



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De l'enseignement Supérieur Et De La Recherche  
Scientifique



Université Abbes Laghrou Khenchela  
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie  
Département : De Biologie Cellulaire Et Moléculaire

**Mémoire**

Présenté Pour L'obtention Du Diplôme De :

**Master Académique**

**Filière : Science Biologique**

**Option : Génétique**

**Thème :**

***Analyse in silico du gène PTGS2 et de sa protéine, et exploration de la corrélation entre la diversité des molécules bioactives et leur activité anti-inflammatoire et antioxydante chez une plante médicinale***

**Présenté par:**

-DJEFFALI Ouidad

-BRIK Abir

-SLIMANI Meriem

**Encadré par :**

Dr. LEKMINE Sabrina

	<b>Nom et prénom</b>	<b>Grade</b>
<b>Président</b>	Dr KADI Kenza	Prof
<b>Promotrice</b>	Dr LEKMINE Sabrina	MCB
<b>Examineur</b>	Pr Yahia Massinissa	MCA

**Année universitaire : 2023-2024**

## Remerciements

Nous remercions avant tout Dieu Tout-Puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous éclairer sur le chemin du succès.

Au terme de cet humble travail, nous tenons à remercier : **DrLekmine Sabrina** d'avoir accepté de nous encadrer, et cela ne suffirait pas à exprimer notre gratitude pour la grande confiance et le soutien, pour le temps qu'elle nous a accordé lorsque cela était nécessaire, pour les précieux conseils qu'elle nous a prodigués tout au long de notre travail, et pour son aide.

Membres du jury, **Dr SEDRATI Abdenour** et **Pr KADI Kenza**, de l'Université Abbas Lagrou - Khenchela Nous leur adressons nos sincères remerciements à tous les deux pour l'honneur de nous accepter de participer à ce jury. Et le plaisir d'assister à notre soutenance.

Recevez et exprimez notre respect.

Nous adressons nos sincères remerciements à nos professeurs de la Faculté des Sciences naturelles et de la vie et à tous les étudiants du Master 2 Génétique, ainsi qu'à tous les étudiants du Département de Biologie. Nous tenons également à remercier le personnel de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université de Khenchela. Enfin, nous n'oublions pas de dire merci à nos familles car sans eux ce travail n'aurait pas vu le jour, et à tous ceux et celles qu'ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde gratitude.

## Dédicace

Nous n'avons atteint le début qu'avec sa facilitation, et nous n'avons atteint la fin qu'avec son succès, et nous n'avons atteint les objectifs que par sa grâce.

Louange à Dieu, avec amour, remerciement et gratitude

{وآخر دعوانهم ان الحمد رب العالمين}

Après des années de labeur et d'épreuves au nom du rêve et de la connaissance, il portait avec lui les souhaits des nuits, et mon problème aujourd'hui est devenu une horreur. Me voici aujourd'hui, debout sur le seuil de mon diplôme, récoltant les fruits de mon travail. Travail et je lève mon chapeau avec fierté. Ô Dieu, louange à Toi avant d'être satisfait, louange à Toi si tu es satisfait, et louange à Toi après que tu as été satisfait Parce que tu m'as soutenu pour mener à bien ce succès et atteindre mon objectif. Rêve.

Avec amour, je dédie les fruits de ma réussite et de mon diplôme :

À celui dont je porte le nom avec fierté, à ma chère, ma fierté et mon honneur, à celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné pour rien en retour, à celui qui m'a appris que le monde est un combat et son l'arme est la connaissance et la connaissance, mon premier soutien sur mon chemin, mon soutien, ma force et mon refuge après Dieu, ma fierté, **mon père, mon bien-aimé.**

À la lumière de mes jours et à l'éclat de ma vie, à celle dont les prières incluait toujours mon nom, à celle qui a l'âme la plus gentille et le cœur le plus beau. À celle à qui Dieu a placé le paradis sous ses pieds. **À ma mère bien-aimée.**

À ceux par qui je suis plus grand, de qui je dépends et par la présence desquels je gagne une force et un amour sans limites, et à ceux avec qui j'ai appris le sens de la vie, à ceux par qui Dieu a renforcé mon soutien, mes frères et sœurs : (**Assia, Zain eddin , Hayat, Abdalhak, Iyad**).

À la belle coïncidence de ma vie, au soutien permanent, à celui qui a aimé ma réussite encore plus qu'il ne le souhaitait pour lui-même : mon collègue **Houssameddin.**

Aux compagnons d'années et frères de situations :

Enfin, celui qui dit : « Je suis à elle », il « comprend », et je suis à elle, et si elle refuse, contre sa volonté, je l'amènerai. Louange à Dieu, qui n'a jamais été du bien ni de l'espérance. Mais m'a rempli d'un bonheur qui me fait oublier mes difficultés.

**Ouidad**

## Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce de Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie.

À celui qui m'a mis sur le chemin de la vie, qui m'a rendu fidèle et qui m'a nourri jusqu'à ce que je devienne adulte ; à celui que je préfère à moi-même, et pourquoi pas ; Elle s'est sacrifiée pour moi Elle n'a ménagé aucun effort pour me rendre toujours heureux **Ma mère bien-aimée Houria.**

Nous parcourons les chemins de la vie, et il reste quelqu'un qui contrôle notre esprit dans chaque chemin que nous empruntons. A celui qui a une biographie parfumée et une pensée éclairée, à celui qui a un bon visage et de bonnes actions. Il a été le principal contributeur à mes études supérieures. **Mon père bien-aimé Nacer**, que Dieu lui accorde une longue vie.

À mes frères **Mohamed yazidetmeroua** ; Qui a eu un grand impact sur de nombreux obstacles et difficultés.

À mon compagnon de chemin et ami de tous les jours, bons et mauvais, **mon cher mari Samir** , qui a été le plus grand soutien en tout, alors merci beaucoup pour votre confiance en ma réussite et en me poussant vers le meilleur.

À ceux dont la présence a été une bénédiction dans ma vie, et à ceux dont le beau rire a rempli ma vie, à l'enfance qui a rempli mon monde et a rendu mes sentiments heureux, aux plus beaux yeux de mes enfants **TahaTakiEddinetAbd El Mouiz Youssef.**

À mon ami de toujours et à mon compagnon, que je trouve à mes côtés comme mon soutien et qui me souhaite toujours du succès, **mon cher ami Roufaida.**

À **mon encadrante bien-aimé lekminesabrina**, tu étais une bougie qui illuminait mon chemin dans les moments d'obscurité académique ; Vous avez été une inspiration pour moi et je vous en serai éternellement reconnaissant.

**A tous mes amis**, et à tous ceux que j'aime et à toutes les personnes qui m'ont prodigué des encouragements et se sont donné la peine de me soutenir durant cette année de formation.

**Abir**

## Dédicace

À la source d'une tendresse infinie, à celui qui m'a porté quand ils étaient faibles, à celui qui est resté éveillé toute la nuit pour me donner un bon sommeil, qui est venu me chercher auprès de ma chère mère, que Dieu la protège et prolonge sa vie, à toi je dédie le fruit de mes efforts.

A celui qui m'a appris et donné une personnalité unique et qui n'a pas lésiné sur moi avec ses conseils et ses orientations.

A mon père, que Dieu ait pitié de lui et le fasse parmi les gens du Paradis

À mon soutien dans la vie, mon frère et ma sœur, mes personnes les plus chères et les plus proches

Au mari le plus merveilleux qui m'a soutenu dans mon parcours académique, que Dieu le bénisse

Un merci spécial à tous les professeurs tout au long du parcours académique, en particulier le professeur Lakmeen Sabrina, que Dieu la récompense bien.

**Meriem**

## Résumé

Cette étude vise à explorer la diversité des molécules bioactives de l'espèce algérienne *Astragalus arpilobus* subsp. *Hauarensis* en analysant son profil phénolique par LC-MS/MS et en évaluant *in vitro* ses activités antioxydante et anti-inflammatoire. Les tests DPPH et d'inhibition de la dénaturation de la BSA ont été utilisés pour mesurer les propriétés biologiques de l'extrait hydroalcoolique de cette plante. Ces analyses permettront de mieux comprendre le potentiel pharmacologique de cette plante et d'identifier les composés responsables de ses effets bénéfiques. L'extraction des parties aériennes de l'*A. arpilobus* par macération dans un mélange éthanol-eau a permis d'obtenir un extrait avec un rendement élevé de 20%, supérieur aux rendements habituels de 10-15% observés pour d'autres plantes médicinales. L'analyse phytochimique de cet extrait par LC-MS a révélé une grande diversité de composés phénoliques, incluant des acides phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide p-coumarique, l'acide protocatéchique, l'acide trans-férulique, l'acide sinapique, l'hydroxybenzaldéhyde, l'acide salicylique, l'acide chlorogénique et l'acide vanillique. Les flavonoïdes présents ont été caractérisés en différents sous-groupes, incluant les flavan-3-ols (catéchines) et diverses flavones, flavonols, flavanones, et isoflavones, telles que la baicaléine, la scutellarine, la morine, le kaempférol, la quercétine, la fisétine, l'hespérétine, la naringénine et la biochanine A. Des formes glycosylées de flavonoïdes, comme le quercétine-déoxyhexosylhexoside, l'hespérétine-déoxyhexosylhexoside, le quercétinepentoside et le kaempférohexoside, ont également été détectées. L'essai de piégeage du radical DPPH a démontré un potentiel antioxydant significatif de l'extrait, avec un pourcentage d'inhibition de 91.81 % à une concentration de 160 µg/mL et une valeur de CI50 de  $19.44 \pm 0.04$  µg/ml, comparable à celles des standards antioxydants tels que le BHA, le BHT, l'acide ascorbique et l' $\alpha$ -tocophérol. En termes d'activité anti-inflammatoire, la valeur de CI50 de l'extrait (35.73 µg/ml) était nettement inférieure à celles du diclofénac (63.78 µg/ml) et du kétoprofène (164.79 µg/ml), ce qui indique une efficacité supérieure. Ces résultats soulignent le potentiel pharmacologique élevé de l'extrait d'*A. arpilobus* pour atténuer le stress oxydatif et les affections inflammatoires, justifiant des recherches futures approfondies sur ses mécanismes moléculaires et ses applications cliniques. L'étude *in silico* sur le gène PTGS2 et sa protéine a révélé que la molécule Chrysin, présentant une forte affinité de liaison et des propriétés pharmacocinétiques favorables, a été choisie pour des investigations futures.

**Mots clés :** *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis*, composés phénoliques, LC MS/MS ; activités antioxydante et anti-inflammatoire.

## Abstract

This study aims to explore the diversity of bioactive molecules in the Algerian species *Astragalus arpilobus subsp. Huaoranis* by analyzing its phenolic profile using LC-MS/MS and evaluating its antioxidant and anti-inflammatory activities. The *in vitro* DPPH assay and the inhibition of BSA denaturation were employed to assess the biological properties of the hydroalcoholic extract of this plant. These analyses will enhance our understanding of the pharmacological potential of this plant and identify the compounds responsible for its beneficial effects. Extraction of the aerial parts of *A. arpilobus* by maceration in an ethanol-water mixture yielded an extract with a high yield of 20%, exceeding the typical yields of 10-15% observed for other medicinal plants. Phytochemical analysis of this extract by LC-MS revealed a wide variety of phenolic compounds, including acids such as gallic acid, syringic acid, p-coumaric acid, protocatechuic acid, trans-ferulic acid, sinapic acid, hydroxybenzaldehyde, salicylic acid, chlorogenic acid, and vanillic acid. Present flavonoids were characterized into different subgroups, including flavan-3-ols (catechins) and various flavones, flavonols, flavanones, and isoflavones, such as baicalein, scutellarin, morin, kaempferol, quercetin, fisetin, hesperetin, naringenin, and biochanin A. Glycosylated forms of flavonoids, such as quercetin-deoxyhexosylhexoside, hesperetin-deoxyhexosylhexoside, quercetin pentoside, and kaempferol hexoside, were also detected. The DPPH radical scavenging assay demonstrated a significant antioxidant potential of the extract, with an inhibition percentage of 91.81% at a concentration of 160 µg/mL and an IC<sub>50</sub> value of 19.44 ± 0.04 µg/ml, comparable to that of antioxidant standards such as BHA, BHT, ascorbic acid, and α-tocopherol. In terms of anti-inflammatory activity, the IC<sub>50</sub> value of the extract (35.73 µg/ml) was significantly lower than those of diclofenac (63.78 µg/ml) and ketoprofen (164.79 µg/ml), indicating superior efficacy. These results underscore the high pharmacological potential of *A. arpilobus* extract in mitigating oxidative stress and inflammatory conditions, warranting further in-depth research into its molecular mechanisms and clinical applications. The *in silico* study on the PTGS2 gene and its protein revealed that the Chrysin molecule, exhibiting high binding affinity and favorable pharmacokinetic properties, was chosen for future investigations.

**Keywords:** *Astragalus arpilobus subsp. hauarenis*, phenolic compounds, LC MS/MS; Antioxidant activities; anti-inflammatory activities.

هذه الدراسة تهدف إلى استكشاف تنوع الجزيئات النشطة حيويًا لنبات *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis* الجزائري من خلال تحليل محتواه الفينولي بواسطة LC-MS/MS وتقييم نشاطاته المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب. تم استخدام اختبارات DPPH واحتجاز تحلل البروتين البلازميني لقياس الخصائص البيولوجية لمستخلص هذا النبات. ستساعد هذه التحاليل على فهم أفضل للإمكانات الدوائية لهذا النبات وتحديد الجزيئات المسؤولة عن تأثيراته الإيجابية. تمكنت عملية استخراج الأجزاء الهوائية لنبات *Arpilobus* بواسطة النقع في مزيج من الإيثانول والماء من الحصول على مستخلص بنسبة عائد عالية تبلغ 20%، وهو أعلى من النسب العادية التي تتراوح بين 10-15% الملاحظة في النباتات الطبية الأخرى. كشف تحليل المركبات النباتية لهذا المستخلص بواسطة LC-MS عن تنوع كبير من المركبات الفينولية، بما في ذلك الأحماض مثل حمض الجاليك، حمض السيرينجيك، حمض البي-كوماريك، حمض البروتوكاتيك، حمض الترانس-فيروليك، حمض السينابيك، هيدروكسي بنزالديهيد، حمض الساليسيليك، حمض الكلوروجينيك، وحمض الفانيليك. تم توصيف الفلافونويدات الموجودة في مجموعات فرعية مختلفة، بما في ذلك الفلافان-3-ول (الكاتيكينات) ومجموعة متنوعة من الفلافونات، الفلافونولات، الفلافانونات، والإيزوفلافونات، مثل البايكالين، السكوتيلارين، المورين، الكامفيرول، الكويرسيتين، الفيسيتين، الهيسبيريتين، النارينجين، والبيوكانين. A تم الكشف أيضًا عن أشكال متعددة السكر للفلافونويدات، مثل الكويرسيتين-ديوكسيهيكسوزيلهيكسوزيد، والهيسبيريتين-ديوكسيهيكسوزيلهيكسوزيد، والكويرسيتينبننوزيد، والكامفيرول وهيكسوزيد. أظهر اختبار ال DPPH إمكانية مضادة للأكسدة، مع نسبة تثبيط 91.81% عند تركيز 160 ميكروغرام/مل وقيمة CI50 تبلغ  $0.04 \pm 19.44$  ميكروغرام/مل، مقارنة بتلك القيم لمضادات الأكسدة القياسية مثل BHA، BHT، حمض الأسكوربيك، وألفاتوكوفيرول. من حيث النشاط المضاد للالتهاب، كانت قيمة CI50 للمستخلص (35.73 ميكروغرام/مل) أقل بكثير من تلك للديكلوفيناك (63.78 ميكروغرام/مل) والكتوبروفين (164.79 ميكروغرام/مل)، مما يشير إلى فعالية أعلى. تؤكد هذه النتائج الإمكانية الدوائية العالية لمستخلص *Arpilobus* للتخفيف من الإجهاد الأكسدي والحالات الالتهابية، مما يبرر البحوث المستقبلية المعمقة حول آلياتها الجزيئية وتطبيقاتها السريرية. كشفت دراسة *in silico* على جين PTGS2 وبروتينه أنه تم اختيار جزيء Chrysin، الذي يُظهر درجة ارتباط عالية وخصائص حركية دوائية مواتية، لإجراء تحقيقات مستقبلية.

الكلمات المفتاحية: *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis*، المركبات الفينولية، LC MS/MS؛

الأنشطة المضادة للأكسدة. الأنشطة المضادة للالتهابات.

## Liste des abréviations

**1D-NMR** : Résonance magnétique nucléaire unidimensionnelle

**2D-NMR** : Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

**AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens

**AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

**BSA** : albumine sérique bovine

**BHA** : Hydroxyanisole butylé.

**BHT** : Hydroxytoluène butylé

**COX-2** : Cyclooxygénase-2

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**ERK** : Kinase régulée par le signal extracellulaire

**HSA** : albumine sérique humaine

**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance.

**HR-ESI-MS** : Spectrométrie de masse à ionisation par électrosprayhaute résolution

**IC50** : Concentrations inhibitrices à 50%

**IL-1 $\beta$**  : Interleukine-1 bêta

**IL-6** : Interleukine-6

**IL-2** : Interleukine-2

**IL-1** : Interleukine-1

**IL-8** : Interleukine-8

**iNOS** : Oxyde nitrique synthase inductible

**IFN- $\gamma$**  : Interféron gamma

**LC/MS** : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

**NF- $\kappa$ B** : Renforceur de chaîne légère kappa du facteur nucléaire

**NO** : oxyde nitrique

**pH** : phi Potentiel hydrogène

**TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha

**PGE2** : Prostaglandine E2

**TXB2** : thromboxane B2

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Les propriétés anti-inflammatoires de certaines plantes médicinales ( <b>Abu Bakar et al, 2018 ; Ghasemian et al, 2016 ; Maione et al, 2016</b> ) .....	1
Tableau 2 : classification d'Astragalus arpilobus (Dobignard and Chatelain, 2010). .....	1
Tableau 3 : Résultat de l'analyse LC-MS/MS .....	1
Tableau 4 : Inhibition du radical DPPH par l'extrait d'A. arpilobus et les standards .....	1

## Liste des figures

Figure 1 : déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydantes(Bayala, 2014).....	1
Figure 2 :Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°)(Hua et al., 2014).....	1
Figure 3:Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par unantioxydant(Molyneux, 2004).....	1
Figure 4 :La répartition mondiale de genre <i>Astragalus</i> (Coulot and Rabaute, 2021).....	1
<b>Figure 5</b> :Les fleurs d' <i>A. arpilobus</i> . fleur( <b>Tedjani et al., 2023a</b> ).....	1
<b>Figure 6</b> :Les racine d' <i>A. arpilobus</i> ( <b>Kherraze et al., 2010</b> ).....	1
Figure 7 : les tiges et feuillled' <i>A. arpilobus</i> (Kherraze et al., 2010).....	1
<b>Figure8</b> : LesGoussesd' <i>A. arpilobus</i> ( <b>Tedjani et al., 2023b</b> ).....	1
Figure 9 : La distribution géographique de l' <i>A. Arpilobus</i> dans l'Afrique (Kumar and Sane, 2003).....	1
Figure 10 : classification des composes phénoliques.....	1
Figure 11 : Protocole de préparation d'extrait hydro-éthanolique de la partie aérienne d' <i>A. Arpilobus</i> .....	1
Figure 12 : protocole de test DPPH.....	1
Figure 13 : Activité anti-inflammatoire d' <i>A. arpilobus</i> .....	1
Figure 14 : caractéristique moléculaire du gène PTGS2.....	1
Figure 15 : l'interaction de la molécule chrysin et la protien COX-2.....	1

## Table de matière

Remerciements .....	
Dédicace .....	
<i>Résumé</i> .....	
Abstract .....	
ملخص .....	
Liste des abréviations .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures .....	
Introduction .....	1
<i>Partie 1 : Revue bibliographique</i> .....	3
<i>Chapitre 1 : L'inflammation</i> .....	4
1. L'inflammation .....	5
2. Les anti-inflammatoires .....	5
2.1. Les anti-inflammatoires conventionnels .....	5
2.2. Les anti-inflammatoires traditionnels .....	5
3. Test anti-inflammatoires <i>in vitro</i> .....	7
3.1. Dénaturation protéique .....	7
3.2. L'utilisation de BSA dans le test anti-inflammatoire .....	8
<i>Chapitre 2 : Stress oxydante</i> .....	9
1. Stress oxydant .....	10
2. Les radicaux libres .....	11
3. Test anti-antioxydant <i>in vitro</i> .....	11
3.1. Piégeage du radical libre DPPH .....	11
<i>Chapitre 3 : Présentation de la plante étudiée</i> .....	13
1. Famille <i>Fabaceae</i> .....	14
2. Le genre <i>Astragalus</i> .....	14

2.1.	La répartition mondiale du genre <i>Astragalus</i> .....	14
2.2.	Caractéristiques morphologiques du genre <i>Astragalus</i> .....	15
3.	<i>Astragalus arpilobussubsp. Hauarensis</i> .....	15
3.1.	Présentation de la plante .....	15
3.2.	Classification botanique .....	16
4.	Description botanique .....	16
5.	Origine et air de réparation : .....	18
	<i>Chapitre 4 :Les métabolites primaires et secondaires</i> .....	19
1.	Les métabolites primaires .....	20
2.	Les métabolites secondaires .....	20
2.1.	Classification des métabolites secondaires .....	21
3.	Les composés phénoliques .....	21
3.1.	Classification des composer phénoliques .....	22
	<i>Chapitre 5 : Analyse LC-MS /MS</i> .....	24
1.	Analyse LC-MS/MS .....	25
2.	Principe .....	25
3.	L'utilisation d'analyse LC-MS/MS .....	26
3.1.	Pharmacologie et médecine .....	26
3.3.	Analyse environnementale .....	26
3.4.	Recherche biomédicale .....	26
3.5.	Développement de médicaments .....	26
3.6.	Analyses forensiques .....	27
	<i>Partie 2 : Etude expérimentale</i> .....	28
	<i>Chapitre 1 : Matériels et méthodes</i> .....	29
1.	Matériel végétal et extraction .....	30
2.	Rendement de l'extraction .....	32
3.	Équipement et paramètres chromatographiques .....	32
4.	Activité antioxydante .....	33

4.1.	Principe du test .....	33
4.2.	Protocole expérimental .....	33
5.	Activité anti-inflammatoire : .....	35
5.1.	Principe du test .....	35
5.2.	Protocole expérimental .....	35
6.	Utilisation des méthodes in silico pour la recherche de molécules anti-inflammatoires ciblant le gène PTGS2 .....	36
6.1.	Methodologie .....	36
	<i>Chapitre 2 : Résultats et discussion</i> .....	37
1.	Rendement de l'extraction .....	38
2.	LC-MS/MS .....	38
3.	Activité antioxydant .....	40
4.	Activité anti-inflammatoire .....	41
5.	In silico .....	42
6.	Discussion .....	43
7.	La corrélation : .....	46
	Conclusion .....	48
	References .....	49
	<i>Publication</i> .....	60

# INTRODUCTION

---

## Introduction

L'inflammation joue un rôle crucial dans la réponse immunitaire en empêchant les infections grâce à la libération et à la production de médiateurs chimiques pro-inflammatoires face à des facteurs internes ou externes. Ce mécanisme est bénéfique car il contribue à préserver l'intégrité de l'organisme. Toutefois, une inflammation non maîtrisée peut entraîner la destruction des tissus et une série de réactions, y compris la douleur (Mbaïhougadobe et al., 2024) . Ces processus inflammatoires sont liés à de nombreuses maladies humaines, telles que l'arthrite, le diabète, l'asthme, les allergies et le cancer (Nko'o Moise et al. 2024).

D'autre part, au cours des deux dernières décennies, le stress oxydatif est devenu un sujet de recherche majeur en biologie à l'échelle mondiale, en raison de son rôle écologique et évolutif significatif et de sa capacité à éclairer les interactions fonctionnelles entre les traits de l'histoire de vie (Hu et al., 2024a). Ce phénomène se caractérise par une oxydation intracellulaire excessive, résultant d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes antioxydants. Cette oxydation peut endommager des biomolécules telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques, entraînant finalement la mort cellulaire et provoquant des troubles physiologiques comme le cancer, le diabète, l'asthme, le vieillissement prématuré, ainsi que des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires (Zhu et al., 2024a)

L'inflammation et le stress oxydatif sont des processus physiopathologiques étroitement interconnectés. L'un peut survenir avant ou après l'autre, mais la présence de l'un augmente fortement la probabilité de l'apparition de l'autre. Ensemble, ils contribuent à la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques. Bien que l'identification et le traitement de l'anomalie primaire soient cliniquement cruciaux, ils peuvent ne pas toujours être efficaces. En effet, une fois initiés, l'inflammation et le stress oxydatif se renforcent mutuellement, entraînant des dommages progressifs (Huang et al., 2023).

De nos jours, les plantes continuent d'avoir une importance significative dans les pratiques thérapeutiques et le quotidien des populations. Ces dernières années, de nombreuses études se sont concentrées sur la valorisation de la médecine traditionnelle, cherchant à vérifier la sécurité et l'efficacité des plantes employées, tout en établissant des normes scientifiques pour leur utilisation.

## INTRODUCTION

---

Grâce à la richesse et à la diversité de sa flore d'origine, l'Algérie possède un réservoir phytogénétique important. Cette caractéristique lui confère une position privilégiée parmi les pays méditerranéens qui ont une longue histoire médicale et une expertise traditionnelle dans l'utilisation des plantes médicinales pour traiter diverses affections, bien que peu d'études aient été menées à ce sujet (Bendifallah, 2023)

La présence de remèdes de la médecine traditionnelle ayant démontré leur efficacité dans le traitement des maladies inflammatoires suscite notre intérêt pour une plante d'origine algérienne appartenant au genre *Astragalus*. Ce genre, l'un des plus vastes de la famille des *Fabaceae*, présente une diversité remarquable d'espèces réparties à travers le monde. L'une de ces espèces, *Astragalus arpilobus* subsp. *Hauarensis*, a attiré l'attention des botanistes, des écologistes et des praticiens de la médecine traditionnelle en raison de ses caractéristiques uniques et de ses multiples utilisations (Long et al. 2012)

*A. arpilobus* est une plante herbacée vivace originaire de régions montagneuses d'Asie centrale, notamment d'Iran, d'Afghanistan et du Turkménistan (Maassoumi, 2022). Reconnaissable par ses feuilles composées et ses fleurs de couleur blanche ou pourpre, *A. arpilobus* occupe une place importante dans les écosystèmes semi-arides et montagneux où elle pousse (Mahmoudi et al., 2021). En plus de son rôle écologique en tant que fixateur d'azote et de source de nourriture pour divers herbivores, cette plante a également été étudiée pour ses propriétés médicinales potentielles. Dans la médecine traditionnelle, certaines cultures ont utilisé diverses parties de la plante pour traiter les morsures de serpent (Mahmoudi et al., 2021).

Cette étude vise à poser des bases scientifiques pour l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle en Algérie. Pendant la recherche, un extrait de cette plante a été obtenu par macération. Ensuite, les activités antioxydantes et anti-inflammatoires *in vitro* de l'extrait hydro-éthanolique des parties aériennes de la plante ont été évaluées. Une analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) a été réalisée afin d'identifier les composés phénoliques présents dans cet extrait et de caractériser les principaux constituants chimiques pouvant conférer à cette plante les activités mentionnées.

## *Partie 1 : Revue bibliographique*

# ***Chapitre 1 : L'inflammation***

# CHAPITRE 1 : L'INFLAMMATION

---

## 1. L'inflammation

L'inflammation, également appelée réaction inflammatoire, est la réponse des tissus vivants et vascularisés à une agression d'origine physique, chimique ou biologique, visant à préserver leur intégrité (Wang et al, 2024). Cette réponse se manifeste par des symptômes tels que rougeur, douleur, chaleur, gonflement, et parfois, une perte de fonction de la zone affectée (Mohammadi et al, 2024).

L'inflammation est généralement un processus bénéfique pour l'organisme agressé, impliquant de nombreux systèmes biologiques dont l'objectif est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les tissus endommagés. Cependant, ce mécanisme peut devenir nuisible en raison de la virulence du pathogène, de sa persistance, de la localisation de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire, pouvant ainsi entraîner des dommages irréversibles (Mohammadi et al, 2024).

## 2. Les anti-inflammatoires

### 2.1. Les anti-inflammatoires conventionnels

Les anti-inflammatoires sont nombreux et appartiennent à des familles de médicaments différents, comprenant des analgésiques, des corticoïdes et des antihistaminiques (Yvan, 1997). Ils sont divisés selon leur mode d'action en deux catégories.

- ✓ Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)
- ✓ Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

### 2.2. Les anti-inflammatoires traditionnels

Depuis des temps anciens, les plantes ont été employées dans la prévention et le traitement d'une gamme variée de maladies, incluant des troubles inflammatoires tels que le rhumatisme et l'arthrose. Leurs composants bioactifs présentent un potentiel prometteur pour la création de nouveaux médicaments anti-inflammatoires, caractérisés par leur efficacité pharmacologique élevée et leurs effets secondaires minimes (Yıldızlı et al, 2024). Les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles figurent parmi ces composés, agissant supposément par inhibition des voies enzymatiques, ou par neutralisation des radicaux libres. Ces caractéristiques sont recherchées pour leur potentiel thérapeutique dans le traitement de diverses maladies inflammatoires (Ibrahim et al, 2024).

## CHAPITRE 1 : L'INFLAMMATION

Ces dernières années, un nombre considérable d'études, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, ont été axées sur la valorisation de la médecine traditionnelle afin d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire des plantes utilisées, ainsi que leur mode d'action, et d'établir des protocoles scientifiques pour leur utilisation (Cheng et al., 2021). Environ 47 plantes et 52 molécules extraites de plantes, jugées bénéfiques pour le traitement de l'inflammation, ont été validées par des études cliniques et précliniques (Maione et al, 2016) . Les résultats biochimiques de ces recherches mettent en lumière le potentiel des plantes et/ou de leurs composés dans l'inhibition de la formation des principaux médiateurs pro-inflammatoires du métabolisme de l'acide arachidonique, notamment par l'inhibition des cyclooxygénases et des lipoxygénases. Des exemples de plantes pour lesquelles le mode d'action a été mis en évidence sont répertoriés dans le tableau 01.

Tableau 1 :Les propriétés anti-inflammatoires de certaines plantes médicinales (Abu Bakar et al, 2018 ; Ghasemian et al, 2016 ; Maione et al, 2016)

Plante	Partie utilisée	Mécanisme d'action
<i>Boswelliaserrata</i>	Parties Aérienne	Modulation des médiateurs inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , et PGE2).
<i>Cimicifuga racemosa</i> L.	Racines	Inhibition de la production de TNF- $\alpha$ par la régulation négative Des activités de ERK et de NF- $\kappa$ B.
<i>Eriobotryajaponica</i>	Feuilles	Inhibition de l'IL-8, de l'activation du NF- $\kappa$ B et de l'expression de l'ARNm de l'iNOS.
<i>Forsythiakoreana Nakai</i>	Fruits	Inhibition des activités de COX-2 et de iNOS.
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Racines	Inhibition potentielle du NO, des cytokines inflammatoires (IL-6, IL-1 $\beta$ et TNF- $\alpha$ ) et de la PGE2, ainsi que prévention du métabolisme de l'acide arachidonique et de la biosynthèse des eicosanoïdes, entraînant l'inhibition de la COX-2.
<i>Oenotherabiennis</i>	Parties Aérienne	Modulation de l'oxyde nitrique (NO), du TNF- $\alpha$ , de l'IL-1 $\beta$ et du thromboxane B2(TXB2) conduisant à la suppression de l'expression du gène COX-2.
<i>Oleaeuropaea</i>	Huiled'olive vierge	Modulation du lipo polysaccharide plasmatique postprandial, des cytokines pro-inflammatoires, du TXB2 et du LTB4.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	N/A	Inhibition de l'infiltration des neutrophiles et réduction des médiateurs pro-inflammatoires : TNF- $\alpha$ etIL-1.
<i>Salviaofficinalis</i>	Feuilles	Inhibe la production de PGE2 via l'inhibition de la PGE2 synthèse-1microsomale.
<i>Uncariatomentosa</i>	Parties Aérienne	Inhibition du TNF- $\alpha$ et diminution de la production de PGE2.
<i>Urticadioica</i>	Feuilles	Potentiel inhibiteur sur le facteur de transcription pro-inflammatoire NF- $\kappa$ B.

# CHAPITRE 1 : L'INFLAMMATION

---

## 3. Test anti-inflammatoires *in vitro*

### 3.1. Dénaturation protéique

La dénaturation des protéines est un phénomène complexe qui se produit lorsque les protéines perdent leur structure tridimensionnelle native, généralement à la suite d'un changement de conditions environnementales telles que la chaleur, l'exposition à des produits chimiques, des variations de pH extrêmes ou même le stress oxydatif. Cette perte de structure altère la configuration spatiale des acides aminés constitutifs de la protéine, ce qui entraîne une perte de leur fonction biologique normale (Ballo et al, 2023).

Dans le corps humain, la dénaturation des protéines peut avoir des conséquences importantes sur la santé, notamment en déclenchant des réponses inflammatoires. Lorsque les tissus subissent des dommages, que ce soit par une blessure, une infection ou d'autres facteurs, les protéines présentes dans ces tissus peuvent être affectées par la dénaturation (Thida et al, 2024) . Par exemple, lors d'une blessure, les températures locales peuvent augmenter, provoquant la dénaturation des protéines dans la région touchée.

Lorsque les protéines sont dénaturées, elles peuvent perdre leur capacité à interagir avec d'autres molécules de manière spécifique, ce qui peut perturber les processus cellulaires normaux. De plus, les protéines dénaturées peuvent être perçues par le système immunitaire comme des corps étrangers, déclenchant ainsi une réponse inflammatoire (Purnomo et al, 2023) .

Cette réponse inflammatoire est caractérisée par une série de réactions biochimiques et cellulaires conçues pour éliminer les agents pathogènes, réparer les tissus endommagés et restaurer l'homéostasie. Cependant, si l'inflammation n'est pas contrôlée, elle peut devenir chronique et contribuer au développement de nombreuses maladies, y compris les maladies auto-immunes, les maladies cardiovasculaires et même le cancer (Chaiya et al, 2022).

### 3.2. L'utilisation de BSA dans le test anti-inflammatoire

La BSA, ou albumine sérique bovine, est une protéine présente dans le sang des bovins. Malgré son origine animale, elle est largement utilisée comme substitut à l'albumine sérique humaine (HSA) dans les études et les tests anti-inflammatoires pour plusieurs raisons. Tout d'abord, sa structure est très similaire à celle de l'HSA, ce qui permet des résultats comparables dans les expériences. De plus, les coûts de production de la BSA sont généralement moins élevés que ceux de l'HSA, ce qui en fait une option plus économique pour la recherche (Sivapalan et al, 2023).

Dans le corps humain, l'albumine sérique joue un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie et du transport des nutriments, des hormones et des médicaments dans le sang. Elle agit également comme un antioxydant et contribue à la régulation de la pression osmotique du sang (Sitar et al, 2013).

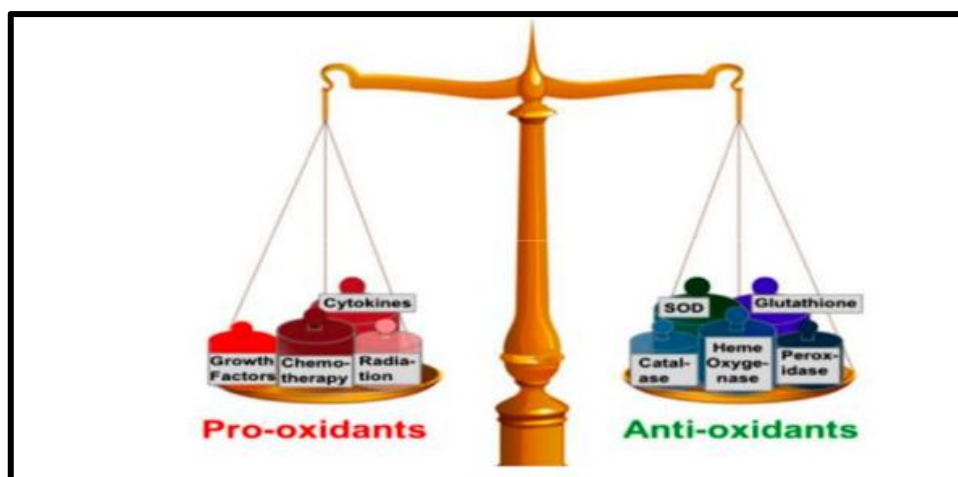
Cependant, lorsqu'elle est dénaturée, que ce soit à cause de conditions environnementales extrêmes ou de réactions chimiques, l'albumine sérique peut perdre sa structure tridimensionnelle et, par conséquent, sa fonction biologique normale (Belinskaia et al, 2021) . Cette dénaturation peut entraîner une perte de la capacité de l'albumine à remplir ses fonctions physiologiques, ce qui peut avoir des conséquences néfastes sur la santé. Par exemple, une dénaturation de l'albumine sérique peut entraîner une augmentation de la perméabilité vasculaire, favorisant ainsi l'accumulation de liquide dans les tissus et contribuant à l'inflammation et à l'œdème. En outre, elle peut affecter le transport des nutriments et des médicaments dans le sang, compromettant ainsi la régulation métabolique et la réponse aux traitements médicaux (Levitt et al, 2016).

# *Chapitre 2 : Stress oxydante*

## CHAPITRE 2 : STRESS OXYDANTE

### 1. Stress oxydant

Le stress oxydatif se manifeste par un déséquilibre où les systèmes prooxydants dominent les systèmes antioxydants (Zhu et al., 2024b) (Figure 01). Sous des conditions quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en quantités minimales et jouent des rôles intermédiaires dans divers processus physiologiques. Parmi ces processus figurent la transduction des signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les pathogènes, le fonctionnement de certaines enzymes, l'apoptose des cellules cancéreuses, la différenciation cellulaire, et la régulation de la dilatation des capillaires. Ils sont également essentiels pour le fonctionnement de certains neurones, en particulier ceux associés à la mémoire, la régulation des gènes par le contrôle redox, et la fécondation de l'ovule (Yu et al., 2024).



**Figure 1** : déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydants (Bayala, 2014)

La production physiologique des radicaux libres est régulée avec précision par des systèmes antioxydants, qui s'adaptent au niveau de radicaux présents. Cependant, dans des conditions pathologiques ou sous l'influence de facteurs exogènes, une surproduction de ces composés peut se produire (Hu et al., 2024b). En conséquence, les systèmes de défense sont débordés et deviennent insuffisants pour neutraliser cet excès de radicaux libres.

En outre, une carence en antioxydants, due à une inactivation directe ou à une production insuffisante, peut aggraver la situation. Ce déséquilibre mène au stress oxydatif, qui provoque souvent des dommages directs aux molécules biologiques, telles que l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides. De plus, des lésions

## CHAPITRE 2 : STRESS OXYDANTE

---

secondaires peuvent survenir en raison des métabolites cytotoxiques et mutagènes libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides (Abdelnaser et al., 2024). Le stress oxydatif est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes, y compris l'athérosclérose, le cancer, les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète, les rhumatismes et le vieillissement prématuré de la peau (Kishi et al., 2024).

### 2. Les radicaux libres

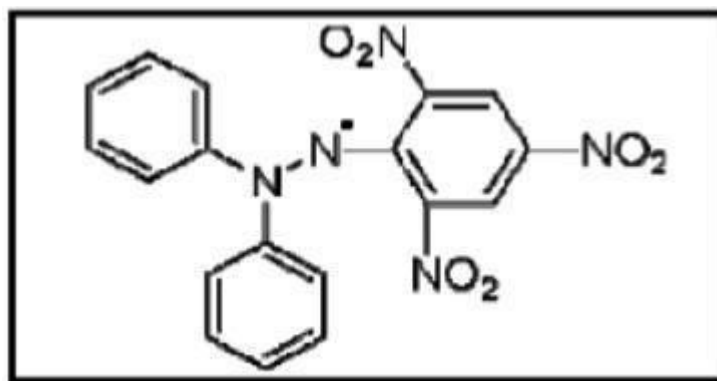
Un radical libre est une espèce chimique, qu'il s'agisse d'un atome ou d'une molécule, neutre ou chargée, qui se caractérise par la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés sur son orbitale externe. Cette configuration lui confère une instabilité énergétique et cinétique, ainsi qu'une réactivité extrêmement élevée. La demi-vie d'un radical libre est très courte, de l'ordre de  $10^{-9}$  à  $10^{-10}$  secondes, ce qui le pousse à réagir rapidement avec d'autres composants pour tenter de stabiliser ses électrons non appariés. Les molécules ainsi attaquées deviennent à leur tour des radicaux libres, déclenchant un processus de réactions en chaîne (Sarkar et al., 2024)

### 3. Test anti-antioxydant *in vitro*

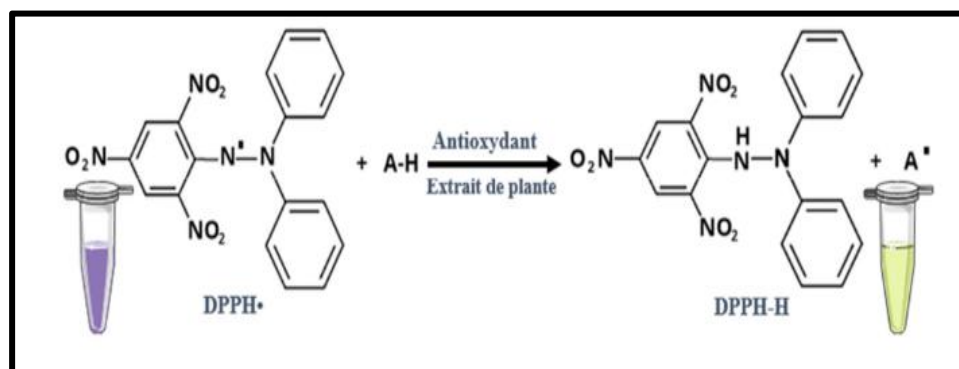
#### 3.1. Piégeage du radical libre DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH<sup>°</sup>) est un radical organique stable de couleur violette (**Figure 2**), qui absorbe à une longueur d'onde de 517 nm. Sa stabilité provient de la présence d'un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Lorsqu'il est en présence d'agents antioxydants qui agissent comme donneurs d'hydrogène (AH), le DPPH<sup>°</sup> est réduit en sa forme non radicalaire, DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), et change de couleur pour devenir jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Brand-Williams et al., 1995). Cette réaction est illustrée par la réaction suivante (**figure 3**)

## CHAPITRE 2 : STRESS OXYDANTE



**Figure 2 :**Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°)(Hua et al., 2014)



**Figure 3:**Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par unantioxydant(Molyneux, 2004)

***Chapitre 3 : Présentation de la plante  
étudiée***

## CHAPITRE 3 : PRESENTATION DE PLANTE ETUDIEE

---

### 1. Famille *Fabaceae* :

Les *Fabaceae*, également connue sous le nom de Légumineuses, est une famille de plantes à fleurs largement répandue dans le monde, comprenant environ 765 genres et près de 20 000 espèces connues. Parmi les plus grands genres de cette famille figurent *Astragalus* (plus de 2900 espèces), *Acacia* (plus de 1 000 espèces) et *Indigofera* (environ 700 espèces). Les *Fabaceae* représentent environ 7% des espèces de plantes à fleurs. Des études moléculaires et morphologiques récentes confirment que les *Fabaceae* forment un groupe monophylétique étroitement lié aux familles des Polygalacées, Surianacées et Quillajecées, appartenant à l'ordre des Fabales. Outre leur importance écologique, de nombreuses *Fabaceae* présentent un intérêt économique, notamment pour l'alimentation humaine et animale. Les *Fabaceae* constituent donc un modèle d'étude fascinant pour comprendre l'évolution et la diversification des plantes à fleurs (Lekmine et al., 2024, 2022, 2021).

### 2. Le genre *Astragalus*

Le genre *Astragalus*, comprend environ 2900 espèces de plantes à fleurs réparties à travers le globe (Brullo et al., 2013; Coulot and Rabaute, 2021). Ces plantes se distinguent par leurs fleurs papilionacées, leurs feuilles composées et leur capacité à fixer l'azote dans le sol grâce à des bactéries symbiotiques présentes dans leurs racines. Elles sont utilisées de diverses manières, notamment dans l'alimentation animale, la médecine traditionnelle et la préservation des écosystèmes. Bien que certaines variétés d'*Astragalus* puissent être toxiques pour le bétail, d'autres sont recherchées pour leurs vertus médicinales, notamment dans le traitement des infections virales, des problèmes immunitaires et des affections cardiovasculaires (Graziani et al., 2019).

#### 2.1. La répartition mondiale du genre *Astragalus*

Cette section possède une répartition géographique relativement large, principalement irano-touranienne, mais également présente dans les régions sud-méditerranéennes. Elle est centrée sur une zone restreinte s'étendant de la moitié est de la Turquie jusqu'au Pakistan à l'est, et ne s'étend vers le nord que jusqu'au sud du Kazakhstan (Coulot and Rabaute, 2021). En Afrique du Nord, plusieurs espèces sont présentes dans les zones désertiques et subdésertiques. En Europe, elle est représentée uniquement à l'extrême est, notamment en Grèce et à Chypre (**figure 1**)



**Figure 4 :**La répartition mondiale de genre *Astragalus*(Coulot and Rabaute, 2021)

### 2.2. Caractéristiques morphologiques du genre *Astragalus*

Les espèces de la section *Astragalus* se distinguent par une série de caractéristiques botaniques spécifiques. Ces plantes sont principalement herbacées, mais rarement sous-arbustives(Tian et al., 2021). Elles possèdent de longs poils basifixes blancs, accompagnés le plus souvent de poils noirs. Leurs feuilles sont longues et comportent de nombreuses folioles (ZARRE et al., 2024) . Les inflorescences se composent de 1 à 15 fleurs, qui peuvent être sessiles ou courtement pédonculées. Les bractéoles sont généralement présentes. Le calice est tubulaire, peu ou pas renflé à l'anthèse. Les pétales sont grands, de couleur blanche ou jaune. Enfin, les fruits dépassent le calice, parfois de manière significative, et sont coriaces(Abd El-Ghani et al., 2021)

### 3. *Astragalus arpilobus* subsp. *Hauarensis*

#### 3.1. Présentation de la plante

*A. arpilobus* est plante saharienne aux propriétés médicinales et traditionnellement utilisé dans la médecine nord-africaine pour traiter les morsures de serpent(Lakhdari et al., 2016) . En Algérie, *A. arpilobus* est assez répandue dans les déserts et est connue localement sous le nom de « Dilia » (Tedjani et al., 2023b, 2023a) . Une autre dénomination synonyme pour cette espèce est *Astragalus gyzensis* Bunge (Tedjani et al., 2023a).

## CHAPITRE 3 : PRESENTATION DE PLANTE ETUDIEE

### 3.2. Classification botanique

La place taxonomique d'*A. arpilobus* a été déterminée grâce à la classification phylogénétique développée par Dobignard and Chatelain (2010) et Azani et al. (2017)

Tableau 2 : Classification d'*A. arpilobus*.

Règne	<i>Plante</i>
Genre	<i>Astragalus</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Espèce	<i>Astragalus arpilopus</i>
Sous-espèce	<i>Astragalus arpilopus subsp. hauarensis</i>
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>

### 4. Description botanique

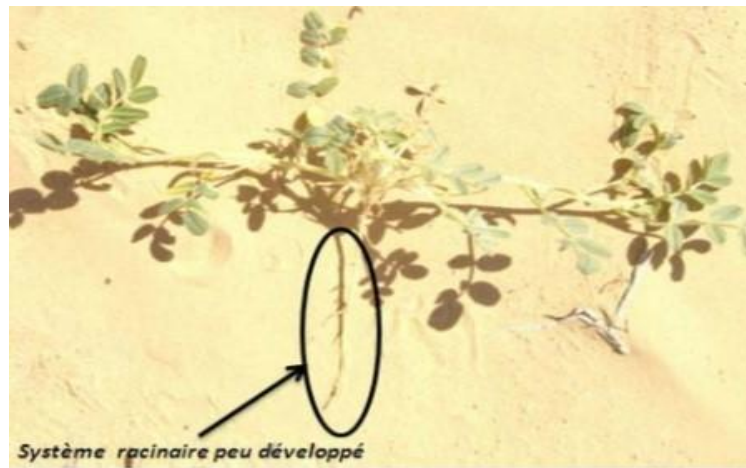
*A. Arpilobus* est une modeste plante annuelle, présentant des tiges étalées de courte longueur, ne dépassant guère les 20 cm, arborant une teinte allant du violet au blanc. Ses feuilles, d'un vert vif, sont larges et charnues, tandis que ses racines sont fines et peu profondes (Chehema, 2019).



Figure 5 : Les fleurs d'*A. arpilobus* . fleur (Tedjani et al., 2023a).

### CHAPITRE 3 : PRESENTATION DE PLANTE ETUDIEE

---



**Figure 6 :** Les racine d'*A. arpilobus*(Kherraze et al., 2010).



**Figure 7 :** les tiges et feuillled'*A. arpilobus*(Kherraze et al., 2010)



**Figure8 :** LesGoussesd'*A. arpilobus*(Tedjani et al., 2023b).

## CHAPITRE 3 : PRESENTATION DE PLANTE ETUDIEE

---

### 5. Origine et air de réparation :

La distribution géographique de l'*A. Arpilobus* s'étend sur plusieurs régions du monde. En Afrique, cette espèce est présente en Algérie, en Égypte, en Libye, au Maroc et en Tunisie.

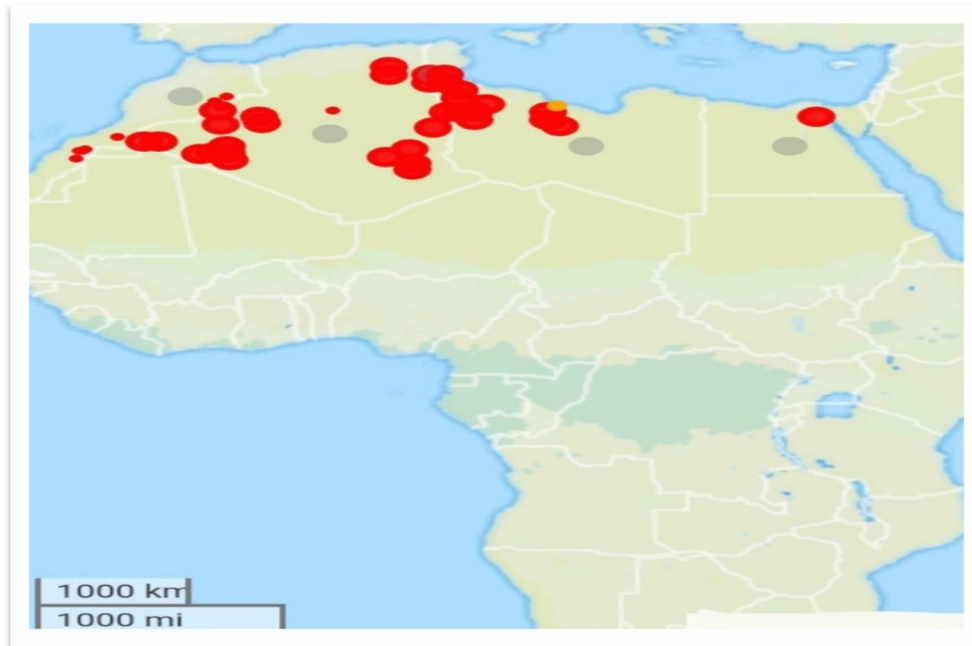


Figure 9 : La distribution géographique de l'*A. Arpilobus* dans l'Afrique (Kumar and Sane, 2003)

***Chapitre 4 : Les métabolites primaires et  
secondaires***

# **CHAPITRE 4:LES METABOLITES PRIMAIRES ET SECONDAIRES**

---

## **1. Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont les molécules synthétisées par un organisme qui sont essentielles à ses fonctions vitales de base, telles que la nutrition, la croissance et la reproduction (Kliebenstein, 2012) . Contrairement aux métabolites secondaires, les métabolites primaires jouent un rôle central dans le maintien des processus métaboliques fondamentaux de l'organisme. Ces métabolites essentiels sont constitués principalement d'atomes de carbone, d'oxygène et d'azote, assemblés en quatre grandes catégories biochimiques : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques. Les glucides, tels que le glucose et l'amidon, sont des composés organiques contenant du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène qui fournissent l'énergie nécessaire aux processus vitaux (Ummahan, 2024) . Les lipides, comme les acides gras et les stéroïdes, sont des molécules hydrophobes riches en carbone et en hydrogène qui jouent un rôle structural dans les membranes cellulaires et servent également de réserves énergétiques. Les acides aminés sont les unités de base des protéines, macromolécules essentielles à la structure et au fonctionnement des cellules. L'ADN et l'ARN, composés d'unités nucléotidiques, contiennent l'information génétique nécessaire à la synthèse des protéines et à la transmission du patrimoine héréditaire. En plus de leurs fonctions vitales, les métabolites primaires servent également de précurseurs pour la production de métabolites secondaires, des molécules impliquées dans des processus de défense, de signalisation et d'adaptation de l'organisme à son environnement (Kliebenstein, 2012).

## **2. Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires, initialement définis comme des composés présents dans certaines espèces végétales et absents dans d'autres, ont été nommés ainsi par défaut. Ces substances ne participent pas directement au métabolisme de base commun à toutes les plantes (Peters et al., 2019) . Cependant, il est devenu évident par la suite que ces métabolites secondaires agissent en réalité comme des indicateurs de l'adaptation des plantes aux diverses conditions écologiques. Leur présence ou leur absence dans les plantes reflète leur capacité à répondre aux contraintes environnementales et à s'adapter aux pressions biotiques et abiotiques. Ainsi, ces métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans la survie et la prospérité des plantes en leur permettant de s'adapter et de se défendre efficacement face aux stress environnementaux (Alain et al., 2018)

## **CHAPITRE 4: LES MÉTABOLITES PRIMAIRES ET SECONDAIRES**

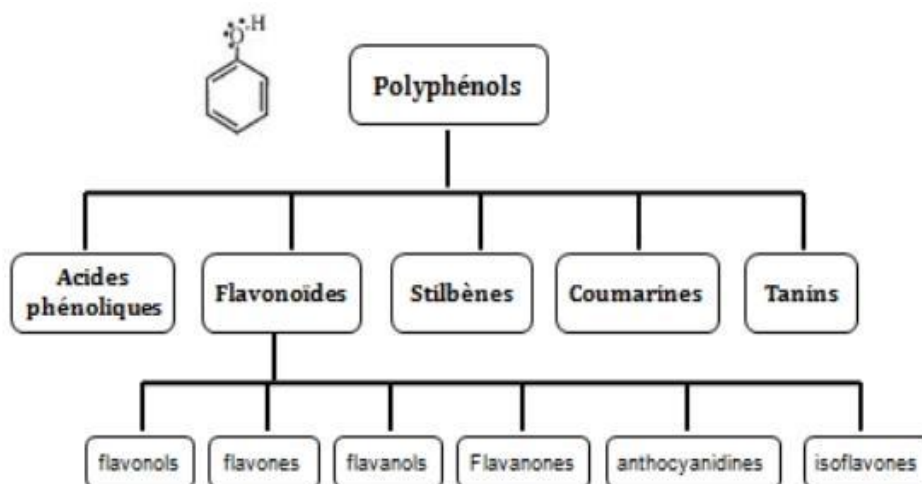
### **2.1. Classification des métabolites secondaires**

La classification des métabolites secondaires est basée sur diverses caractéristiques chimiques, telles que leur structure, leur composition, leur solubilité dans différents solvants et leur voie de synthèse. Le système de classification principal regroupe ces molécules en trois grandes classes. Les alcaloïdes sont des composés organiques contenant un groupement azote, souvent présents dans les plantes, et peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes comme les alcaloïdes aminés, les alcaloïdes lactones et les alcaloïdes terpéniques. Les terpènes sont des composés organiques renfermant un groupement carbonyle, également fréquents dans le règne végétal, et peuvent être classés en monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes entre autres. Enfin, les composés phénoliques sont des molécules contenant un groupement phénolique, souvent observées chez les plantes. Les composés phénoliques sont considérés comme les métabolites secondaires les plus importants dans les plantes, surpassant d'autres classes de métabolites secondaires en raison de leur diversité structurale et de leurs fonctions multiples. Ces composés, qui comprennent les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques et les lignines, jouent un rôle crucial dans la défense des plantes contre les stress abiotiques et biotiques (Peters et al., 2019).

### **3. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont abondamment présents dans les fruits et légumes, les boissons telles que le thé et le vin, ainsi que dans divers autres produits alimentaires. Avec plus de 8 000 composés identifiés, les composés phénoliques constituent l'une des familles les plus significatives de métabolites secondaires (Kyselova, 2011). Structurellement, ces composés se distinguent par la présence d'un noyau benzénique, également appelé noyau aromatique, auquel est attaché un groupement hydroxyle. Ce groupement hydroxyle peut être libre ou lié par une liaison ester ou éther. Le noyau benzénique confère aux composés phénoliques une grande rigidité et une forte réactivité chimique, en raison de la délocalisation des électrons en résonance au sein du cycle de six atomes de carbone (Chowdhary et al., 2021). Cette structure unique permet aux composés phénoliques de participer à diverses réactions chimiques et de jouer des rôles essentiels dans les plantes, notamment en tant qu'antioxydants et en défense contre les pathogènes.

### 3.1. Classification des composés phénoliques



**Figure 10 : classification des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont classés en différentes catégories en fonction de leur structure chimique et de la complexité de leurs molécules. La figure ci-dessous illustre les principales classes de composés phénoliques.

À la base de cette classification, on trouve les acides phénoliques, qui possèdent un noyau benzénique simple avec un ou plusieurs groupements hydroxyle (Nouioura et al., 2024). Les flavonoïdes, qui constituent une catégorie majeure, sont caractérisés par une structure de trois cycles, avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont oxygéné. Cette catégorie comprend plusieurs sous-groupes tels que les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanines, chacune ayant des variations subtiles dans la structure et les fonctions biologiques (Hien et al., 2024).

Les stilbènes, une autre classe de composés phénoliques, sont caractérisés par une structure de deux noyaux benzéniques reliés par une chaîne éthylénique. Les stilbènes jouent des rôles importants dans la défense des plantes contre les infections fongiques et les dommages oxydatifs. Le resvératrol est un exemple bien connu de stilbène, réputé pour ses propriétés antioxydantes et bénéfiques pour la santé humaine (Socala et al., 2024).

Les tanins, classés en tanins condensés et tanins hydrolysables, sont des polymères complexes formés par la condensation de monomères phénoliques simples, et jouent un rôle significatif dans la défense des plantes contre les herbivores et les pathogènes (Fraga-Corral et al., 2021).

## **CHAPITRE 4:LES METABOLITES PRIMAIRES ET SECONDAIRES**

---

Les lignines, également des composés polymériques trouvés principalement dans les parois cellulaires des plantes, sont essentielles pour la structure et la rigidité des plantes(Liu et al., 2018).

La diversité structurelle des composés phénoliques leur permet d'assumer diverses fonctions écologiques et biologiques, comme la protection contre les herbivores et les pathogènes, la régulation de la croissance et du développement des plantes, ainsi que la participation aux interactions plantes-environnement.

# ***Chapitre 5 : Analyse LC-MS***

***/MS***

## CHAPITRE 5 : ANALYSE LC-MS/MS

---

### 1. Analyse LC-MS/MS

L'analyse LC-MS/MS, abréviation de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem, est une méthode analytique avancée utilisée pour l'identification et la quantification précises des composés chimiques dans un échantillon. Cette technique repose sur deux technologies principales : la chromatographie liquide (LC) et la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)(Erenler et al., 2023)

### 2. Principe

La chromatographie liquide sépare les composants d'un mélange en les faisant passer à travers une colonne remplie d'une phase stationnaire. Les composants se déplacent à des vitesses différentes en fonction de leurs interactions avec la phase stationnaire, ce qui permet leur séparation. Ensuite, les composants séparés sont introduits dans un spectromètre de masse en tandem(Dugues et al., 2024).

La spectrométrie de masse en tandem est une méthode qui mesure la masse et la charge des ions présents dans un échantillon. Elle consiste en deux étapes principales : la fragmentation des ions et la détection des fragments. Dans la première étape, les ions sont fragmentés en petites particules, appelées fragments. Ces fragments sont ensuite analysés pour déterminer leur masse et leur charge. Cette information est utilisée pour identifier les composés présents dans l'échantillon(Maslov et al., 2024)

En combinant la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse en tandem, l'analyse LC-MS/MS offre une sensibilité, une sélectivité et une précision élevées dans l'identification et la quantification des composés chimiques, même à des concentrations très faibles. Cette méthode est largement utilisée dans de nombreux domaines de la recherche scientifique et de l'industrie, notamment la chimie analytique, la biologie, la pharmacologie, la médecine et l'analyse environnementale. Elle est particulièrement précieuse pour l'identification des métabolites, la découverte de médicaments, le contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques et la surveillance de la pollution environnementale (Rojas, 2024)

### 3. L'utilisation d'analyse LC-MS/MS

Selon Patel et al. (2024), l'analyse LC-MS/MS est utilisée dans une grande variété de domaines pour des applications diverses. Voici quelques exemples de son utilisation :

#### 3.1. Pharmacologie et médecine

L'analyse LC-MS/MS est utilisée pour identifier et quantifier les médicaments et leurs métabolites dans le sang, l'urine et d'autres matrices biologiques. Cela permet de surveiller l'efficacité des traitements, de contrôler les concentrations thérapeutiques et de détecter les interactions médicamenteuses (Becher et al., 2017).

#### 3.2. Chimie alimentaire

Elle est utilisée pour détecter les résidus de pesticides, les contaminants microbiens, les additifs alimentaires et autres substances indésirables dans les aliments. Cela contribue à assurer la sécurité alimentaire et à garantir la conformité aux réglementations sanitaires. (Becher et al., 2017)

#### 3.3. Analyse environnementale

L'analyse LC-MS/MS est employée pour détecter et quantifier les polluants organiques dans l'eau, le sol, l'air et d'autres matrices environnementales. Cela aide à évaluer les risques pour l'environnement et la santé humaine, ainsi qu'à surveiller l'impact des activités industrielles sur l'écosystème (Patel et al., 2024).

#### 3.4. Recherche biomédicale

Elle est utilisée pour étudier les mécanismes moléculaires des maladies, identifier de nouveaux biomarqueurs et développer des thérapies ciblées. Cela comprend l'analyse des protéines, des peptides, des acides nucléiques et d'autres biomolécules dans les échantillons biologiques (Lekmine et al., 2022)

#### 3.5. Développement de médicaments

L'analyse LC-MS/MS est utilisée dans toutes les étapes du processus de développement de médicaments, de la découverte de composés actifs à la caractérisation

## **CHAPITRE 5 : ANALYSE LC-MS/MS**

---

des formulations finales. Cela inclut la détermination de la pureté des composés, l'étude de leur pharmacocinétique et la surveillance de leur stabilité (Benslama et al., 2023)

### **3.6. Analyses forensiques**

Elle est utilisée pour identifier les drogues illicites, les toxines, les métaux lourds et autres substances dans les échantillons biologiques prélevés lors d'enquêtes criminelles. Cela aide les enquêteurs à établir des preuves scientifiques et à résoudre des affaires judiciaires.

## *Partie 2 : Etude expérimentale*

# *Chapitre 1 : Matériels et méthodes*

# CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODE

---

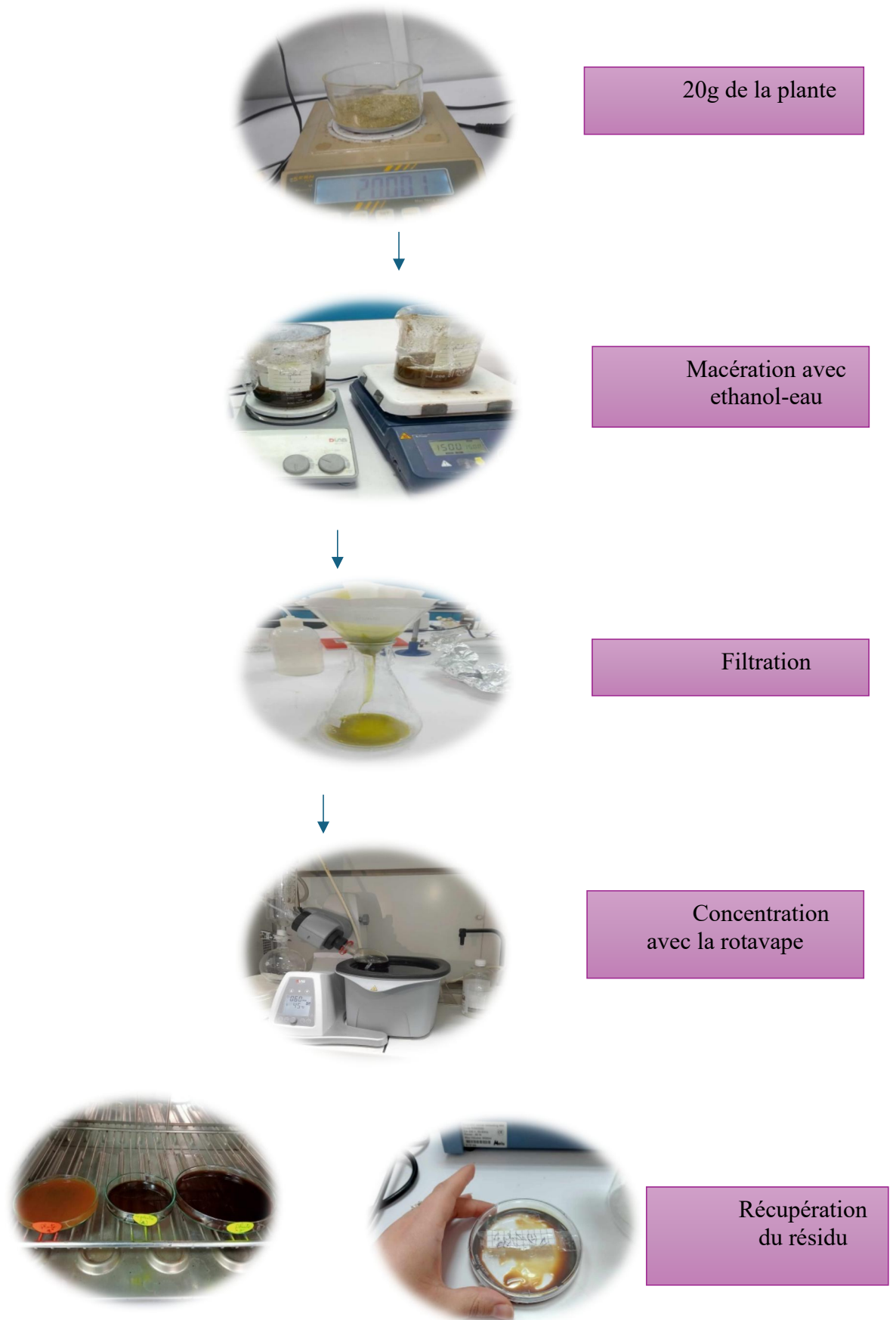
## 1. Matériel végétal et extraction

Les parties aériennes *A. Arpilobus* ont été récoltées dans la région d'El Oued, située dans le nord-est du Sahara algérien. Le matériel végétal a été séché à l'air libre, puis finement broyé en poudre à l'aide d'un moulin électrique.

Pour préparer les extraits hydro-alcooliques à 70% d'éthanol, 20 g de poudre végétale ont été mélangés avec un solvant composé d'un mélange éthanol-eau (70:30 V/V). Le mélange a été laissé à macérer pendant 24 heures à température ambiante, sous agitation occasionnelle, afin de permettre une extraction optimale des composés d'intérêt.

Après macération, le mélange a été filtré sur un entonnoir muni d'un papier filtre pour récupérer le filtrat. Ce dernier a ensuite été concentré à 36°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Hahn vapor, Hahnshin Scientific Co., Ltd., Séoul, Corée du Sud), permettant ainsi d'éliminer le solvant et de récupérer un extrait sec. Le résidu végétal restant après extraction hydro-alcoolique a été soigneusement récupéré et conservé à 4°C pour une utilisation ultérieure. Ces extraits concentrés ont été utilisés pour les analyses phytochimiques et les tests biologiques.

## CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODE



**Figure 11 :** Protocole de préparation d'extrait hydro-éthanolique de la partie aérienne d'*Arpilobus*.

# CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODE

---

## 2. Rendement de l'extraction

Le rendement est défini comme la masse de l'extrait déterminée après le séchage, exprimée en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction. Il est calculé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = [M / M0] \times 100$$

- R (%) : Rendement exprimé en %
- M : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu 4 g
- M0 : Masse en gramme de la poudre végétale utilisée (20g)

## 3. Équipement et paramètres chromatographiques

Pour les analyses par LC-MS/MS, des échantillons contenant 50 mg ont été transférés dans des tubes Eppendorf contenant 2 mL d'éthanol. La solution résultante a été soigneusement agitée avant de subir une extraction à l'hexane. Après extraction, le mélange a été centrifugé et agité à 9000 tr/min pendant 10 min. Par la suite, un échantillon de 100 µL a été prélevé dans les phases de méthanol de la solution résultante et dilué à 900 µL avec un ratio de 450 d'eau pour 450 de méthanol. Enfin, l'échantillon résultant a subi une filtration et a été analysé par LC/MS-MS avec un volume d'injection de 5,0 µL, un débit de 0,400 mL/min, un temps de méthode de 30 min et une température de 40 °C.

### 4. Activité antioxydante

Le test DPPH, tel que décrit par Sanchez-Garcia et al. (1998) , est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits végétaux ou des composés purs.

#### 4.1. Principe du test

Le test se base sur la capacité des antioxydants à réduire le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•), entraînant une diminution de l'absorbance à 517 nm.

#### 4.2. Protocole expérimental

- Une solution de DPPH est préparée dans du méthanol à une concentration de 2,5 mg/100 mL, ajustée pour obtenir une absorbance initiale de  $0,98 \pm 0,02$  à 517 nm.
- 100  $\mu$ L de cette solution de DPPH sont mélangées avec différentes concentrations d'extrait ou des standards (acide ascorbique, quercétine, BHA).
- Les mélanges sont incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- L'absorbance à 517 nm est alors mesurée.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(A_c - (A_t - A_e)) / A_c] \times 100 \text{Où :}$$

- $A_c$  est l'absorbance du contrôle (DPPH seul)
- $A_t$  est l'absorbance de l'échantillon (DPPH + extrait)
- $A_e$  est l'absorbance du blanc (extrait seul)

La concentration efficace à 50% ( $IC_{50}$ ), qui représente la concentration de l'échantillon nécessaire pour piéger 50% des radicaux DPPH, peut être déterminée à partir de la courbe dose-réponse.

## CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODE

---

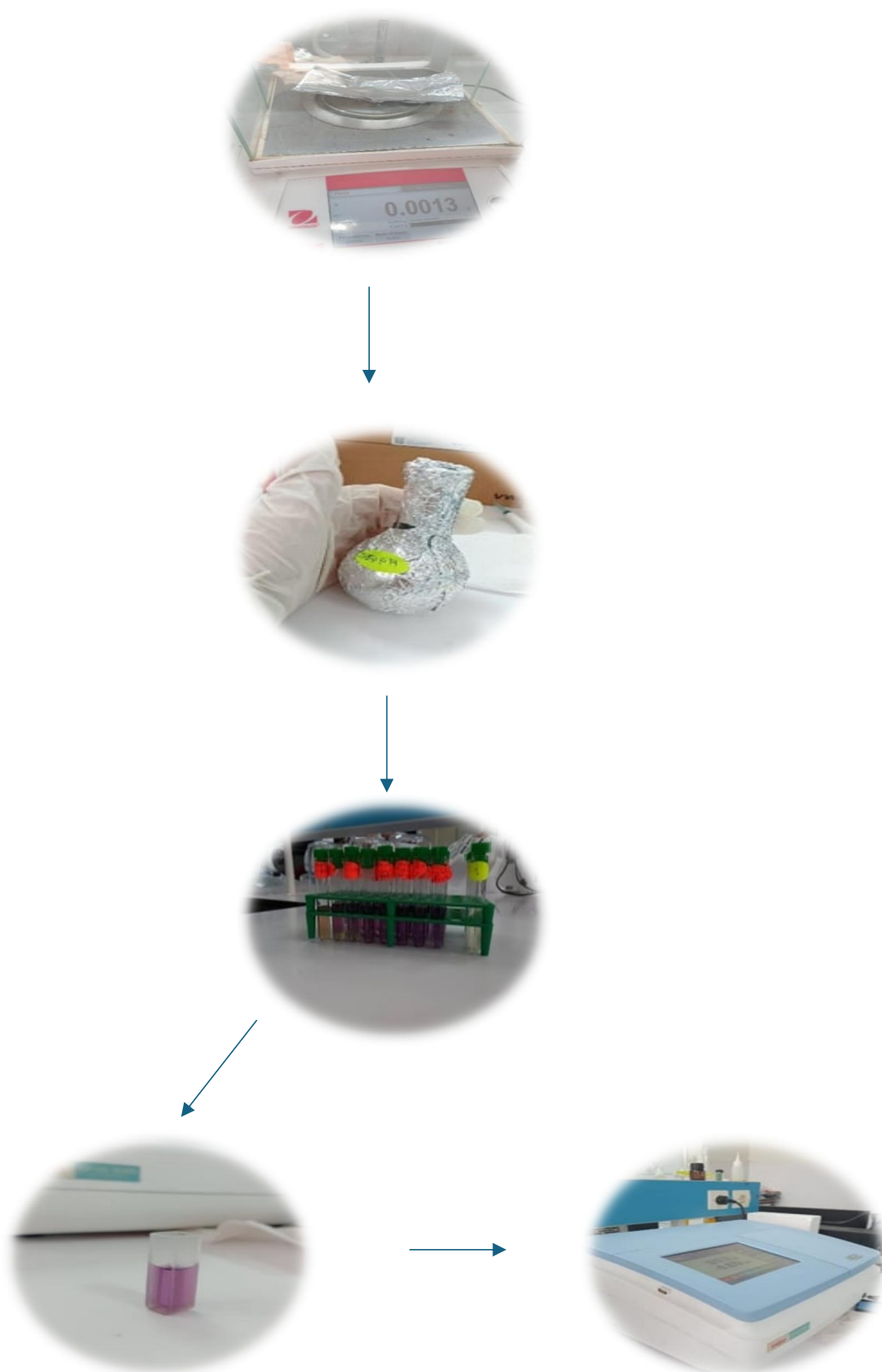


Figure 12 : protocole de test DPPH

# CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODE

---

## 5. Activité anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été évaluée en utilisant la méthode de dénaturation des protéines avec l'albumine de sérum bovin (BSA), suivant la procédure décrite par Karthik et al. (2013)

### 5.1. Principe du test

Ce test se base sur la capacité des composés à inhiber la dénaturation thermique de la BSA. La dénaturation des protéines est un processus lié à l'inflammation et la capacité à inhiber ce phénomène reflète l'activité anti-inflammatoire potentielle des extraits ou composés testés.

### 5.2. Protocole experimental

- 0,5 mL de différentes concentrations de l'extrait ou des composés de référence (kétoprofène et diclofénac) sont mélangés avec 0,5 mL de BSA (0,2% p/v) dans un tampon Tris-HCl (pH 6,8).
- Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 15 minutes, puis chauffés dans un bain-marie à 70°C pendant 5 minutes pour induire la dénaturation des protéines.
- L'absorbance de la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - (As - Aw)) / Ac] \times 100$$

- As est l'absorbance de l'échantillon (extrait + BSA)
- Aw est l'absorbance du blanc (extrait + tampon Tris-HCl)
- Ac est l'absorbance du contrôle (eau + BSA)

La concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>), qui représente la concentration nécessaire pour inhiber 50% de la dénaturation des protéines, est ensuite déterminée. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type de trois mesures parallèles et comparés aux composés de référence.

## **6. Utilisation des méthodes in silico pour la recherche de molécules anti-inflammatoires ciblant le gène PTGS2**

Dans le cadre de la recherche de molécules anti-inflammatoires, les méthodes in silico ont été appliquées pour démontrer l'activité anti-inflammatoire en criblant virtuellement les interactions de ces molécules avec des cibles impliquées dans l'inflammation. Ce travail se concentre sur le gène PTGS2, qui code la protéine cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme clé dans le processus inflammatoire.

### **6.1. Methodologie**

- a. **Sélection de la cible** : Le gène PTGS2, connu pour coder la protéine COX-2, a été sélectionné comme cible principale en raison de son rôle crucial dans l'inflammation.
- b. **Analyse des caractéristiques du gène** : Les caractéristiques du gène PTGS2 ont été déterminées à l'aide de la base de données NCBI. Ces caractéristiques comprennent la séquence nucléotidique, la localisation chromosomique, les exons et introns, ainsi que les informations sur la régulation génique.
- c. **Criblage virtuel** : Un criblage virtuel a été effectué par docking moléculaire pour identifier les interactions potentielles entre les molécules candidates et la protéine COX-2.

Les molécules ayant montré une forte affinité de liaison et des propriétés pharmacocinétiques favorables ont été sélectionnées pour des études ultérieures.

***Chapitre 2 : Résultats et discussion***

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

---

### 1. Rendement de l'extraction

L'extraction des parties aériennes de la plante par macération dans un mélange éthanol-eau a permis d'obtenir un extrait. Cet extrait a été conservé au frais dans une boîte de Pétri en verre, à l'abri de la lumière, jusqu'à son utilisation. Selon la méthode décrite dans la section Matériels et Méthodes, le rendement de l'extraction a été déterminé à 20%. Ce rendement est considérablement élevé par rapport à d'autres études sur des plantes médicinales, où les rendements d'extraction varient généralement entre 10% et 15% (Ghedadba et al., 2014; Tahiri et al., 2010; Touaibia and Chaouch, 2014). Cette efficacité accrue peut être attribuée à la technique de macération utilisée et aux propriétés spécifiques des parties aériennes de la plante, qui semblent particulièrement riches en composés extractibles. Ces résultats suggèrent que la plante étudiée est une source prometteuse de composés bioactifs avec un potentiel d'application significatif.

### 2. LC-MS/MS

L'analyse qualitative par LC-MS/MS a permis d'identifier les principaux composés phénoliques présents dans l'extrait hydro-alcoolique des parties aériennes d'*A. Arpilobus* (Tableau 3).

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

Tableau 3 : Résultats de l'analyse LC-MS/MS

N°	Nome	(M-H)	M2	Temps de rétention	Classe phytochimique	Ion Mod
1	Acide gallique	169	125	3.218	Phénols	Négatif
2	Acide protocatéchique	153	112, 109	5.449	Phénols	Négatif
3	Catéchine	288	245	6.904	Phénols	Négatif
4	L'acide chlorogénique	353	191	7.378	Phénols	Négatif
5	<i>o</i> -hydroxybenzaldéhyde	121	108, 102	7.679	Aldéhyde	Négatif
6	Acide vanillique		153, 122	7.791	Phénols	Négatif
7	Acide Syringique		183, 166	8.401	Phénols	Négatif
8	Acide salicylique		94, 64, 75	9.539	Phénols	Négatif
9	<i>Acide trans-férulique</i>	193	133, 115, 104	10.132	Phénols	Négatif
10	Acide sinapique	223	210	10.414	Phénols	Négatif
11	Scutellaréine-O-hexouronide (Scutellarine)	461	369, 286	11.151	Glycoside de flavone	Négatif
12	<i>Acide P-coumarique</i>	163	141	11.502	Phénols	Négatif
13	Ester éthylique de l'acide protocatéchique	181	162	11.622	Phénols	Négatif
14	Hespérétine-O-désoxyhexosylhexoside (Hespérétinerutinoside)	609	304, 365	11.842	Glycoside de flavanone	Négatif
15	Quercétine-O-désoxyhexosylhexoside (Rutine)	609	301, 286	12.293	Glycoside de flavonol	Négatif
16	Pentoside de quacétine	432	315	12.433	Glycoside de flavonol	Négatif
17	Kaempférol-O-hexoside (Kaempférol-O-glucoside)	447	284, 255	12.500	Glycoside de flavonol	Négatif
18	Baïcaléine-O-hexouronide (Baicalin)	445	425	13.287	Glycoside de flavone	Négatif
19	Morin	300	215	13.327	Flavonol aglycone	Négatif
20	Fisétine	285	137, 131	13.900	Flavanol aglycone	Négatif
21	Chrysrine	253	188	14.230	Flavanone aglycone	Négatif
22	Quercétine	301	216	14.821	Flavonol aglycone	Négatif
23	Naringénine	271	177	14.999	Flavanone aglycone	Négatif
24	Hespérétine	301	286, 242, 199	15.815	Flavanone aglycone	Négatif
25	Kaempférol	285	217, 133	16.431	Flavonol aglycone	Négatif
26	Baicaléine	269	147	17.084	Flavone aglycone	Négatif
27	Lutéoline	285	155, 161	17.909	Flavone aglycone	Négatif
28	Biochanine A	283	121	17.91	Aglycone isoflavone	Négatif

L'évaluation phytochimique de l'extrait végétal par LC-MS a révélé une grande diversité de composés phénoliques. En particulier, des acides phénoliques ont été identifiés y compris l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide p-coumarique, l'acide protocatéchique, l'acide trans-férulique, l'acideprotocatéchique, l'acide sinapique, l'hydroxybenzaldéhyde, l'acide salicylique, l'acide chlorogénique et l'acide vanillique. Ces acides phénoliques sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires remarquables, suggérant des effets potentiellement bénéfiques pour la santé de l'extrait de plante.

De plus, les flavonoïdes présents ont été caractérisés en différents sous-groupes, incluant les flavan-3-ols, représentés par les catéchines, également identifiés dans l'extrait. Ces composés contribuent à la diversité phytochimique, chacun possédant des propriétés uniques et des avantages potentiels pour la santé. En outre, diverses flavones, telles que

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

l'aglycone de baicaléine et le glucuronide de scutellarine, ont été détectées, ainsi que des flavonols comme la morine, le kaempférol, la quercétine et la fistétine. Les flavanones hespérétine et naringénine ont aussi été identifiées, tout comme l'isoflavone biochanine A.

Notamment, des formes glycosylées de flavonoïdes, telles que le quercétine-déoxyhexosylhexoside, l'hespérétine-déoxyhexosylhexoside, le quercétinepentoside et le kaempférolhexoside, étaient présentes dans l'extrait

### 3. Activité antioxydant

L'essai de piégeage du radical DPPH offre des informations précieuses sur l'activité antioxydante des extraits naturels et des composés standards. Dans cette étude, l'extrait d'*A. Arpilobussa* montré un potentiel antioxydant significatif, avec un pourcentage d'inhibition de 91,81 % à une concentration de 160 µg/mL (Tableau 4). Cela suggère une capacité notable à neutraliser les radicaux DPPH, impliquant des bénéfices potentiels pour la santé associée à ses propriétés antioxydantes.

Tableau 4 : Inhibition du radical DPPH par l'extrait d'*A. arpilobus* et les standards

% Inhibition	Concentration µg/ml								IC <sub>50</sub> µg/ml
	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	
<i>A. arpilobus</i>	91.81	90.72	81.72	67.09	54.54	36.36	26.36	18.18	19.44 ± 1,1
BHA	95.12	91,2	90.2	59	49	41	40.23	39.25	11.94 ± 1.2
BHT	98.13	92,2	90.3	69.3	56.2	49.2	47.25	40.12	5.5 ± 2.3
Acide ascorbique	90.23	91,2	90.28	53,3	48,2	40,2	34.65	30.59	15.03 ± 1.6
Alpha tocophérol	93.2	90.2	80.25	54.3	47.2	40.2	39.25	36.15	14.71 ± 0.9

BHA : Hydroxyanisole butylé. BHT : Hydroxytoluène butylé

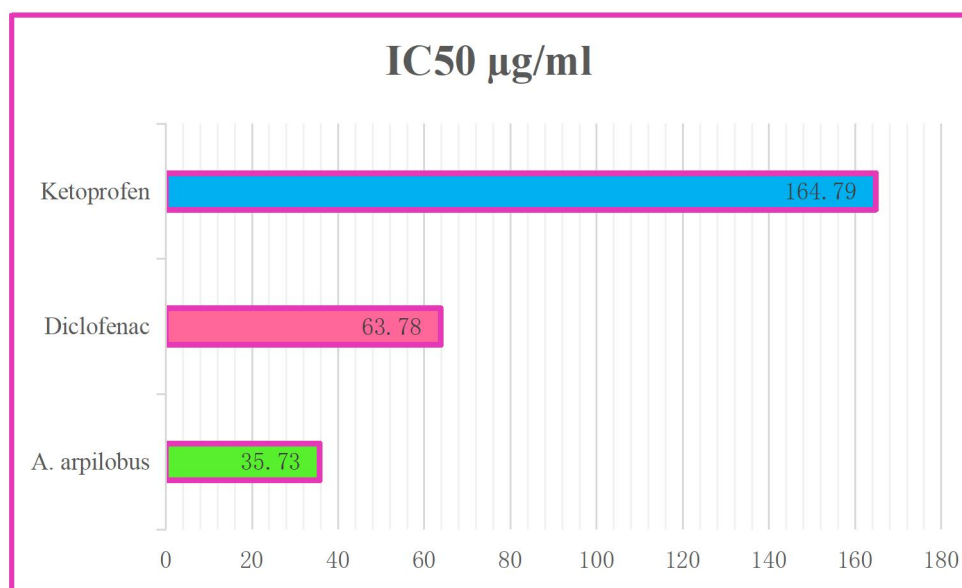
Comparativement, des standards positifs tels que le BHA, le BHT, l'acide ascorbique et l' $\alpha$ -tocophérol ont également montré une activité de piégeage du radical DPPH considérable à la même concentration. Le BHT a affiché le pourcentage d'inhibition le plus élevé parmi les standards, atteignant 98.13%, suivi de près par le BHA avec 95.12%. Ces deux composés ont démontré une activité antioxydante supérieure par rapport à l'extrait d'*A. Arpilobus*. L' $\alpha$ -tocophérol a également montré une activité robuste avec un pourcentage d'inhibition de 93.2%, indiquant son efficacité en tant qu'agent antioxydant.

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

Les valeurs de  $CI_{50}$ , telles que décrites dans le Tableau 4, servent d'indicateurs critiques du potentiel antioxydant exhibé par l'extrait végétal ainsi que par divers composés standards dans la neutralisation des radicaux DPPH. Il est important de noter qu'une valeur de  $CI_{50}$  plus faible correspond à une activité antioxydante plus élevée, représentant la concentration requise pour neutraliser 50% des radicaux DPPH présents. Dans cette étude, la valeur de  $CI_{50}$  pour l'extrait de *A. arpilobus* a été déterminée à  $19.44 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ . La comparaison des valeurs de  $CI_{50}$  entre l'extrait de *A. arpilobus* et les composés standards élucide leur efficacité antioxydante relative. L'extrait végétal a présenté une valeur de  $CI_{50}$  favorable plus proche de celles du BHA, du BHT, de l'acide ascorbique et de l' $\alpha$ -tocophérol, ce qui indique son potentiel en tant qu'agent antioxydant efficace.

### 4. Activité anti-inflammatoire

Les valeurs de  $CI_{50}$  pour l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*A. arpilobus* et des médicaments standards, diclofénac et kétoprofène, ont été déterminées respectivement à  $35.73 \mu\text{g/ml}$ ,  $63.78 \mu\text{g/ml}$  et  $164.79 \mu\text{g/ml}$  (Figure 13). Ces valeurs représentent la concentration nécessaire pour inhiber l'inflammation de 50%. La comparaison de ces résultats montre que l'extrait d'*A. arpilobus* présente une valeur de  $CI_{50}$  nettement plus faible que celles du diclofénac et du kétoprofène. Cela suggère que l'extrait d'*A. arpilobus* possède des propriétés anti-inflammatoires plus puissantes par rapport aux médicaments standards diclofénac et kétoprofène.



**Figure 13** : Activité anti-inflammatoire d'*A. arpilobus*

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

### 5. In silico

- **Caractéristiques du gène PTGS2 sont présentée dans la figure 14**
  - **Séquence nucléotidique :** La séquence complète du gène PTGS2 a été extraite et analysée.
  - **Localisation chromosomique :** Le gène PTGS2 est situé sur le chromosome 1.
  - **Structure génique :** Le gène est composé de 10 exons et 9 introns.
  - **Régulation génique :** Divers facteurs de transcription et éléments régulateurs ont été identifiés, indiquant un contrôle complexe de l'expression du gène.

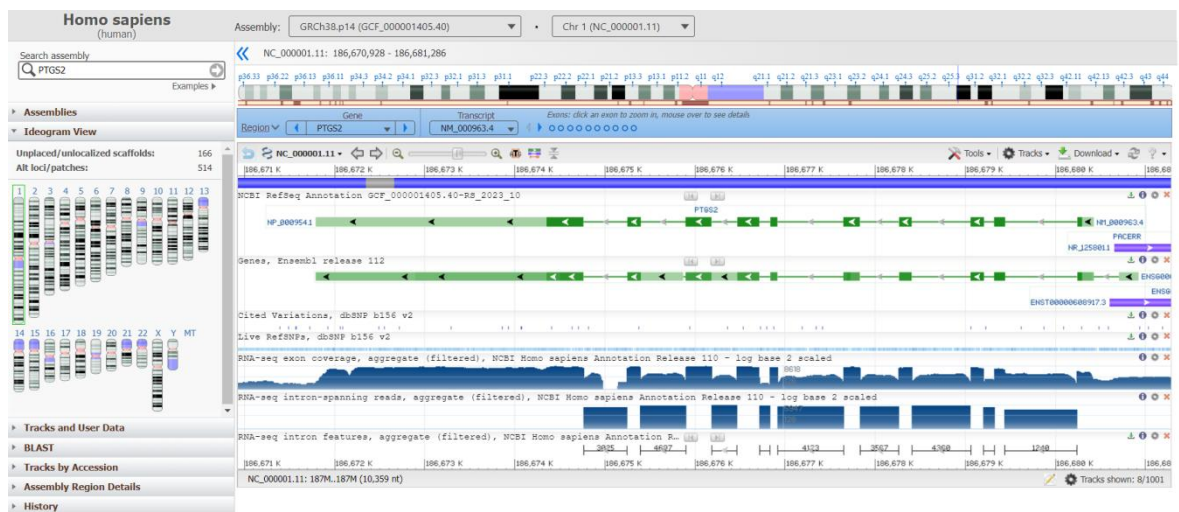
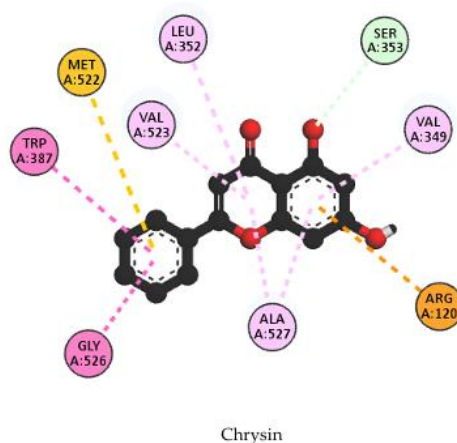


Figure 14 : caractéristique moléculaire du gène PTGS2

- **Criblage virtuel :**

La molécule chrysin figure 2 choisie par grâce a leur concentration élever a été identifiée comme ayant une forte affinité pour la protéine COX-2, avec un score de -10,3. Ces résultats indiquent une potentielle efficacité en tant qu'agent anti-inflammatoire.



**Figure 15** : l'interaction de la molécule chrysin et la protien COX-2.

### 6. Discussion

Cette étude représente la première exploration dans la littérature portant spécifiquement sur les composés phénoliques *d'A. arpilobus*. Bien que des recherches antérieures aient examiné les composés phénoliques de diverses espèces *d'Astragalus*, aucune n'a jusqu'à présent abordé spécifiquement ceux *d'A. Arpilobus*. Cela met en évidence la nouveauté et l'importance de ces résultats, qui élargissent la compréhension de la composition phytochimique et des avantages potentiels pour la santé de cette espèce.

De nombreux composés phénoliques identifiés dans notre plante par analyse LC-MS/MS sont également présents dans diverses espèces *d'Astragalus*. Par exemple, l'acide gallique, un composé phénolique majeur, a fait l'objet de nombreuses études pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Shoaib et al., 2023) . En outre, les composés phénoliques mentionnés précédemment ont été identifiés dans l'extrait méthanolique *d'A. schizopterus* (Haşimi et al., 2017) . De plus, des composés phénoliques significatifs tels que le kaempférol, la quercétine et la rutine ont été détectés dans diverses espèces *d'Astragalus* en utilisant deux techniques HPLC distinctes (Qi et al., 2008 ; Zhang et al., 2018) . Des composés phénoliques similaires ont été isolés et purifiés à partir *d'A. taipaihanensis*, et leurs structures ont été élucidées à l'aide de techniques telles que l'ESI-MS, le HR-ESI-MS, le 1D-NMR et le 2D-NMR. Parmi ces composés figurent la quercétine, le kaempférol, l'acide p-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique (Pu et al., 2015), tous ayant été détectés avec succès dans notre étude actuelle.

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

---

Dans leur étude, Lekmine et al. (2022) ont noté à la fois des similitudes et des différences dans la présence de composés phénoliques par rapport à ceux identifiés dans notre recherche actuelle. Ces différences dans la composition et la quantité des composés peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Tout d'abord, les conditions écologiques telles que la composition du sol, l'altitude et l'exposition au soleil peuvent influencer de manière significative la production de métabolites secondaires chez les plantes (Lobanova, 2011 ; Mollaei et al., 2020) . De plus, les différences génétiques entre les espèces végétales ou même au sein de la même espèce peuvent entraîner des variations dans la production de métabolites (Henderson and Salt, 2017). En outre, les facteurs de stress environnementaux tels que la pollution, la sécheresse ou l'herbivorie peuvent inciter les plantes à produire des composés spécifiques en tant que mécanismes de défense, contribuant ainsi aux différences observées (Mehalaine and Chenchouni, 2020).

Enfin, les emplacements géographiques où les matériaux végétaux ont été collectés peuvent jouer un rôle crucial, car des régions distinctes peuvent avoir des microclimats et des compositions de sol uniques, influençant le profil chimique global des plantes (Li et al., 2023) . Par conséquent, la divergence dans la composition des composés entre les études souligne la complexité de la chimie des plantes et souligne l'importance de prendre en compte plusieurs facteurs lors de la comparaison des profils phytochimiques à travers différentes études. Sur la base de la littérature et des résultats actuels, nous pouvons considérer l'extrait *A. Arpilobus* comme une source importante de composés phénoliques avec un potentiel pour des applications biomédicales en raison de son métabolisme secondaire, qui dépend des conditions écologiques locales.

Selon nos résultats, la comparaison a montré que bien que l'extrait *A. Arpilobus* ait présenté une inhibition légèrement inférieure par rapport à BHA, BHT, l'acide ascorbique et l' $\alpha$ -tocophérol, il a néanmoins démontré une efficacité antioxydante considérable par rapport à certains autres extraits de plantes et à d'autres méthodes antioxydantes (Lekmine et al., 2020) . Cela suggère que l'extrait *A. Arpilobus* possède un potentiel notable en tant qu'agent antioxydant naturel.

De nombreuses études portant sur le même genre ont régulièrement démontré une activité antioxydante puissante. Par exemple, l'extrait éthanolique d'*A. armatusa* montré un potentiel antioxydant significatif, comme en témoignent ses résultats positifs dans sept tests antioxydants distincts (Lekmine et al., 2022).

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

---

De même, *A. monspessulanus* a présenté une activité modérée en utilisant le test au DPPH avec une valeur de  $CI_{50}$  de  $13,57 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ , ce qui concorde étroitement avec notre résultat de  $19,44 \pm 1,1 \mu\text{g/mL}$ . Comparé à nos résultats, une légère différence de  $CI_{50}$  a été observée dans l'étude de **Lekmine et al. (2020)** sur l'extrait butanolique de fleurs d'*A. gombifirmis*, avec une valeur de  $CI_{50}$  de  $16,43 \pm 0,46$  dans le test au DPPH (Lekmine et al., 2020).

Concernant le potentiel anti-inflammatoire de la plante testée, l'albumine sérique bovine (BSA) est une protéine globulaire qui contient des acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine (Kishore, 2022). Ces acides aminés sont responsables de l'activité anti-inflammatoire de la protéine lorsqu'elle subit une dénaturation. La dénaturation de la BSA peut être utilisée comme modèle pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de diverses substances telles que les extraits de plantes (Kishore, 2022). L'activité anti-inflammatoire de la dénaturation de la BSA est mesurée par l'inhibition du processus de dénaturation lui-même. Lorsqu'une substance ayant des propriétés anti-inflammatoires est présente, elle peut prévenir ou ralentir la dénaturation de la BSA, ce qui indique sa capacité à réduire l'inflammation (Saeed et al., 2024).

Le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait d'*A. Arpilobusa* été évalué. Ce processus implique la perturbation des liaisons électrostatiques, hydrophobes, hydrogène et disulfure cruciales pour le maintien de la structure tridimensionnelle des protéines (Varghese et al., 2024). Lorsque les protéines subissent une dénaturation, elles perdent souvent leurs fonctions biologiques, ce qui conduit à la production d'auto-antigènes pouvant déclencher divers dysfonctionnements auto-immuns, notamment les maladies rhumatismales et inflammatoires. Par conséquent, les composés capables d'inhiber la dénaturation des protéines sont hautement considérés comme des traitements efficaces contre l'arthrite et l'inflammation (Tavanappanavar et al., 2024).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire in vitro ont révélé que l'extrait d'*A. Arpilobus* présentait une efficacité remarquable dans la préservation de la structure tridimensionnelle des protéines, suggérant son potentiel en tant qu'agent thérapeutique pour lutter contre l'inflammation. Notre étude représente la première recherche dans la littérature dédiée à l'exploration des propriétés anti-inflammatoires de *A. arpilobus*, comblant une

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

---

lacune significative dans la littérature existante où les informations sur cette plante font défaut.

Plusieurs études ont examiné l'activité anti-inflammatoire des espèces d'*Astragalus* en utilisant la méthode de dénaturation de la BSA. *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge a été démontré pour présenter une activité anti-inflammatoire en inhibant la production de médiateurs pro-inflammatoires (Ramadan et al., 2023). Un extrait commercial d'*A. membranaceus* a été trouvé pour atténuer l'inflammation et le stress oxydatif dans les cellules intestinales en augmentant l'activation de Nrf2 et l'expression de HO-1 et NQO1 (Ramadan et al., 2023). Les polysaccharides d'*A. membranaceus* ont été signalés pour avoir des effets sur l'activation des cellules B et des macrophages, la promotion des réponses humorales et immunitaires, la protection des vaisseaux sanguins et la prévention de l'inflammation et du cancer (Hwang et al., 2023). Les dérivés triterpéniques d'*Astragalus* ont été rapportés pour avoir des effets anti-inflammatoires (Dong et al., 2023)

### 7. La corrélation :

Selon la littérature, une forte corrélation a été trouvée entre l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et les composés phénoliques précédemment identifiés en utilisant la technique LC-ESI-MS (Xu et al., 2019). L'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide chlorogénique, l'hydroxybenzaldéhyde, l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide salicylique, l'acide trans-férulique, l'acide sinapique, l'acide p-coumarique et l'ester éthylique de l'acide protocatéchique sont des acides phénoliques connus pour leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires (Rahman et al., 2021).

Ces composés présentent une activité anti-inflammatoire en modulant les médiateurs pro-inflammatoires tels que la cyclooxygénase (COX) et les éléments transcriptionnels impliqués dans les voies antioxydantes telles que le facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) et le facteur nucléaire 2 apparenté au facteur érythroïde (Nrf-2) (Rahman et al., 2021)

De plus, des flavonoïdes tels que la catéchine, la scutellarine, la quercétine, la naringénine, l'hespérétine, le kaempférol, la baicaléine, la lutéoline, la biochanine A, le quercétine-3-xyloside, l'hespérétine-déoxyhexosylhexoside, le pentoside de quercétine, la

## CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

---

morine, le hexoside de kaempférol, la fisétine, le hexouronide de baicaléine et la chryisine possèdent également des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Kim et al., 2023)

Cependant, il est important de noter que bien que ces composés identifiés puissent contribuer de manière significative aux effets anti-inflammatoires et antioxydants observés, il pourrait y avoir d'autres molécules bioactives présentes dans l'extrait qui n'ont pas été détectées via l'analyse LC-MS. Ces molécules non détectées telles que les acides gras, les caroténoïdes et les stéroïdes peuvent également jouer un rôle significatif dans la capacité anti-inflammatoire observée de l'extrait (Miya et al., 2023)

Les extraits botaniques tels que l'extrait d'AAH étudié dans notre étude offrent un mélange complexe de phytochimiques comprenant des composés phénoliques qui peuvent présenter des effets synergiques ou antagonistes sur les activités biologiques (Vaou et al., 2022)

Lors de la comparaison des concentrations d'extraits avec des polyphénols purs, il est crucial de reconnaître que l'efficacité d'un extrait n'est pas uniquement déterminée par l'abondance d'une molécule particulière. En effet, un extrait peut contenir une proportion élevée d'une molécule de référence spécifique qui contribue peu à son activité antioxydante ou anti-inflammatoire globale. En revanche, d'autres composants présents dans l'extrait peuvent exercer des effets biologiques significatifs, même à des concentrations plus faibles (Efferth and Koch, 2011)

Cette variabilité d'activité souligne l'importance d'évaluer les extraits de manière holistique, en tenant compte de la contribution collective de tous les constituants phytochimiques aux effets biologiques observés. De plus, la complexité des extraits botaniques présente des défis en termes de standardisation des doses et d'assurance de la cohérence entre les études, soulignant davantage la nécessité d'une interprétation prudente lors de la comparaison des concentrations avec des polyphénols purs ou des molécules de référence (van Vuuren and Viljoen, 2011).

## CONCLUSION

---

### Conclusion

En résumé, notre étude a révélé un profil phénolique riche et diversifié de l'extrait *A. Arpilobus*, caractérisé par une variété de composés incluant l'acide gallique, l'acide protocatéchique, la catéchine et la chryisine. Ces composés phénoliques sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Par exemple, l'acide gallique et l'acide protocatéchique sont reconnues pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à inhiber les voies inflammatoires, tandis que la catéchine et la chryisine possèdent des effets protecteurs contre le stress oxydatif et les dommages cellulaires.

L'évaluation biologique de l'extrait *A. Arpilobusa* a montré une activité antioxydante significative, démontrée par une capacité élevée de piégeage du radical DPPH, et une activité anti-inflammatoire notable, surpassant celle de médicaments standards tels que le diclofénac et le kétoprofène. Cette efficacité est attribuée à la synergie entre les différents composés phénoliques présents dans l'extrait, qui agissent de concert pour moduler les voies biochimiques impliquées dans le stress oxydatif et l'inflammation.

Ces résultats enrichissent notre compréhension de la composition bioactive de l'extrait *A. Arpilobus* et soulignent son potentiel pharmacologique pour atténuer les affections liées au stress oxydatif et à l'inflammation. Pour maximiser l'utilisation thérapeutique de ces composés bioactifs, il est crucial de mener des études plus approfondies sur les mécanismes moléculaires sous-jacents et les implications cliniques. Des investigations futures devraient également explorer les interactions entre les différents composés phénoliques et leur impact collectif sur les activités biologiques.

L'exploitation des bénéfices de l'extrait *A. Arpilobus* pourrait ouvrir la voie au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques et interventions pour les maladies inflammatoires, ainsi que pour d'autres affections de santé. Cela pourrait inclure la formulation de nouveaux médicaments à base de plantes ou de suppléments nutritionnels visant à renforcer les défenses antioxydantes de l'organisme et à réduire l'inflammation, offrant ainsi des alternatives naturelles aux traitements pharmacologiques traditionnels. Ce travail a démontré l'utilité des méthodes *in silico* dans la recherche de molécules anti-inflammatoires. Les résultats obtenus fournissent une base solide pour des études expérimentales ultérieures et le développement de nouveaux traitements anti-inflammatoires.

## REFERENCES

---

### References

- Abd El-Ghani, M.M., El-Sayed, A.S.A., Moubarak, A., Rashad, R., Nosier, H., Khattab, A., 2021. Biosystematic study on some Egyptian species of *Astragalus* L.(Fabaceae). *Agriculture* 11, 125.
- Abdelnaser, M., Alaaeldin, R., Attya, M.E., Fathy, M., 2024. Modulating Nrf-2/HO-1, apoptosis and oxidative stress signaling pathways by gabapentin ameliorates sepsis-induced acute kidney injury. *NaunynSchmiedebergs Arch Pharmacol* 397, 947–958.
- Abu Bakar, F.I., Abu Bakar, M.F., Abdullah, N., Endrini, S., Rahmat, A., 2018. A review of Malaysian medicinal plants with potential anti-inflammatory activity. *Adv Pharmacol Pharm Sci* 2018.
- Alain, K.Y., Cokou, A.D.P., Diane, B., Reine, B.S., Alain, A.G., Felicien, A., Dominique, S.C.K., 2018. Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khayasenegalensis*, une plante usage vétérinaire récoltée au Bénin. *Int J InnovApplStud* 23, 441–450.
- Azani, N., Babineau, M., Bailey, C.D., Banks, H., Barbosa, A.R., Pinto, R.B., Boatwright, J.S., Borges, L.M., Brown, G.K., Bruneau, A., 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon* 66, 44–77.
- Ballo, M., Traore, K., Guindo, A.D.A., Diakite, S.A.S., Dackouo, B., Ouedraogo, R., S&ekou, B.A.H., Diakite, M., Sanogo, R., Estelle, N.H., 2023. In vitro inhibition of cyclooxygenases, anti-denaturation and antioxidant activities of Malian medicinal plants. *Afr J PharmPharmacol* 17, 34–42.
- Bayala, B., 2014. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastome. Thèse de doctorat en spécialité Physiologie et génétique moléculaire. U.R.R. Sciences et Technologies. Université Blaise Pascal. Burkina Faso. 25-27.
- Becher, F., Ciccolini, J., Imbs, D.-C., Marin, C., Fournel, C., Dupuis, C., Fakhry, N., Pourroy, B., Ghetas, A., Pruvost, A., 2017. A simple and rapid LC-MS/MS method for therapeutic drug

monitoring of cetuximab: a GPCO-UNICANCER proof of concept study in head-and-neck cancer patients. *Sci Rep* 7, 2714.

Belinskaia, D.A., Voronina, P.A., Shmurak, V.I., Jenkins, R.O., Goncharov, N. V, 2021. Serum albumin in health and disease: esterase, antioxidant, transporting and signaling properties. *Int J Mol Sci* 22, 10318.

Bendifallah, L., 2023. Biocidal Activity of Plant Extracts: The Case of Algeria, in: *Antimicrobial Research and One Health in Africa*. Springer, pp. 305–315.

Benslama, O., Lekmine, S., Mansouri, N., 2023. Phytochemical constituents of *Astragalus monspessulanus* and integrative analysis for its antioxidant, photoprotective, and antityrosinase activities: Experimental and computational investigation. *Eur J Integr Med* 60, 102247.

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

Brullo, C., Brullo, S., del Galdo, G.G., Minissale, P., Sciandrello, S., 2013. *Astragalus kamarinensis* (Fabaceae), a new species from Sicily, in: *Annales Botanici Fennici*. JSTOR, pp. 61–67.

Chaiya, P., Senarat, S., Phaechamud, T., Narakornwit, W., 2022. In vitro anti-inflammatory activity using thermally inhibiting protein denaturation of egg albumin and antimicrobial activities of some organic solvents. *Mater Today Proc* 65, 2290–2295.

Chehma, A., 2019. *Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien*. Éditions universitaires européennes.

Cheng, W.-J., Chiang, C.-C., Lin, C.-Y., Chen, Y.-L., Leu, Y.-L., Sie, J.-Y., Chen, W.-L., Hsu, C.-Y., Kuo, J.-J., Hwang, T.-L., 2021. *Astragalus mongholicus* bunge water extract exhibits anti-inflammatory effects in human neutrophils and alleviates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice. *Front Pharmacol* 12, 762829.

Chowdhary, V., Aloopampil, S., Pandya, R. V, Tank, J.G., 2021. Physiological function of phenolic compounds in plant defense system. *Phenolic Compounds—Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications*.

Coulot, P., Rabaute, P., 2021. Knowledge of the genus *Astragalus* L.; 1-The *Astragalus* section. *Société botanique d'Occitanie*.

Dobignard, A., Chatelain, C., 2010. Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord: volumen 3: Dicotyledoneae: Balsaminaceae-Euphorbiaceae. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques.

Dong, M., Li, J., Yang, D., Li, M., Wei, J., 2023. Biosynthesis and Pharmacological Activities of Flavonoids, Triterpene Saponins and Polysaccharides Derived from *Astragalus membranaceus*. *Molecules* 28, 5018.

Dugues, P., Abe, E., Bellouard, M., Beaufils, G., Duplessy, C., Nefau, T., Seyler, T., Alvarez, J.-C., Larabi, I.-A., 2024. Développement et validation d'une méthode de criblage en LC-MS/MS: application à l'analyse des résidus de seringues usagées du réseau ESCAPE à Paris. *Toxicologie Analytique et Clinique* 36, S37–S38.

Efferth, T., Koch, E., 2011. Complex interactions between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy. *Curr Drug Targets* 12, 122–132.

ERENLER, R., KARAN, T., HOSAFLIOĞLU, İ., 2023. Phytochemical analysis of *Syringa vulgaris*: Quantitative analysis of natural compounds by LC-ESI-MS/MS. *Turkish Journal of Biodiversity* 6, 75–78.

Fraga-Corral, M., Otero, P., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Jarboui, A., Nuñez-Estevez, B., Simal-Gandara, J., Prieto, M.A., 2021. By-products of agri-food industry as tannin-rich sources: A review of tannins' biological activities and their potential for valorization. *Foods* 10, 137.

Ghasemian, M., Owlia, S., Owlia, M.B., 2016. Review of anti-inflammatory herbal medicines. *Adv Pharmacol Pharm Sci* 2016.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M.C., Oueld-Mokhtar, S.M., Fercha, N., Bousselsela, H., 2014. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubiumvulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products* 2, 64–74.

Graziani, V., Esposito, A., Scognamiglio, M., Chambery, A., Russo, R., Ciardiello, F., Troiani, T., Potenza, N., Fiorentino, A., D'Abrosca, B., 2019. Spectroscopic characterization and cytotoxicity assessment towards human colon cancer cell lines of acylated cycloartane glycosides from *Astragalus boeticus* L. *Molecules* 24, 1725.

Haşimi, N., Ertaş, A., Yılmaz, M.A., Boğa, M., Temel, H., Demirci, S., Özden, T.Y., Yener, İ., Kolak, U., 2017. LC-MS/MS and GC-MS analyses of three endemic *Astragalus* species from Anatolia towards their total phenolic-flavonoid contents and biological activities. *Biol. Divers. Conserv* 10, 18–30.

Henderson, I.R., Salt, D.E., 2017. Natural genetic variation and hybridization in plants. *J Exp Bot* 68, 5415–5417. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx377>

Hien, N., OUEDRAOGO, J.C.W., Coulibaly, Y.L.B., 2024. Identification des interactions flavonoïde-flavonoïde par évaluation in vitro du pouvoir antioxydant de mélanges binaires. *Sciences des Structures et de la matière* 7.

Hu, B., Ouyang, Y., Zhao, T., Wang, Z., Yan, Q., Qian, Q., Wang, W., Wang, S., 2024a. Antioxidant Hydrogels: Antioxidant Mechanisms, Design Strategies, and Applications in the Treatment of Oxidative Stress-Related Diseases. *Adv Healthc Mater* 2303817.

Hu, B., Ouyang, Y., Zhao, T., Wang, Z., Yan, Q., Qian, Q., Wang, W., Wang, S., 2024b. Antioxidant Hydrogels: Antioxidant Mechanisms, Design Strategies, and Applications in the Treatment of Oxidative Stress-Related Diseases. *Adv Healthc Mater* 2303817.

Hua, D., Zhang, D., Huang, B., Yi, P., Yan, C., 2014. Structural characterization and DPPH· radical scavenging activity of a polysaccharide from *Guara* fruits. *CarbohydrPolym* 103, 143–147.

Huang, J., Xie, M., Song, X., 2023. Chlorogenic acid: a review on its mechanisms of anti-inflammation, disease treatment, and related delivery systems. *Front Pharmacol* 14, 1218015.

Hwang, Y.S., Lim, J., Yoon, H.R., Park, S.-H., Kim, A., Jang, J.-P., Cho, H.J., Lee, H.G., 2023. *Astragalus Complanatus* Ethanol Attenuates Septic Shock by Exerting Anti-Inflammatory Effects on Macrophages. *Int J Mol Sci* 25, 384.

Ibrahim, R.M., Abdel-Baki, P.M., El-Rashedy, A.A., Mahdy, N.E., 2024. LC-MS/MS profiling of *Tipuanatipu* flower, HPLC-DAD quantification of its bioactive components, and interrelationships with antioxidant, and anti-inflammatory activity: in vitro and in silico approaches. *BMC Complement Med Ther* 24, 176.

Karthik, K., Kumar, B.R.P., Priya, V.R., Kumar, S.K., Rathore, R.S.B., 2013. Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 1, 729.

Kherraze, M. El, Lakhdari, K., Kherfi, Y., Benzaoui, T., Berroussi, S., Bouhanna, M., Sabaa, A., 2010. Atlas floristique de la vallée de l'Oued Righ par écosystème. Ed. CRSTRA Touggourt 91.

Kim, H.H., Jeong, S.H., Park, M.Y., Bhosale, P.B., Abusaliya, A., Kim, H.W., Seong, J.K., Ahn, M., Park, K. Il, Kim, G.S., 2023. Author Correction: Antioxidant effects of phenolic compounds in through the distillation of *Lonicera japonica* & *Chenpi* extract and anti-inflammation on skin keratinocyte. *Sci Rep* 13.

Kishi, S., Nagasu, H., Kidokoro, K., Kashihara, N., 2024. Oxidative stress and the role of redox signalling in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 20, 101–119.

Kishore, N., 2022. Influence of amino acids on alkaline pH induced partially folded molten globule like intermediate of bovine serum albumin: Conformational and thermodynamic insights. *J Mol Liq* 368, 120599.

Kliebenstein, D.J., 2012. Plant defense compounds: systems approaches to metabolic analysis. *Annu Rev Phytopathol* 50, 155–173.

Kumar, S., Sane, P. V, 2003. *Legumes of South Asia*.

Kyselova, Z., 2011. Toxicological aspects of the use of phenolic compounds in disease prevention. *Interdiscip Toxicol* 4, 173–183.

Lakhdari, W., Dehliz, A., Acheuk, F., Mlik, R., Hammi, H., DOUMANDJI-MITICHE, B., Gheriani, S., Berrekbia, M., Guermit, K., Chergui, S., 2016. Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara).

Lekmine, S., Bendjedid, S., Benslama, O., Martín-García, A.I., Boussekine, S., Kadi, K., Akkal, S., Nieto, G., Sami, R., Al-Mushhin, A.A.M., 2022. Ultrasound-Assisted Extraction, LC–MS/MS analysis, anticholinesterase, and antioxidant activities of valuable natural metabolites from *Astragalus armatus* Willd.: In silico molecular docking and In vitro enzymatic studies. *Antioxidants* 11, 2000.

Lekmine, S., Benslama, O., Tahraoui, H., Ola, M.S., Laouani, A., Kadi, K., Martín-García, A.I., Ali, A., 2024. Anti-Cholinergic Effects of the Phenolic Extract from the *Astragalus crenatus* Plant: A Computational and Network Pharmacology Study. *Pharmaceuticals* 17. <https://doi.org/10.3390/ph17030348>

Lekmine, S., Boussekine, S., Akkal, S., Martín-García, A.I., Boumegoura, A., Kadi, K., Djeghim, H., Mekersi, N., Bendjedid, S., Bensouici, C., Nieto, G., 2021. Investigation of Photoprotective, Anti-Inflammatory, Antioxidant Capacities and LC–ESI–MS Phenolic Profile of *Astragalus gombiformis* Pomel. *Foods* 10. <https://doi.org/10.3390/foods10081937>

Lekmine, S., Boussekine, S., Kadi, K., Martín-García, A.I., Kheddouma, A., Nagaz, K., Bensouici, C., 2020. A comparative study on chemical profile and biological activities of aerial parts (stems, flowers, leaves, pods and seeds) of *Astragalus gombiformis*. *Biocatal Agric Biotechnol* 27. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101668>

Levitt, D.G., Levitt, M.D., 2016. Human serum albumin homeostasis: a new look at the roles of synthesis, catabolism, renal and gastrointestinal excretion, and the clinical value of serum albumin measurements. *Int J Gen Med* 229–255.

Li, L., Yang, X., Tong, B., Wang, D., Tian, X., Liu, J., Chen, J., Xiao, X., Wang, S., 2023. Rhizobacterial compositions and their relationships with soil properties and medicinal bioactive ingredients in *Cinnamomum migao*. *Front Microbiol* 14, 1078886.

Liu, Q., Luo, L., Zheng, L., 2018. Lignins: biosynthesis and biological functions in plants. *Int J Mol Sci* 19, 335.

Lobanova, E., 2011. Phytochemical description of *Astragalus glycyphyllos* (Fabaceae). *Veg. World Asian Russ* 1, 87–90.

Long, Y., Tan, D.Y., Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2012. Seed dormancy and germination characteristics of *Astragalus arpilobus* (Fabaceae, subfamily Papilionoideae), a central Asian desert annual ephemeral. *South African journal of botany* 83, 68–77.

Maassoumi, A.A., 2022. A checklist of *Astragalus* in the world: new grouping, new changes, and additional species with augmented data. *Research Institute of Forests and Rangelands* 1–563.

Mahmoudi, M., Abdellaoui, R., Boughalleb, F., Yahia, B., Mabrouk, M., Nasri, N., 2021. Characterization of lipids, proteins, and bioactive compounds in the seeds of three *Astragalus* species. *Food Chem* 339, 127824.

Maione, F., Russo, R., Khan, H., Mascolo, N., 2016. Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Nat Prod Res* 30, 1343–1352.

Maslov, D.R., Rubić, I., Farkaš, V., Kuleš, J., Ljubić, B.B., Beletić, A., Samardžija, M., Kovačić, M., Krsteska, G.J., Mrljak, V., 2024. Characterization and LC-MS/MS based proteomic analysis of extracellular vesicles separated from blood serum of healthy and dogs naturally infected by *Babesia canis*. A preliminary study. *Vet Parasitol* 328, 110188.

Mbaïhougadobe, S., NTANDOU, G.F.N., NGAKEGNI-LIMBILI, A.C., BIANCA, F., GOUOLLALY, T., LOUMPANGOU, C.N., MAHMOUT, Y., OUAMBA, J.-M., 2024. Évaluation in vitro de l'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase et étude in vivo des effets analgésiques et anti-inflammatoires de *Entada africana* (Guillet & Perr) et *Combretum nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr), deux plantes traditionnellement. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine* 22, 86–97.

Mehalaine, S., Chenchouni, H., 2020. Plants of the same place do not have the same metabolic pace: soil properties affect differently essential oil yields of plants growing wild in semiarid Mediterranean lands. *Arabian Journal of Geosciences* 13, 1263.

Miya, G.M., Oriola, A.O., Payne, B., Cuyler, M., Lall, N., Oyedeji, A.O., 2023. Steroids and Fatty Acid Esters from *Cyperus sexangularis* Leaf and Their Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Elastase Properties. *Molecules* 28, 3434.

Mohammadi, N., Farrell, M., O'Sullivan, L., Langan, A., Franchin, M., Azevedo, L., Granato, D., 2024. Effectiveness of anthocyanin-containing foods and nutraceuticals in mitigating oxidative stress, inflammation, and cardiovascular health-related biomarkers: a systematic review of animal and human interventions. *Food Funct.*

Mollaei, S., Ebadi, M., Hazrati, S., Habibi, B., Gholami, F., Sourestani, M.M., 2020. Essential oil variation and antioxidant capacity of *Mentha pulegium* populations and their relation to ecological factors. *Biochem Syst Ecol* 91, 104084.

Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol* 26, 211–219.

Nko'o Moise, H., Nga, N., Jeanne, M.M., 2024. Évaluation des Activités Analgésique et Anti-Inflammatoire de l'Extrait Aqueux de *Phyllostachysaurea* (Poacées): Evaluation of the Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of the Aqueous Extract of *Phyllostachysaurea* (Poaceae). *HEALTH SCIENCES AND DISEASE* 25.

Nouioura, G., El Fadili, M., El Barnossi, A., Loukili, E.H., Laaroussi, H., Bouhrim, M., Giesy, J.P., Aboul-Soud, M.A.M., Al-Sheikh, Y.A., Lyoussi, B., 2024. Comprehensive analysis of different solvent extracts of *Ferula communis* L. fruit reveals phenolic compounds and their biological properties via in vitro and in silico assays. *Sci Rep* 14, 8325.

Patel, R., Patel, M., Solanki, R., Khunt, D., 2024. Trace level quantification of N-nitrosorasagiline in rasagiline tablets by LC-TQ-MS/MS, in: *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Elsevier.

Peters, K., Treutler, H., Döll, S., Kindt, A.S.D., Hankemeier, T., Neumann, S., 2019. Chemical diversity and classification of secondary metabolites in nine bryophyte species. *Metabolites* 9, 222.

Pu, W., Wang, D., Zhou, D., 2015. Structural characterization and evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds from *Astragalus taipaihanensis* and their structure-activity relationship. *Sci Rep* 5, 13914.

Purnomo, Y., Wahyuningsih, D., Tilaqza, A., 2023. Anti-inflammatory potency of pulutan (*Urena lobata*) leaf extract and its fractions by protein denaturation inhibition assay. *Res J Pharm Technol* 16, 5406–5409.

Qi, L., Yu, Q., Yi, L., Ren, M., Wen, X., Wang, Y., Li, P., 2008. Simultaneous determination of 15 marker constituents in various *Radix Astragali* preparations by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J Sep Sci* 31, 97–106.

Rahman, M.M., Rahaman, M.S., Islam, M.R., Rahman, F., Mithi, F.M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M.A., Alghamdi, S.Q., Alruwaili, A.S., Hossain, M.S., 2021. Role of phenolic compounds in human disease: current knowledge and future prospects. *Molecules* 27, 233.

Ramadan, R.M., Youssef, F.S., Fouad, E.A., Orabi, A., Khalifa, M.M., 2023. The pharmacological impact of *Astragalus membranaceus* against coccidial and bacterial infection in vitro. *Egyptian Pharmaceutical Journal* 22, 324–335.

Rojas, D., 2024. Développement et validation d'une méthode de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem pour quantifier les oxystérols plasmatiques dysrégulés dans des maladies neurodéveloppementales.

Saeed, K., Rafiq, M., Khalid, M., Hussain, A., Siddique, F., Hanif, M., Hussain, S., Mahmood, K., Ameer, N., Ahmed, M.M., 2024. Synthesis, characterization, computational assay and anti-inflammatory activity of thiosemicarbazone derivatives: Highly potent and efficacious for COX inhibitors. *Int Immunopharmacol* 126, 111259.

Sanchez-Garcia, M.A., Calleja, E., Monroy, E., Sanchez, F.J., Calle, F., Munoz, E., Beresford, R., 1998. The effect of the III/V ratio and substrate temperature on the morphology and properties of GaN-and AlN-layers grown by molecular beam epitaxy on Si (1 1 1). *J Cryst Growth* 183, 23–30.

Sarkar, S., Roy, A., Choudhury, S., Banerjee, R., Dey, S., Kumar, H., 2024. Levodopa-induced Dyskinesia in Parkinson's Disease: Plausible Inflammatory and Oxidative Stress Biomarkers. *Canadian Journal of Neurological Sciences* 51, 104–109.

Shoaib, S., Ansari, M.A., Fatease, A. Al, Safhi, A.Y., Hani, U., Jahan, R., Alomary, M.N., Ansari, M.N., Ahmed, N., Wahab, S., 2023. Plant-derived bioactive compounds in the management of neurodegenerative disorders: Challenges, future directions and molecular mechanisms involved in neuroprotection. *Pharmaceutics* 15, 749.

Sitar, M.E., Aydin, S., Cakatay, U., 2013. Human serum albumin and its relation with oxidative stress. *Clin Lab* 59, 945–952.

Sivapalan, S., Dharmalingam, S., Venkatesan, V., Angappan, M., Ashokkumar, V., 2023. Phytochemical analysis, anti-inflammatory, antioxidant activity of *Calotropis gigantea* and its therapeutic applications. *J Ethnopharmacol* 303, 115963.

Socła, K., Żmudzka, E., Lustyk, K., Zagaja, M., Brighenti, V., Costa, A.M., Andres-Mach, M., Pytka, K., Martinelli, I., Mandrioli, J., 2024. Therapeutic potential of stilbenes in neuropsychiatric and neurological disorders: A comprehensive review of preclinical and clinical evidence. *PhytotherapyResearch*.

Tahiri, A., Assi, M., Amissa, A., 2010. Toxicité et mode d'action des extraits de *Caricapapaya*L.(Caricaceae) sur *Macrotermesbellicosus*Rambur (Isoptera; Macrotermitinae). *Cahiers Agricultures* 19, 267–272.

Tavanappanavar, A.N., Mulla, S.I., Seth, C.S., Bagewadi, Z.K., Rahamathulla, M., Ahmed, M.M., Farhana, S.A., 2024. Phytochemical analysis, GC–MS profile and determination of antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antioxidant activities of peel and seeds extracts (chloroform and ethyl acetate) of *Tamarindus indica* L. *Saudi J Biol Sci* 31, 103878.

Tedjani, A., Boual, Z., El Hadj, M.D.O., Lanez, T., Belkhalifa, H., El Alaoui-Talibi, Z., El Modafar, C., Abdelkafi, S., Fendri, I., Le Cerf, D., 2023a. Antidiabetic potential of mucilage fraction extracted from *Astragalus gyzensis* seeds. *Eur J Biol Res* 13, 18–30.

Tedjani, A., Boual, Z., Telli, A., Chemsia, A.E., Khelef, Y., 2023b. Ethnobotanical survey of two *astragalus* species used by the local population in El-Oued province (septentrional Algerian Sahara). *Vegetos* 1–11.

Thida, M., Aung, H.M., Wai, N.P., Moe, S., 2024. In Vitro Evaluation of Antioxidant, Antiglycation and Anti-Protein Denaturation Potentials of Indigenous Myanmar Medicinal Plant Extracts. *J Herbs Spices Med Plants* 1–14.

Tian, C., Li, X., Wu, Z., Li, Z., Hou, X., Li, F.Y., 2021. Characterization and comparative analysis of complete chloroplast genomes of three species from the genus *Astragalus* (Leguminosae). *Front Genet* 12, 705482.

Touaibia, M., Chaouch, F.Z., 2014. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espècesaharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab.(Myrtaceae)[Evaluation of the antioxidant activity of aqueous, methanolic and ethanolic extracts of the Sahara-endemic species *Myrtus nivellei* Batt and Trab.(Myrtaceae)]. *Int J Innov Appl Stud* 6, 407.

Ummahan, Ö.Z., 2024. Bioinformatics-based detection of secondary metabolite biosynthetic gene clusters and enzymes involved in terpene synthesis in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *South African Journal of Botany* 168, 32–45.

van Vuuren, S., Viljoen, A., 2011. Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta Med* 77, 1168–1182.

Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C., Bezirtzoglou, E., 2022. Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: focus on antimicrobial combination effects. *Antibiotics* 11, 1014.

Varghese, R.M., Kumar, A., Shanmugam, R., 2024. Comparative anti-inflammatory activity of silver and zinc oxide nanoparticles synthesized using *Ocimumtenuiflorum* and *Ocimumgratissimum* herbal formulations. *Cureus* 16.

Wang, J., Luo, J., Rotili, D., Mai, A., Steegborn, C., Xu, S., Jin, Z.G., 2024. SIRT6 protects against lipopolysaccharide-induced inflammation in human pulmonary lung microvascular endothelial cells. *Inflammation* 47, 323–332.

Xu, Y.-B., Chen, G.-L., Guo, M.-Q., 2019. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and their correlations with flavonoids. *Antioxidants* 8, 296.

Yıldızlı, G., Coral, G., Ayaz, F., 2024. Anti-bacterial, anti-fungal, and anti-inflammatory activities of wood vinegar: A potential remedy for major plant diseases and inflammatory reactions. *Biomass Convers Biorefin* 14, 3633–3642.

Yu, F., Liu, Y., Wang, W., Yang, S., Gao, Y., Shi, W., Hou, H., Chen, J., Guo, R., 2024. Toxicity of TPhP on the gills and intestines of zebrafish from the perspectives of histopathology, oxidative stress and immune response. *Science of The Total Environment* 908, 168212.

ZARRE, S., DARZI, R., MAASOUMI, A.L.I.A., SHAHROKH, K.-O., 2024. Seed morphology of *Astragalus* (Fabaceae, Astragaleae) and its systematic implication: an effort towards a standard terminology. *Authorea Preprints*.

Zhang, Quanlong, Mao, Z., Zhang, Qiaoyan, Qiu, J., Jia, Z., Qin, L., 2018. Acute and sub-chronic toxicological studies of the iridoid glycosides extract of *Lamiophlomisrotata* (Benth.) Kudo in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 92, 315–323.

Zhu, Y., Wang, K., Jia, X., Fu, C., Yu, H., Wang, Y., 2024a. Antioxidant peptides, the guardian of life from oxidative stress. *Med Res Rev* 44, 275–364.

Zhu, Y., Wang, K., Jia, X., Fu, C., Yu, H., Wang, Y., 2024b. Antioxidant peptides, the guardian of life from oxidative stress. *Med Res Rev* 44, 275–364.

# *Publication*

## Article

# Preliminary Investigation of *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis*: LC-MS/MS Chemical Profiling, In Vitro Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory Properties, Cytotoxicity, and In Silico Analysis against COX-2

Sabrina Lekmine <sup>1,2,\*</sup>, Ouedd Benslama <sup>3</sup>, Kenza Kadi <sup>1</sup>, Abir Brik <sup>2</sup>, Ouidad Djefali <sup>2</sup>, Manar Ounissi <sup>2</sup>, Meriem Slimani <sup>2</sup>, Mohammad Shamsul Ola <sup>4</sup>, Omayma A. Eldahshan <sup>5,6</sup>, Antonio Ignacio Martín-García <sup>7</sup> and Ahmad Ali <sup>8</sup>

<sup>1</sup> Biotechnology, Water, Environment and Health Laboratory, Abbes Laghrour University, Khenchela 40000, Algeria

<sup>2</sup> Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Abbes Laghrour University, Khenchela 40000, Algeria

<sup>3</sup> Laboratory of Natural Substances, Biomolecules, and Biotechnological Applications, Department of Natural and Life Sciences, Larbi Ben M'Hidi University, Oum El Bouaghi 04000, Algeria

<sup>4</sup> Department of Biochemistry, College of Science, King Saud University, Riyadh 11451, Saudi Arabia

<sup>5</sup> Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Ain Shams University, Cairo 11566, Egypt

<sup>6</sup> Center for Drug Discovery Research and Development, Ain Shams University, Cairo 11566, Egypt

<sup>7</sup> Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda 1, 18008 Granada, Spain

<sup>8</sup> Department of Life Sciences, University of Mumbai, Vidyanaigari, Mumbai 400098, India

\* Correspondence: lekmine.sabrina@univ-khenchela.dz



**Citation:** Lekmine, S.; Benslama, O.; Kadi, K.; Brik, A.; Djefali, O.; Ounissi, M.; Slimani, M.; Ola, M.S.; Eldahshan, O.A.; Martín-García, A.I.; et al. Preliminary Investigation of *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis*: LC-MS/MS Chemical Profiling, In Vitro Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory Properties, Cytotoxicity, and In Silico Analysis against COX-2. *Antioxidants* **2024**, *13*, 654. <https://doi.org/10.3390/antiox13060654>

Academic Editors: Adriana Basile and Natale Badalamenti

Received: 18 March 2024

Revised: 22 May 2024

Accepted: 22 May 2024

Published: 27 May 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** The search results offer comprehensive insights into the phenolic compounds, antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic effects, LC-MS/MS analysis, molecular docking, and MD simulation of the identified phenolic compounds in the *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis* extract (AAH). The analysis revealed substantial levels of total phenolic content (TPC), with a measured value of  $191 \pm 0.03$  mg GAE/g DM. This high TPC was primarily attributed to two key phenolic compounds: total flavonoid content (TFC) and total tannin content (TTC), quantified at  $80.82 \pm 0.02$  mg QE/g DM and  $51.91 \pm 0.01$  mg CE/g DM, respectively. LC-MS/MS analysis identified 28 phenolic compounds, with gallic acid, protocatechuic acid, catechin, and others. In the DPPH scavenging assay, the  $IC_{50}$  value for the extract was determined to be  $19.44 \pm 0.04$   $\mu$ g/mL, comparable to standard antioxidants like BHA, BHT, ascorbic acid, and  $\alpha$ -tocopherol. Regarding anti-inflammatory activity, the extract demonstrated a notably lower  $IC_{50}$  value compared to both diclofenac and ketoprofen, with values of 35.73  $\mu$ g/mL, 63.78  $\mu$ g/mL, and 164.79  $\mu$ g/mL, respectively. Cytotoxicity analysis revealed significant cytotoxicity of the *A. arpilobus* extract, with an  $LC_{50}$  value of 28.84  $\mu$ g/mL, which exceeded that of potassium dichromate (15.73  $\mu$ g/mL), indicating its potential as a safer alternative for various applications. Molecular docking studies have highlighted chrysin as a promising COX-2 inhibitor, with favorable binding energies and interactions. Molecular dynamic simulations further support chrysin's potential, showing stable interactions with COX-2, comparable to the reference ligand S58. Overall, the study underscores the pharmacological potential of *A. arpilobus* extract, particularly chrysin, as a source of bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties. Further research is warranted to elucidate the therapeutic mechanisms and clinical implications of these natural compounds.

**Keywords:** *Astragalus arpilobus* subsp. *hauarensis*; LC-ESI-MS/MS; antioxidant; anti-inflammatory; cytotoxicity; molecular docking; MD simulation

## 1. Introduction

Oxidative stress, a condition characterized by an imbalance between oxidants and antioxidants in favor of oxidants, can have significant impacts on the body. This imbalance