pro-Healing Activities on Experimental Models. *Chemistry & Biodiversity* **20**, e202300961. doi:10.1002/CBDV.202300961
- Cedillo-Cortezano M, Martinez-Cuevas LR, López JAM, Barrera López IL, Escutia-Perez S, Petricevich VL (2024). Use of Medicinal Plants in the Process of Wound Healing: A Literature Review. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* **17**. doi:10.3390/PH17030303
- Chabane S, Boudjelal A, Keller M, Doubakh S, Potterat O (2021). Teucrium polium - wound healing potential, toxicity and polyphenolic profile. *South African Journal of Botany* **137**, 228–235. doi:10.1016/J.SAJB.2020.10.017
- Chalkha M, Chebbac K, Nour H, Nakkabi A, El A, Tüzün B, Bourhia M, Chtita S, Bakhouch M, Laaroussi H, Kawsar SMA, Ben T, Al G, Augustyniak M, Aboul-soud MAM, El M (2024). In vitro and in silico evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of spiropyrazoline oxindole congeners. *Arabian Journal of Chemistry* **17**, 105465. doi:10.1016/j.arabjc.2023.105465
- Chatterjee N, Walker GC (2017). Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. *Environmental and molecular mutagenesis* **58**, 235. doi:10.1002/EM.22087
- Chaudhary M, Tyagi K (2024). A REVIEW ON MOLECULAR DOCKING AND ITS APPLICATION. *International Journal of Advanced Research* **12**, 1141–1153. doi:10.21474/IJAR01/18505

- Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry* **34**, 540–560. doi:10.1016/J.ULTSONCH.2016.06.035
- Chen LY, Huang CN, Liao CK, Chang HM, Kuan YH, Tseng TJ, Yen KJ, Yang KL, Lin HC (2020). Effects of Rutin on Wound Healing in Hyperglycemic Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* **9**, 1–13. doi:10.3390/ANTIOX9111122
- Cioce A, Cavani A, Cattani C, Scopelliti F (2024). Role of the Skin Immune System in Wound Healing. *Cells* **13**, 624. doi:10.3390/CELLS13070624/S1
- CLSI (2020). ‘M100 Performance Standards for Antimicrobial’
- Comlekcioglu N, Kutlu M (2021). Fatty acids, bioactive substances, antioxidant and antimicrobial activity of *Ankyropetalum* spp., a novel source of nervonic acid. *Grasas y Aceites* **72**, e399. doi:10.3989/gya.0105201
- Croat TB, Ortiz OO (2020). Distribution of araceae and the diversity of life forms. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **89**. doi:10.5586/ASBP.8939
- Dai J, Mumper RJ (2010). molecules Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* **15**, 7313–7352. doi:10.3390/molecules15107313
- Dam SM, Van HT (2022). Chemical profiles and biological activities of essential oils of *Arisaema* and *Homalomena* species (Araceae) – A review. *Journal of Phytology* **14**, 41–49. doi:10.25081/jp.2022.v14.7444
- Van Damme EJM, Goossens K, Smeets K, Van Leuven F, Verhaert P, Peumans WJ (1995). The Major Tuber Storage Protein of Araceae Species Is a Lectin (Characterization and Molecular Cloning of the Lectin from *Arum maculatum* L.). *Plant Physiology* **107**, 1147–1158. doi:10.1104/PP.107.4.1147
- Deghima A, Righi N, Rosales-Conrado N, León-González ME, Gómez-Mejía E, Madrid Y, Baali F, Bedjou F (2020). Bioactive polyphenols from *Ranunculus macrophyllus* Desf. Roots: Quantification, identification and antioxidant activity. *South African Journal of Botany* **132**, 204–214. doi:10.1016/J.SAJB.2020.03.036
- Dharshan KS (2018). Docking Studies for Assessment of Wound Healing Potential of Dalethyne Derivatives: An in Silico Approach. *Computational Biology and Bioinformatics* **6**, 36–50. doi:10.11648/j.cbb.20180602.12

- Dinareello CA (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. ,. *Blood* **117**, 3720–3732.
- Dizdaroglu M, Jaruga P (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free radical research* **46**, 382–419. doi:10.3109/10715762.2011.653969
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal N (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 654–660. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028
- DJerrou Z (2011). Effets de quelques molécules naturelles en médecine: Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de Pistacia lentiscus L. *Pharmacologie toxicologie*,.
- Dorman HJD, Deans SG (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* **88**, 308–316. doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x
- Dupont F, Guignard J-Louis (2012). Botanique : les familles de plantes. , 300. Available at: <https://books.google.com/books/about/Botanique.html?hl=fr&id=0PpGpH31VbkC> [accessed 11 September 2024]
- Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling* **61**, 3891–3898. doi:10.1021/ACS.JCIM.1C00203/SUPPL\_FILE/CI1C00203\_SI\_002.ZIP
- Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A.F., Forli S (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*.].
- Elachouri M, Ouasti I, Ouasti M, Names L (2023). Arisarum vulgare O. Targ. Tozz. A. , 1–4.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* **7**, 88–95. doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9
- Esclapez MD, García-Pérez J V., Mulet A, Cárcel JA (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews* **3**, 108–120. doi:10.1007/s12393-011-9036-6

- Ferrer-Gallego P (2014). Typification of *Arisarum Vulgare* O. Targ. Tozz. (Araceae). *Candollea* **69**, 115–118. doi:10.15553/C2014V692A2
- Firmansyah Y, Sidharta VM, Wijaya L, Tan ST (2024). Unraveling the Significance of Growth Factors (TGF- $\beta$ , PDGF, KGF, FGF, Pro Collagen, VEGF) in the Dynamic of Wound Healing. *Asian Journal of Medicine and Health* **22**, 49–61. doi:10.9734/ajmah/2024/v22i3992
- Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & function* **10**, 514–528. doi:10.1039/C8FO01997E
- Frausin G, Lima RBS, Hidalgo AF, Ming LC, Pohlit AM (2015). Plants of the araceae family for malaria and related diseases: A review. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **17**, 657–666. doi:10.1590/1983-084X/14\_024
- Gajendra K, Pratap GK, Poornima D V., Shantaram M, Ranjita G (2024). Natural acetylcholinesterase inhibitors: A multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports* **11**, 100154. doi:10.1016/j.ejmcr.2024.100154
- Gali L, Bedjou F (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*. *South African Journal of Botany* **120**, 163–169. doi:10.1016/j.sajb.2018.04.011
- Ganeshpurkar A, Saluja AK (2017). The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal* **25**, 149–164. doi:10.1016/j.jsps.2016.04.025
- Gao C, Zhou Y, Li H, Cong X, Jiang Z, Wang X, Cao R, Tian W (2017). Antitumor effects of baicalin on ovarian cancer cells through induction of cell apoptosis and inhibition of cell migration in vitro. *Molecular Medicine Reports* **16**, 8729–8734. doi:10.3892/mmr.2017.7757
- Gounden V, Singh M (2024). Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. *Gels* **10**. doi:10.3390/gels10010043
- Güner A., Kandemir Ali (2018). Resimli Türkiye florası. Cilt 2. , 1054. Available at: <https://satis.ang.org.tr/urun/resimli-turkiye-florasi-cilt-2/> [accessed 22 September 2024]
- Gurib-Fakim A (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* **27**, 1–93. doi:10.1016/j.mam.2005.07.008

- Hammad S, Bouaziz-Terrachet S, Meghnem R, Meziane D (2020). Pharmacophore development, drug-likeness analysis, molecular docking, and molecular dynamics simulations for identification of new CK2 inhibitors. *Journal of Molecular Modeling* **26**, 160. doi:10.1007/s00894-020-04408-2
- Hasnat H, Shompa SA, Islam MM, Alam S, Richi FT, Emon NU, Ashrafi S, Ahmed NU, Chowdhury MNR, Fatema N, Hossain MS, Ghosh A, Ahmed F (2024). Flavonoids: A treasure house of prospective pharmacological potentials. *Heliyon* **10**, e27533. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27533
- Hassanpour SH, Doroudi A (2023a). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine* **13**, 354–376. doi:10.22038/AJP.2023.21774
- Hassanpour SH, Doroudi A (2023b). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine* **13**, 354–376. doi:10.22038/AJP.2023.21774
- HEGNAUER R (1963). The Taxonomic Significance of Alkaloids. *Chemical Plant Taxonomy*, 389–427. doi:10.1016/B978-0-12-395540-1.50018-X
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* **13**, 572–584. doi:10.1016/S0955-2863(02)00208-5
- Henriquez CL, Arias T, Pires JC, Croat TB, Schaal BA (2014). Phylogenomics of the plant family Araceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **75**, 91–102. doi:10.1016/j.ympev.2014.02.017
- Hu HY, Zhang ZZ, Jiang XY, Duan TH, Feng W, Wang XG (2023). Hesperidin Anti-Osteoporosis by Regulating Estrogen Signaling Pathways. *Molecules* **28**. doi:10.3390/molecules28196987
- Iamonico D (2020). Linnaean names in Arum (Araceae): Typification of *A. arisarum* (= *Arisarum vulgare*) and *A. tenuifolium* (= *Biarum tenuifolium*). *TAXON* **69**, 578–581. doi:10.1002/TAX.12229
- Ilyass AM, Loubna K, Noureddine B, Mostafa E (2021). Ethnobotanical profile of medicinal plants used by people of North-eastern Morocco: Cross-cultural and historical approach (part I). *Ethnobotany Research and Applications* **21**. doi:10.32859/ERA.21.34.1-45

- Inestrosa NC, Dinamarca MC, Alvarez A (2008). Amyloid-cholinesterase interactions. Implications for Alzheimer's disease. *The FEBS journal* **275**, 625–632. doi:10.1111/J.1742-4658.2007.06238.X
- Ingole A, Kadam MP, Dalu AP, Kute SM, Mange PR, Theng VD, Lahane OR, Nikas AP, Kawal Y V, Nagrik SU, Patil PA (2021). A Review of the Pharmacological Characteristics of Vanillic Acid. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* **11**, 200–204. doi:10.22270/jddt.v11i2-s.4823
- Islam S, Adam Z, Akanda JH (2024). Quinic and caffeic acids derivatives : Affecting antioxidant capacities and phenolics contents of certain therapeutic and specialty crops employing water and ethanolic extracts. *Food Chemistry Advances* **4**, 100693. doi:10.1016/j.focha.2024.100693
- Ivanov M, Novović K, Malešević M, Dinić M, Stojković D, Jovčić B, Soković M (2022). Polyphenols as Inhibitors of Antibiotic Resistant Bacteria-Mechanisms Underlying Rutin Interference with Bacterial Virulence. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* **15**. doi:10.3390/PH15030385
- Iyyam Pillai S, Palsamy P, Subramanian S, Kandaswamy M (2010). Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharmaceutical Biology* **48**, 1198–1206. doi:10.3109/13880200903578754
- Ji Z, Deng W, Chen D, Liu Z, Shen Y, Dai J, Zhou H, Zhang M, Xu H, Dai B (2024). Recent understanding of the mechanisms of the biological activities of hesperidin and hesperetin and their therapeutic effects on diseases. *Heliyon* **10**, e26862. doi:10.1016/J.HELIYON.2024.E26862
- Jorgensen JH, Ferraro MJ (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices OVERVIEW OF COMMONLY USED SUSCEPTIBILITY TESTING METHODS. *Clinical Infectious Diseases* **49**, 1749–55. doi:10.1086/647952
- K. Boutennoun H. BLBNMLBMKA-Q (2023). In vivo assessment of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Phlomis crinita* polyphenols. *Eur. J. Biol. Res* **13**, 94–105. doi:http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7860334
- Kadri H, Djilani SE, Jilani A (2013). Phytochemical constituents, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Arisarum vulgare* seeds. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* **12**, 169–173.

- Kant K, Lal UR, Rawat R, Kumar A, Ghosh M (2020). Genus Arisaema: A Review of Traditional Importance, Chemistry and Biological Activities. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* **23**, 624–648. doi:10.2174/1386207323666200416150754
- Karas VO, Westerlaken I, Meyer AS (2013). Application of an In vitro DNA Protection Assay to Visualize Stress Mediation Properties of the Dps Protein. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 50390. doi:10.3791/50390
- Kaur M, Singh K, Rup PJ, Kamboj SS, Saxena AK, Sharma M, Bhagat M, Sood SK, Singh J (2006). A tuber lectin from *Arisaema jacquemontii* Blume with anti-insect and anti-proliferative properties. *Journal of biochemistry and molecular biology* **39**, 432–440. doi:10.5483/BMBREP.2006.39.4.432
- Kharchoufa L, Bouhrim M, Bencheikh N, Addi M, Hano C, Mechchate H, Elachouri M (2021a). Potential toxicity of medicinal plants inventoried in northeastern morocco: An ethnobotanical approach. *Plants* **10**. doi:10.3390/plants10061108
- Kharchoufa L, Bouhrim M, Bencheikh N, Addi M, Hano C, Mechchate H, Elachouri M (2021b). Potential Toxicity of Medicinal Plants Inventoried in Northeastern Morocco: An Ethnobotanical Approach. *Plants (Basel, Switzerland)* **10**. doi:10.3390/PLANTS10061108
- Khotimah H, Setiawan A, Rita CI, Mardiyah M, Ali A, Sukatman MP, Retnaningtyas E, Ismail DDSL, Widasmara D, Nurseta T, Sujuti H (2021). In silico studies of natural compounds of *Centella Asiatica* as anti-aging and wound healing agents. In ‘AIP Conference Proceedings’. (American Institute of Physics Inc.) doi:10.1063/5.0053016
- Kim KH, Moon E, Kim HK, Oh JY, Kim SY, Choi SU, Lee KR (2012). Phenolic constituents from the rhizomes of *Acorus gramineus* and their biological evaluation on antitumor and anti-inflammatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **22**, 6155–6159. doi:10.1016/J.BMCL.2012.08.016
- Kim MJ, Song YR, Kim YE, Bae SJ, Lee WY, Bak SB, Kim YW (2023a). Kaempferol stimulation of autophagy regulates the ferroptosis under the oxidative stress as mediated with AMP-activated protein kinase. *Free Radical Biology and Medicine* **208**, 630–642. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2023.09.008

- Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B, Zaslavsky L, Zhang J, Bolton EE (2023b). PubChem 2023 update. *Nucleic acids research* **51**, D1373–D1380. doi:10.1093/NAR/GKAC956
- Kochmarov V, Marinov L, Kozuharova E, Hadjimitova V, Traykov T, Biljali S, Nuhui N, Benbassat N, Momekov G, Kochmarov V, Marinov L, Kozuharova E, Benbassat N, Momekov G (2020). Exploration of collagenase , cyclooxygenases , angiogenesis and free radical processes as the putative pharmacological targets of Arum. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **34**, 126–134. doi:10.1080/13102818.2020.1722239
- Koilpillail J (2014). In silico docking study of salicylic acid on gene expression during wound healing. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences JCHPS Special Issue* **2**, 974–2115.
- Kourtı M, Alvanou M V, Skaperda Z, Tekos F, Papaefstathiou G, Stathopoulos P, Kouretas D (2023). Antioxidant and DNA-Protective Activity of an Extract Originated from Kalamon Olives Debittering. *Antioxidants* **12**. doi:10.3390/antiox12020333
- Kumar S, Pandey AK (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal* **2013**, 16. doi:10.1155/2013/162750
- Lamkadem M, Melhaoui A, Mimouni J, Fontange R, Buclon M (2000). Cytotoxic effect and electrophysiological activity of (S)-bgugaine, an alkylypyrrolidine alkaloid against MRC-5 fibroblasts. *Phytomedicine* **7**, 145–149. doi:10.1016/S0944-7113(00)80087-2
- Lee JJ, Yoon KY (2022). Ultrasound-Assisted Extractions for Improving the Recovery of Phenolics and Charantin from Bitter Melon and for Increasing the Antioxidant , Antidiabetic and Anti-Obesity Activities of Its Extracts. **72**, 141–150. doi:10.31883/pjfn/149434
- Lekmine S, Benslama O, Kadi K, Martín-García AI, Yilmaz MA, Akkal S, Boumegoura A, Alhomida AS, Ola MS, Ali A (2023). LC/MS-MS Analysis of Phenolic Compounds in Hyoscyamus albus L. Extract: In Vitro Antidiabetic Activity, In Silico Molecular Docking, and In Vivo Investigation against STZ-Induced Diabetic Mice. *Pharmaceuticals* **16**. doi:10.3390/ph16071015
- Li C, Chen S, Sha J, Cui J, He J, Fu J, Shen Y (2021a). Extraction and purification of total flavonoids from *Eupatorium lindleyanum* DC. and evaluation of their antioxidant and

- enzyme inhibitory activities. *Food Science & Nutrition* **9**, 2349–2363. doi:10.1002/FSN3.1999
- Li H, Huang D, Gao Z, Chen Y, Zhang L, Zheng J (2013). Scutellarin inhibits the growth and invasion of human tongue squamous carcinoma through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 and  $\alpha v \beta 6$  integrin. *International Journal of Oncology* **42**, 1674–1681. doi:10.3892/ijo.2013.1873
- Li H yun, Hao Z bin, Wang X li, Huang L, Li J ping (2009). Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Bioresource Technology* **100**, 970–974. doi:10.1016/J.BIORTECH.2008.07.021
- Li J, Kim KW, Oh H, Kim YC (2021b). Anti-inflammatory effects of sanhuang-siwu-tang in lipopolysaccharide-stimulated raw264.7 macrophages and bv2 microglial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **44**, 535–543. doi:10.1248/BPB.B20-00871
- Liu YM, Feng YD, Lu X, Nie JB, Li W, Wang LN, Tian LJ, Liu QH (2017). Isosteroidal alkaloids as potent dual-binding site inhibitors of both acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from the bulbs of *Fritillaria walujewii*. *European journal of medicinal chemistry* **137**, 280–291. doi:10.1016/J.EJMECH.2017.06.007
- Lopez BS (2023). Controlled production of reactive oxygen species in response to DNA replication stress protects genome stability. *Medecine/Sciences* **39**, 612–614. doi:10.1051/medsci/2023101
- Losada-Barreiro S, Sezgin-Bayindir Z, Paiva-Martins F, Bravo-Díaz C (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines* 2022, Vol. 10, Page 3051 **10**, 3051. doi:10.3390/BIOMEDICINES10123051
- Lu K, Wu C, Bao J (2021). Molecular modeling, expression and wound-repair activity in vivo of platelet-derived growth factor from *Periplaneta americana*. *Process Biochemistry* **110**, 151–162. doi:10.1016/j.procbio.2021.08.009
- MAIRE R (1957). ‘ Flore de l’Afrique du Nord ’ Ed Paul Lechevalier. (Paris)
- Mareček V, Mikyška A, Hampel D, Čejka P, Neuwirthová J, Malachová A, Cerkal R (2017). ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *Journal of Cereal Science* **73**, 40–45. doi:10.1016/j.jcs.2016.11.004
- Marque V (2010). Manuel de techniques d’anatomo-cytopathologique. First ed. *Elsevier Masson, Paris*.

- Mashreghi M, Bazaz MR, Shahri NM, Asoodeh A (2013). Topical effects of frog ‘rana ridibunda’ skin secretions on wound healing and reduction of wound microbial load. *Journal of Ethnopharmacology* **145**, 793–797. doi:10.1016/j.jep.2012.12.016
- Matailo A, Bec N, Calva J, Ramírez J, Andrade JM, Larroque C, Vidari G, Armijos C (2020). Selective BuChE inhibitory activity, chemical composition, and enantiomer content of the volatile oil from the Ecuadorian plant *Clinopodium brownei*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **29**, 749–754. doi:10.1016/J.BJP.2019.08.001
- Mathew-Steiner SS, Roy S, Sen CK (2021). Collagen in wound healing. *Bioengineering* **8**. doi:10.3390/bioengineering8050063
- Mathur N, Chandragiri SS, Sarita, Shandily S, Santoki KM, Vadhavana NN, Shah S, Chandra M, Mathur N, Chandragiri SS, Sarita, Shandily S, Santoki KM, Vadhavana NN, Shah S, Chandra M (2024). In Silico Docking: Protocols for Computational Exploration of Molecular Interactions. *Unravelling Molecular Docking - From Theory to Practice [Working Title]*. doi:10.5772/INTECHOPEN.1005527
- Meddour OM-SR (2015). Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia ( Tizi Ouzou , Algeria ). *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants*. doi:10.48347/IMIST.PRSM/ajmap-v1i2.4331
- Melhaoui A, Belouali H (1998). DNA affinity of active alkaloids from *Arisarum vulgare* Targ. *Journal of Ethnopharmacology* **62**, 67–71. doi:10.1016/S0378-8741(98)00052-X
- Mesulam MM, Guillozet A, Shaw P, Levey A, Duysen EG, Lockridge O (2002). Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* **110**, 627–639. doi:10.1016/S0306-4522(01)00613-3
- Mohammed A, Jamila F, Mostafa E (2021). First insight on ethnobotanical appraisal of plants used traditionally as medicine by berber community (Amazigh-speaking), living in driouch province (north-eastern morocco). *Ethnobotany Research and Applications* **22**. doi:10.32859/ERA.22.24.1-71
- Mohammed Salih S, Amrajaa Abdulraziq A, Al-Mukhtar O (2024). Morphological Characteristics of Endemic Species of Araceae to Al-Jabal Al-Akhdar, Libya (Field Simulation). *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences* **11**, 21–25. Available at: [www.isroset.org](http://www.isroset.org) [accessed 12 September 2024]

- Mokrani A, Madani K (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology* **162**, 68–76. doi:10.1016/J.SEPPUR.2016.01.043
- M'rabet Y, Rokbeni N, Cluzet S, Boulila A, Richard T, Krisa S, Marzouki L, Casabianca H, Hosni K (2017). Industrial Crops & Products Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. leaves and fruits at two stages of maturity. *Industrial Crops & Products* **107**, 232–243. doi:10.1016/j.indcrop.2017.05.048
- Mssillou I, Bakour M, Slighoua M, Laaroussi H, Saghrouchni H, Amrati FE, Lyoussi B, Derwich E (2022). Investigation on wound healing effect of Mediterranean medicinal plants and some related phenolic compounds: A review. *Journal of Ethnopharmacology* **298**, 115663. doi:10.1016/j.jep.2022.115663
- Mutha RE, Tatiya AU, Surana SJ (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* **7**, 25. doi:10.1186/s43094-020-00161-8
- Muthu C, Ayyanar M, Raja N, Ignacimuthu S (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **2**, 1–10. doi:10.1186/1746-4269-2-43/FIGURES/4
- NCCLS (2001). NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2001. Performance Standards for Anti-microbial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement. Document M 100-s11. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, PA, USA. , Table 2I.
- Nelson L; SR ;Balick, M (2007). 'Handbook of Poisonous and Injurious Plants'. (Springer US: Boston, MA) doi:10.1007/978-0-387-33817-0
- Nikom Srikacha KRatananikom (2020). activity of plant extracts in different solvents against pathogenic bacteria: An in vitro experiment. *J Acute Dis* **9**, 223-226.
- Nortjie E, Basitere M, Moyo D, Nyamukamba P (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. *Plants* **11**, 2011. doi:10.3390/plants11152011
- OECD (2015). Acute Dermal Irritation / Corrosion. , 1–8.
- Ou Q, Zhang S, Fu C, Yu L, Xin P, Gu Z, Cao Z, Wu J, Wang Y (2021). More natural more better: triple natural anti-oxidant puerarin/ferulic acid/polydopamine

- incorporated hydrogel for wound healing. *Journal of Nanobiotechnology* **19**, 237. doi:10.1186/s12951-021-00973-7
- Ozen T, Yenigun S, Toka M (2022). Phenolic profile, antioxidant, DNA protection, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and urease inhibition activities of *Coriandrum sativum* L. leaf, seed and flower extracts. *International Journal of Chemical Technology* **6**, 21–32. doi:10.32571/IJCT.1024979
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science* **5**. doi:10.1017/JNS.2016.41
- Pandey A, Belwal T, Sekar KC, Bhatt ID, Rawal RS (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM). *Industrial Crops and Products* **119**, 218–225. doi:10.1016/j.indcrop.2018.04.019
- Parlatore M (2014). Note Sur L ' arisarum. **8941**. doi:10.1080/00378941.1856.10826136
- Pivec T, Kargl R, Maver U, Bračić M, Elschner T, Žagar E, Gradišnik L, Kleinschek KS (2019). Chemical Structure-Antioxidant Activity Relationship of Water-Based Enzymatic Polymerized Rutin and Its Wound Healing Potential. *Polymers* **11**. doi:10.3390/POLYM11101566
- Qi CY, Wang J, Wu X, He SR, Zhang Q, Wu JH, Zhao CB (2021). Botanical, Traditional Use, Phytochemical, and Toxicological of *Arisaematis rhizoma*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2021**, 9055574. doi:10.1155/2021/9055574
- Quezel, P. Santa S (1963). 'Nouvelle Flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales. Tome II. Paris, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, 1963. In: La Terre et La Vie, Revue d'Histoire naturelle, tome'
- Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovic NM (2013). Antimicrobial Plant Metabolites: Structural Diversity and Mechanism of Action. *Current Medicinal Chemistry* **20**, 932–952. doi:10.2174/0929867311320070008
- Rakba N, Melhaoui A, Loyer P, Guy Delcros J, Morel I, Lescoat G (1999). Bgugaine, a pyrrolidine alkaloid from *Arisarum vulgare*, is a strong hepatotoxin in rat and human liver cell cultures. *Toxicology letters* **104**, 239–248. doi:10.1016/S0378-4274(98)00375-0
- Rakba N, Melhaoui A, Rissel M, Morel I, Loyer P, Lescoat G (2000). Irniine, a pyrrolidine alkaloid, isolated from *Arisarum vulgare* can induce apoptosis and/or necrosis in rat

- hepatocyte cultures. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology* **38**, 1389–1402. doi:10.1016/S0041-0101(99)00232-9
- Rathi V, Sagi SSK, Yadav AK, Kumar M, Varshney R (2024). Quercetin prophylaxis protects the kidneys by modulating the renin – angiotensin – aldosterone axis under acute hypobaric hypoxic stress. *Scientific Reports*, 1–16. doi:10.1038/s41598-024-58134-3
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Original Contribution ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY.
- Rhimi W, Hlel R, Salem I Ben, Boulila A, Rejeb A, Saidi M (2019). Dittrichia viscosa L. Ethanolic Extract Based Ointment with Antiradical, Antioxidant, and Healing Wound Activities. *BioMed Research International* **2019**. doi:10.1155/2019/4081253
- Riaz A, Ali S, Summer M, Noor S, Nazakat L, Aqsa, Sharjeel M (2024). Exploring the underlying pharmacological, immunomodulatory, and anti-inflammatory mechanisms of phytochemicals against wounds: a molecular insight. *Inflammopharmacology*. doi:10.1007/S10787-024-01545-5
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* **20**, 933–956. doi:10.1016/0891-5849(95)02227-9
- Sachdeo R, Khanwelkar C, Shete A (2024). In silico exploration of Berberine as a potential wound healing agent via network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation. *International Journal of Applied Pharmaceutics* **16**, 188–194. doi:10.22159/ijap.2024v16i2.49922
- Saha S, Islam MK, Shilpi JA, Hasan S (2013). Inhibition of VEGF: a novel mechanism to control angiogenesis by Withania somnifera's key metabolite Withaferin A. *In Silico Pharmacology* **1**. doi:10.1186/2193-9616-1-11
- Senouci F, Ababou A, Senouci S, Bouzada N (2023). Traditional Medicinal Plants Applied for the Treatments of Gastrointestinal Diseases in Chlef , Algeria. *Egyptian Journal of Botany* **63**, 419–429. doi:10.21608/ejbo.2022.132173.1959
- Shen L, Pang S, Zhong M, Sun Y, Qayum A, Liu Y, Rashid A, Xu B, Liang Q, Ma H, Ren X (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined

- technologies. *Ultrasonics Sonochemistry* **101**, 106646. doi:10.1016/J.ULTSONCH.2023.106646
- Silva JV da S, Rosário DM do, Veiga A do SS da, Vasconcelos F de, Percário S, Dolabela MF (2013). A bibliographic review on the family Araceae with foccus on the genera Pistia, Philodendron and Montrichardia : botanical, phytochemical and biological activity aspects . *Revista Fitos* **8**. doi:10.5935/1808-9569.20130006
- Smeriglio A, Denaro M, D'Angelo V, Germanò MP, Trombetta D (2020). Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Properties of Citrus lumia Juice. *Frontiers in Pharmacology* **11**, 1–14. doi:10.3389/fphar.2020.593506
- Srief M, Bani M, Mokrani EH, Mennai I, Hamdi M, Boumechhour A, Abou Mustapha M, Derdour M, Kerkatou M, El-Shazly M, Bensouici C, Nieto G, Akkal S (2023). Evaluation of In Vitro and In Silico Anti-Alzheimer Potential of Nonpolar Extracts and Essential Oil from Mentha piperita. *Foods* **12**, 190. doi:10.3390/FOODS12010190/S1
- Sun R, Liu C, Liu J, Yin S, Song R, Ma J, Cao G, Lu Y, Zhang G, Wu Z, Chen A, Wang Y (2023). Integrated network pharmacology and experimental validation to explore the mechanisms underlying naringenin treatment of chronic wounds. *Scientific Reports* **13**, 1–20. doi:10.1038/s41598-022-26043-y
- Suthari S, Kota S, Kanneboyena O, Gul MZ, Abbagani S (2021). Ethnobotanical perspectives in the treatment of communicable and noncommunicable diseases. In 'Phytomedicine'. pp. 251–289. (Elsevier) doi:10.1016/B978-0-12-824109-7.00016-9
- Tamilselvam K, Braidy N, Manivasagam T, Essa MM, Prasad NR, Karthikeyan S, Thenmozhi AJ, Selvaraju S, Guillemin GJ (2013). Neuroprotective Effects of Hesperidin, a Plant Flavanone, on Rotenone-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in a Cellular Model for Parkinson's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2013**, 1–11. doi:10.1155/2013/102741
- Trott O, Olson AJ (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of computational chemistry* **31**, 455. doi:10.1002/JCC.21334
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by

- ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry* **99**, 835–841. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2005.08.034
- Valentová K, Vrba J, Bancířová M, Ulrichová J, Křen V (2014). Isoquercitrin: Pharmacology, toxicology, and metabolism. *Food and Chemical Toxicology* **68**, 267–282. doi:10.1016/j.fct.2014.03.018
- Velankar S, Burley SK, Kurisu G, Hoch JC, Markley JL (2021). The Protein Data Bank Archive. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **2305**, 3–21. doi:10.1007/978-1-0716-1406-8\_1
- Velkov Z, Balabanova E, Tadjer A (2007). Radical scavenging activity prediction of o-coumaric acid thioamide. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **821**, 133–138. doi:10.1016/j.theochem.2007.06.034
- Velnar T, Bailey T, Smrkolj V (2009). The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research* **37**, 1528–1542. doi:10.1177/147323000903700531
- Vendrame S, Alaba T, Marchi N, Tsakiroglou P, Klimis-zacas D (2024). In Vitro and In Vivo Evaluation of Bioactive Compounds from Berries for Wound Healing Potential Effects of Berry Bioactive Compounds. *Current Developments in Nutrition* **8**, 102078. doi:10.1016/j.cdnut.2024.102078
- Venkadakrishnan J, Chatterjee A, Saha R, Chatterjee K, Deb PK, Sarkar B, Mazumder PM (2024). Ameliorative effect of apple cider vinegar and p-coumaric acid combination in Ex ovo antimicrobial and in vivo wound healing models. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine* **10**, 100364. doi:10.1016/j.prmcm.2024.100364
- Wang J, Bi W, Cheng A, Freire D, Vempati P, Zhao W, Gong B, Janle EM, Chen T-Y, Ferruzzi MG, Schmeidler J, Ho L, Pasinetti GM (2014). Targeting multiple pathogenic mechanisms with polyphenols for the treatment of Alzheimer’s disease-experimental approach and therapeutic implications. *Frontiers in Aging Neuroscience* **6**, 42. doi:10.3389/fnagi.2014.00042
- Wang X, Han G, Owens P, Siddiqui Y, Li AG (2006). Role of TGF b -Mediated Inflammation in Cutaneous Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* **11**, 112–117. doi:10.1038/sj.jidsymp.5650004

- Williams CA, Harborne JB, Mayo SJ (1981). Anthocyanin pigments and leaf flavonoids in the family araceae. *Phytochemistry* **20**, 217–234. doi:10.1016/0031-9422(81)85096-0
- Wink M (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines* 2015, Vol. 2, Pages 251-286 **2**, 251–286. doi:10.3390/MEDICINES2030251
- Wira Waskitha SS, Istyastono EP, Octa Riswanto FD (2023). Molecular Docking Study of Caffeic Acid as Acetylcholinesterase Inhibitor. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 867–873. doi:10.22146/jfps.7665
- Xie L, Deng Z, Zhang J, Dong H, Wang W, Xing B, Liu X (2022). Comparison of Flavonoid O-Glycoside, C-Glycoside and Their Aglycones on Antioxidant Capacity and Metabolism during In Vitro Digestion and In Vivo. *Foods* **11**, 882. doi:10.3390/FOODS11060882
- Yenigun S, Ipek Y, Marah S, Demirtas I, Ozen T (2024). DNA protection, molecular docking, antioxidant, antibacterial, enzyme inhibition, and enzyme kinetic studies for parietin, isolated from *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. *Journal of biomolecular structure & dynamics* **42**, 848–862. doi:10.1080/07391102.2023.2196693
- Yildirim H (2018). Arisarum.
- Yilmaz MA (2020). Industrial Crops & Products Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants : A detailed , robust and comprehensive LC – MS / MS method validation. *Industrial Crops & Products* **149**, 112347. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112347
- Yoon M, Seo SH, Choi S, Han G, Choi KY (2022). Euodia daniellii Hemsl. Extract and Its Active Component Hesperidin Accelerate Cutaneous Wound Healing via Activation of Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Pathway. *Molecules (Basel, Switzerland)* **27**. doi:10.3390/MOLECULES27207134
- Zhang Q, Sun J, Wang Y, He W, Wang L, Zheng Y, Wu J, Zhang Y, Jiang X (2017). Antimycobacterial and anti-inflammatory mechanisms of baicalin via induced autophagy in macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Microbiology* **8**. doi:10.3389/FMICB.2017.02142
- Zhou X, Zhang W, Yao Q, Zhang H, Dong G, Zhang M, Liu Y, Chen JK, Dong Z (2017). Exosome production and its regulation of EGFR during wound healing in renal

tubular cells. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* **312**, F963–F970.  
doi:10.1152/ajprenal.00078.2017

Zulkefli N, Zahari CNMC, Sayuti NH, Kamarudin AA, Saad N, Hamezah HS, Bunawan H, Baharum SN, Mediani A, Ahmed QU, Ismail AFH, Sarian MN (2023). Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. *International Journal of Molecular Sciences* **24**. doi:10.3390/ijms24054607

# **ANNEXES**

## Annexes

### Classification hiérarchique de la plante étudiée

*Domaine : Biota Endl.(D.Don)*

*Règne : Plantae Haeckel, 1866*

*Sous-Règne : Viridiaeplantae*

*Infra-Règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011*

*Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825*

*Clade : Tracheophyta Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998*

*Clade : Spermatophyta*

*Sous-Classe : Magnoliidae Novák ex Takht., 1967*

*Super-Ordre : Lilianae Takht., 1967*

*Ordre : Alismatales R.Br. ex Bercht. & J.Presl, 1820*

*Famille : Araceae Juss., 1789*

*Sous-Famille : Aroideae Arn., 1832*

*Tribu : Arisareae Dumort., 1827*

*Genre : Arisarum Mill., 1754*

*Espèce : Arisarum vulgare O.Targ.Tozz., 1810*

Matériel de laboratoire



Un Rotavapeur rotative

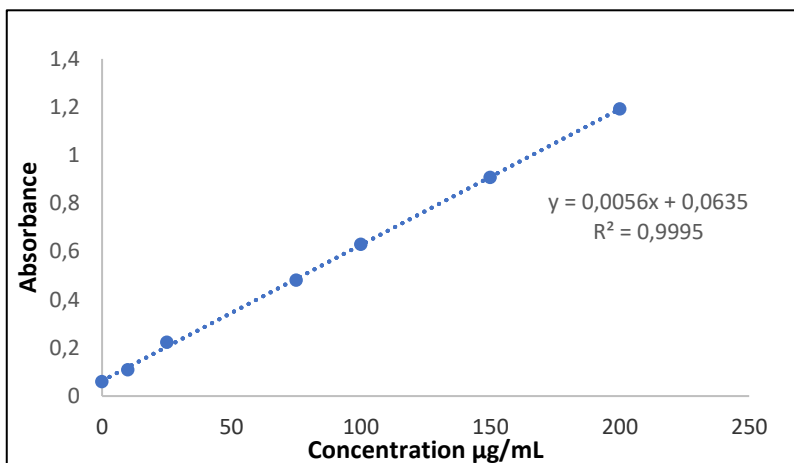


Un Lyophilisateur

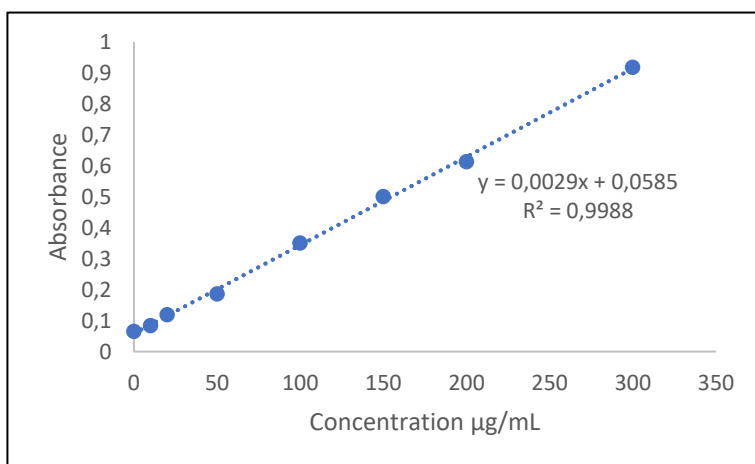


Appareil LC-ESI-MS/MS

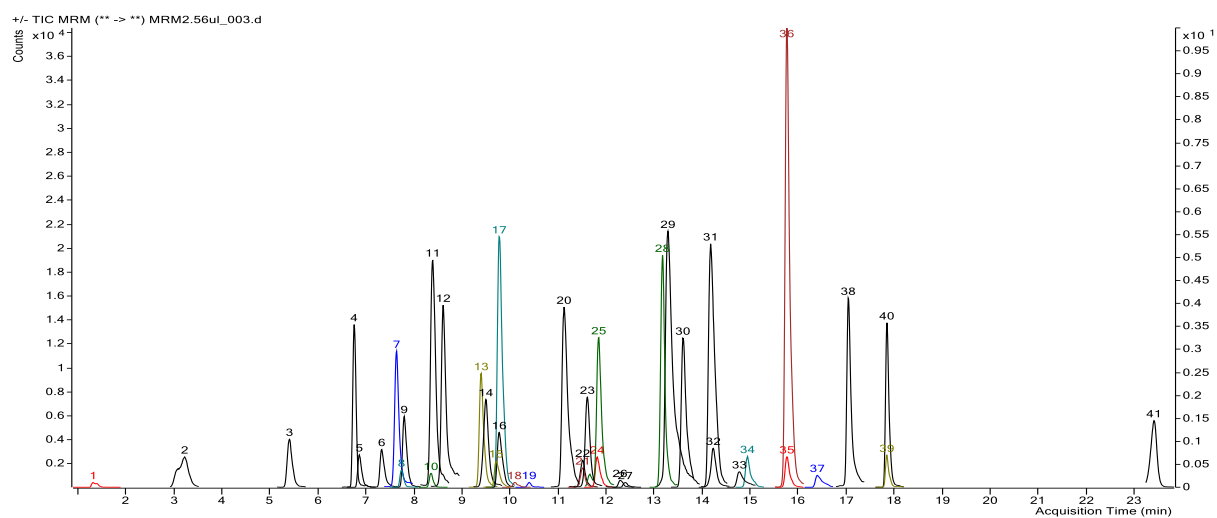
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Courbe d'étalonnage de la quercétine



## Les Chromatogrammes standards HPLC-ESI-MS/MS



<b>1</b>	<b>Shikimic acid</b>	<b>21</b>	<b>p-coumaric acid</b>
<b>2</b>	<b>Gallic acid</b>	<b>22</b>	<b>Coumarin</b>
<b>3</b>	<b>Protocatechuic acid</b>	<b>23</b>	<b>Protocatechuic ethyl ester</b>
<b>4</b>	<b>Epigallocatechin</b>	<b>24</b>	<b>Hesperidin</b>
<b>5</b>	<b>Catechin</b>	<b>25</b>	<b>Isoquercitrin</b>
<b>6</b>	<b>Chlorogenic acid</b>	<b>26</b>	<b>Rutin</b>
<b>7</b>	<b>Hydroxybenzaldehyde</b>	<b>27</b>	<b>Quercetin-3-O-silozid</b>
<b>8</b>	<b>Vanillic acid</b>	<b>28</b>	<b>Kaempferol-3-glucoside</b>
<b>9</b>	<b>Caffeic Acid</b>	<b>29</b>	<b>Fisetin</b>
<b>10</b>	<b>Syringic acid</b>	<b>30</b>	<b>Baicalin</b>
<b>11</b>	<b>Caffein</b>	<b>31</b>	<b>Chrysin</b>
<b>12</b>	<b>Vanillin</b>	<b>32</b>	<b>Trans-cinnamic acid</b>
<b>13</b>	<b>o-coumaric acid</b>	<b>33</b>	<b>Quercetin</b>
<b>14</b>	<b>Salicylic Acid</b>	<b>34</b>	<b>Naringenin</b>
<b>15</b>	<b>Taxifolin</b>	<b>35</b>	<b>Hesperetin</b>
<b>16</b>	<b>Resveratrol</b>	<b>36</b>	<b>Morin</b>
<b>17</b>	<b>Polydatine</b>	<b>37</b>	<b>Kaempferol</b>
<b>18</b>	<b>Trans-ferulic acid</b>	<b>38</b>	<b>Baicalin</b>
<b>19</b>	<b>Sinapic acid</b>	<b>39</b>	<b>Luteolin</b>
<b>20</b>	<b>Scutellarin</b>	<b>40</b>	<b>Biochanin A</b>
		<b>41</b>	<b>Diosgenin</b>