

UNIVERSITE ABD EL HAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

THESE DE DOCTORAT 3<sup>ème</sup> Cycle (Doctorat LMD)

Domaine : Sciences de la Nature & de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Production et Biotechnologie Animales

THEME

**Composition chimique et exploration des activités biologiques  
d'*Elettaria cardamomum* chez les rats Wistar.**

Présentée par :

**M<sup>elle</sup> MOULAI HACENE Faiza**

Soutenue le 2020 devant le jury :

Président : Pr. HOMRANI Abdelkader

Université de Mostaganem

**Rapporteur : Dr. BOUFADI Mokhtaria Yasmina**

**Université de Mostaganem**

Examineur : Pr. BEKADA Ahmed

C.U. de Tissemsilt

Examineur : Pr. KAHLOULA Khaled

Université de Saida

Examineur : Dr. KEDDARI Soumia

Université de Mostaganem

**Année Universitaire : 2019-2020**

## ***Avant-propos***

*Cette étude a été effectuée conjointement au Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé de l'Université de Mostaganem, avec la collaboration du Laboratoire de Chimie Pharmaceutique, ULB, Bruxelles (Belgique) et le Laboratoire d'Anatomie et de Pathologie d'Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran.*

*En premier lieu, Je tiens particulièrement à exprimer ma profonde gratitude à ma directrice de thèse Dr. **Mokhtaria Yasmina BOUFADI**, Maître de Conférences classe « A », Université de Mostaganem. Je tiens à la remercier sincèrement et très chaleureusement pour sa disponibilité permanente et son soutien exceptionnel, ses orientations, ses conseils judicieux et ses encouragements tout au long de mon travail. Je la remercie pour sa compréhension, sa confiance accordée, ses discussions scientifiques enrichissantes qui m'ont permis d'évoluer sereinement au cours de ces années de recherches. Je la remercie de m'avoir fait bénéficier de son expérience ainsi que de son enthousiasme pour la recherche. Je ne vous remercie jamais assez sur ce que vous avez fait pour moi, vous serez pour toujours mon exemple.*

*Je tiens à exprimer mes respectueux remerciements au Pr. **Abdelkader HOMRANI** de l'Université de Mostaganem, pour l'honneur qu'il me fasse en acceptant de présider ce jury. Qu'il trouve ici toute ma gratitude.*

*Il m'est agréable de remercier Pr. **Ahmed BEKADA**, Centre Universitaire de Tissemsilt, pour l'honneur qu'il me fasse en acceptant de participer à l'évaluation de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de toute mon estime.*

*Je suis particulièrement reconnaissante au Pr. **Khaled KAHLOULA** de l'Université de Saida, de l'intérêt qu'il a apporté à ce travail en acceptant d'examiner cette thèse. Je lui adresse mes sincères et vifs remerciements.*

*Je tiens à remercier sincèrement Dr. **Soumia KEDDARI**, Maître de Conférences classe « A » à l'Université de Mostaganem pour l'honneur d'avoir accepté de participer dans ce jury et évaluer ce modeste travail. Je lui exprime ici mes remerciements distingués et toute ma gratitude.*

*Mes remerciements s'adressent également à Dr. **Abdelkader AMMAM** à l'Université de Saida pour m'avoir initié aux différentes techniques et méthodes de l'étude in-vivo et surtout pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses conseils et son aide très précieuse.*

*Je tiens à formuler ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères à Dr. **Mohamed HACHEM**, Médecin et Maître assistant au Laboratoire d'Anatomie et de Pathologie de l'Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran, pour la réalisation de l'étude histologique de nos pièces d'échantillons, pour son aide précieuse, ses conseils techniques et scientifiques. Qu'il soit vivement remercié.*

*Mes sincères remerciements vont aussi tout particulièrement au Pr. **Fatima HACENE**, Dr. **Wafa ILES** et Dr. **Aicha BRIZINI**, sans oublier les ingénieurs biologistes en particulier **Imene SLAMA**, je voudrais vous dire un grand merci pour votre aide précieuse et votre accueil chaleureux.*

*Je tiens à remercier également M<sup>elle</sup>. **Chahrazed BENHAMOU** et M. **Amine DAHOU** pour leurs grandes disponibilités et leurs précieux soutiens.*

*Je voudrais remercier également toute l'équipe du Laboratoire LMBAFS, en particulier Mme. **Jahera HAMED** et Mme. **Latifa BENDJERRMIKH** pour leur aide, leur soutien et leur disponibilité.*

*Merci aussi à tous ceux sans citer de nom, par peur d'oublier quelqu'un avec qui j'ai travaillé durant la réalisation de ma thèse.*

**MOULAI HACENE Faïza**

## **Dédicace**

*Au terme de cette thèse, avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je voudrais la dédier à toutes les personnes qui me sont chères.*

*Que ce modeste travail soit, en retour, l'expression de tout le respect et l'amour que je vous porte !*

### ***A mes parents***

*Pour tous leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs soutiens, leurs précieux conseils et leurs prières durant toute ma vie.*

*Tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi !*

*Que dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

### ***A ma grande mère paternelle***

*A mes chères soeurs*

***Anissa et Sara***

*A mes chers frères*

***Ilyess et Fouad***

*Merci pour l'amour, la joie et l'humour que vous m'apportez !*

*Et surtout merci de m'avoir supporté durant toutes ces années de THESE !!!!*

*A mes amis(es)*

*A tous ceux qui de près ou de loin m'ont apporté leur encouragement et leur soutien*

***Faïza***

## Résumé

La cardamome, bien connue sous le nom de «reine des épices», appartient à la famille des Zingibéraceae, une plante vivace, *Elettaria cardamomum*. Cette étude a fait objet de déterminer la composition chimique, le pouvoir antimicrobien, l'effet antioxydant sur certains paramètres d'homéostasie et l'activité antioxydante chez les rats Wistar soumis au stress oxydatif induit par le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), l'activité anti-inflammatoire *in vivo* par deux modèles d'inflammation aigue induits par la carragénine, l'activité anti-ulcère *in vivo* contre l'ulcère gastrique induite par une solution d'HCl/éthanol ainsi que la cytotoxicité d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) sur six lignées cellulaires cancéreuses de poumons (A549), du sein (MCF7), du mélanome (SK-MEL-28 et B16F10) et du gliome (U373n et Hs683) à l'aide d'un test de microculture au tétrazolium (MTT).

L'effet antimicrobien de l'extrait EEC a été étudié sur dix souches pathogènes référencées. Un ensemble de rats mâles albinos Wistar a été soumis à un stress oxydatif avec du chlorure d'aluminium (34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> pendant 30 jours) et traité pendant 30 jours avec de l'extrait EEC afin de réparer les dommages oxydatifs de l'homéostasie et de l'état du foie, poumons, reins, et cœur. Un autre lot de rats Wistar a subi une inflammation du péritoine et de l'œdème de la patte par voie injectable de la carragénine (1%) après avoir été traités pendant 15 jours par l'extrait EEC en vue de restaurer les atteintes du péritoine et de la patte. Un dernier groupement de rats Wistar a été prétraité par l'extrait EEC avant d'être exposé à un ulcère gastrique par voie orale d'une solution HCl/éthanol (0.45M/60%) dans le but de rétablir l'ulcération d'estomac. L'activité cytotoxique de l'extrait de cardamome a été réalisée à l'aide de lignées de cellules cancéreuses humaines.

L'identification de l'extrait EEC par HPLC/UV a montré la présence de composés polyphénoliques ; l'acide rosmarinique, l'acide caféique, kaempférol, chrysine, galangine, pinocembrine, etc. Le potentiel inhibiteur de l'extrait EEC était variable par rapport aux CMI. Le chlorure d'aluminium, l'injection par la carragénine ainsi que la solution HCl/éthanol ont engendré une diminution très significative (P <0,05) des paramètres d'homéostasie et des enzymes antioxydantes érythrocytaires et une augmentation du malondialdéhyde et des biomarqueurs inflammatoires (PGE2 et TNF-α), cette toxicité a également entraîné des lésions cardiaques, pulmonaires, hépatiques, rénales, gastriques et spléniques. Les analyses biochimiques ont montré une diminution hautement significative (P<0.05) de ces paramètres et des biomarqueurs inflammatoires et une augmentation des enzymes du statut oxydatif

(superoxyde dismutase, catalase et le glutathion peroxydase) avec réparation des dommages lésionnels d'organes. L'analyse de la cytotoxicité, a montré que l'extrait EEC présentait une faible action cytotoxique sur les cellules de gliome que sur les cellules de mélonoma. La cytotoxicité de l'extrait de cardamome s'est avérée plus forte sur la cellule de mélanome B16F10 et SKMEL28 que sur les autres lignées cellulaires testées, avec des valeurs de CE<sub>50</sub> plus élevées de 0,4 et 4,2 µg/mL.

Les résultats confirment que l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* présente une efficacité sur les microorganismes pathogènes, le stress oxydatif, l'inflammation, l'ulcère gastrique et les lignées cellulaires cancéreuses.

**Mots clés :** *Elettaria cardamomum*, HPLC/UV, activité antimicrobienne, stress oxydant, inflammation, ulcère gastrique, cytotoxicité.

## Abstract

Cardamom, popularly known as the “queen of spices”, belongs to the Zingiberaceae family, a perennial plant, *Elettaria cardamomum*. The purpose of this study was to determine the chemical composition, the antimicrobial power, the antioxidant effect on certain parameters of homeostasis and the antioxidant activity in Wistar rats subjected to oxidative stress induced by aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ ), *in vivo* anti-inflammatory activity by two models of acute inflammation induced by carrageenan, the *in vivo* anti-ulcer activity against gastric ulcer induced by an HCl/ethanol solution as well as the cytotoxicity of extract ethanolic of *Elettaria cardamomum* (EEC) on six cancer cell lines of lungs (A549), breast (MCF7), melanoma (SK-MEL-28 and B16F10) and glioma (U373n and Hs683) using a tetrazolium microculture test (MTT).

The antimicrobial effect of the EEC extract has been studied on ten listed pathogenic strains. A set of male Wistar albino rats were oxidatively stressed with aluminum chloride (34 mg/kg  $\text{AlCl}_3$  for 30 days) and treated for 30 days with EEC extract to repair oxidative damage of homeostasis and the condition of the liver, lungs, kidneys, and heart. Another batch of Wistar rats suffered inflammation of the peritoneum and paw edema by injectable carrageenan (1%) after being treated for 15 days with EEC extract to restore damage to the peritoneum and paw. A last group of Wistar rats was pretreated with EEC extract before being exposed to a gastric ulcer orally with HCl/ethanol solution (0.45M/60%) in order to restore the ulceration of stomach. The cytotoxic activity of cardamom extract has been achieved using human cancer cell lines.

Identification of the EEC extract by HPLC/UV showed the presence of polyphenolic compounds; rosmarinic acid, caffeic acid, kaempferol, chrysin, galangin, pinocembrin, etc. The inhibitory potential of the EEC extract was variable compared to the MIC. Aluminum chloride, injection with carrageenan as well as HCl/ethanol solution produced a very significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the parameters of homeostasis and erythrocyte antioxidant enzymes and an increase in malondialdehyde and biomarkers. Inflammatory (PGE2 and  $\text{TNF-}\alpha$ ), this toxicity has also caused cardiac, pulmonary, hepatic, renal, gastric and splenic lesions. Biochemical analyzes showed a highly significant decrease ( $P < 0.05$ ) in these parameters and in inflammatory biomarkers and an increase in enzymes of oxidative status (superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase) with repair of lesional damage to organs. The cytotoxicity analysis showed that the EEC extract exhibited a weak cytotoxic action on glioma cells than on melanoma cells. The cytotoxicity of cardamom extract was found to be

greater on the B16F10 and SKMEL28 melanoma cell than on the other cell lines tested, with higher IC<sub>50</sub> values of 0.4 and 4.2 µg/mL.

The results confirm that the ethanolic extract of *Elettaria cardamomum* has efficacy against pathogenic microorganisms, oxidative stress, inflammation, gastric ulcer and cancer cell lines.

Keywords: *Elettaria cardamomum*, HPLC/UV, antimicrobial activity, oxidative stress, inflammation, gastric ulcer, cytotoxicity.

## المخلص

ينتمي الهيل ، المعروف باسم "ملكة التوابل" ، إلى عائلة Zingiberaceae ، وهي نبات معمر ، *Elettaria Cardamomum*. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد التركيب الكيميائي ، والقدرة المضادة للميكروبات ، وتأثير مضادات الأكسدة على بعض معايير التوازن والنشاط المضاد للأكسدة في فئران ويستار المعرضة للإجهاد التأكسدي الناجم عن كلوريد الألومنيوم ( $AlCl_3$ ) ، ل " نشاط مضاد للالتهابات داخل الجسم بواسطة نموذجين من الالتهاب الحاد الناجم عن الكاراجينان وكذلك النشاط المضاد للقرحة داخل الجسم الحي للمستخلص الإيثانولي من (*Elettaria Cardamomum*) (EEC) ضد قرحة المعدة الناتجة عن محلول حمض الهيدروكلوريك / الإيثانول بالإضافة إلى السمية الخلوية للمستخلص الإيثانولي من *Elettaria Cardamomum* (EEC) في ستة خطوط من الخلايا السرطانية في الرنتين (A549) والثدي (MCF7) وسرطان الجلد (SK-MEL-28) و (B16F10) والورم الدبقي (U373n) و (Hs683) باستخدام اختبار التترازوليوم الصغير (MTT) .

تمت دراسة التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص EEC على عشر سلالات ممرضة مدرجة. مجموعة من ذكور فئران Wistar البيضاء تم إجهادها أكسدة بكلوريد الألومنيوم (34 مجم / كجم  $AlCl_3$  لمدة 30 يوماً) وعولجت لمدة 30 يوماً بمستخلص EEC لإصلاح الضرر التأكسدي لـ التوازن وحالة الكبد والرنتين والكلية والقلب. عانت دفعة أخرى من فئران ويستار من التهاب الغشاء البريتوني ووذمة المخلب بواسطة الكاراجينان عن طريق الحقن (1٪) بعد أن عولجت لمدة 15 يوماً بمستخلص EEC لاستعادة الضرر الذي لحق بالبريتوني. ومخلب. تمت معالجة مجموعة أخيرة من فئران Wistar بمستخلص EEC قبل تعرضها لقرحة في المعدة عن طريق الفم من محلول (0.45) HCl / ethanol م / 60٪ من أجل استعادة تفرغ المعدة. تم تحقيق النشاط السام للخلايا لمستخلص الهيل باستخدام خطوط الخلايا السرطانية البشرية.

أظهر تحديد مستخلص EEC بواسطة HPLC وجود مركبات بوليفينول ؛ حمض روزمارينيك ، حمض الكافيك ، كايمبرول ، كريسين ، جالانجين ، بينوسيمبرين ، إلخ. كانت القدرة المثبطة لمستخلص EEC متغيرة مقارنةً بـ MIC. أنتج كلوريد الألومنيوم ، والحقن مع الكاراجينان وكذلك محلول حمض الهيدروكلوريك / الإيثانول انخفاضاً كبيراً جداً ( $P < 0.05$ ) في معاملات التوازن والإنزيمات المضادة للأكسدة في كريات الدم الحمراء وزيادة في مالونديالدهيد والعلامات الحيوية. التهابات (PGE2 و  $TNF-\alpha$ ) ، وقد أدت هذه السمية أيضاً إلى آفات قلبية ورئوية وكبدية وكلوية ومعدة وطحال. أظهرت التحاليل البيوكيميائية انخفاضاً معنوياً ( $p < 0.05$ ) في هذه المعلمات والمؤشرات الحيوية الالتهابية وزيادة في إنزيمات الحالة المؤكسدة (SOD و CAT و GSH-Px) مع إصلاح تلف الأعضاء. أظهر تحليل السمية الخلوية أن مستخلص EEC أظهر تأثيراً ساماً ضعيفاً للخلايا على خلايا الورم الدبقي مقارنةً بخلايا الميلونوما. تم العثور على السمية الخلوية لمستخلص الهيل على خلايا سرطان الجلد B16F10 و SKMEL28 أكثر من سلالات الخلايا الأخرى التي تم اختبارها ، مع قيم IC أعلى تبلغ 0.4 و 4.2 ميكروغرام / مل.

تؤكد النتائج أن المستخلص الإيثانولي من EEC له فعالية وقائية وعلاجية ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض والإجهاد التأكسدي والالتهابات وقرحة المعدة وخطوط الخلايا السرطانية.

**الكلمات المفتاحية:** *Elettaria Cardamomum* ، HPLC ، تأثير مضاد للميكروبات ، الإجهاد التأكسدي ، التهاب ، قرحة معدية، السمية الخلوية.

### Liste des publications

- **Faiza MOULAI-HACENE,** Mokhtaria Yasmina BOUFADI, Soumia KEDDARI, Abdelkader HOMRANI (2020). Chemical composition and antimicrobial properties of *Elettaria cardamomum* extract. Pharmacognosy journal.
- Mokhtaria Yasmina BOUFADI, Soumia KEDDARI, **Faiza MOULAI-HACENE,** Sara CHAA (2020). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Salvia officinalis* extract from Algeria. Pharmacognosy journal. Article accepté.
- Sara CHAA, Mokhtaria Yasmina BOUFADI, **Faiza MOULAI-HACENE** (2020). Protective effects of Tizirt propolis on epirubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. Pharmaceutical sciences. Article soumis.

### Liste des communications

- Aicha Dif, **Faiza Moulai-Hacene,** Mokhtaria Yasmina Boufadi, Ammam Abdelkader, Adli Djallel Eddine Houari, Kahloula Khaled & Slimani Miloud (2018). Contribution à l'étude des effets antipyrétiques et analgésiques des huiles essentielles d'*Ammodicus leucotricus* (Nessoufa). Journée d'étude- Les Plantes au Service de L'homme, Université de Saida, 26 Avril 2018, Saida, Algérie.
- **Faiza Moulai-Hacene** & Mokhtaria Yasmina Boufadi (2018). Contribution à l'étude de la toxicité par l'aluminium chez les rats Wistar. 4<sup>ème</sup> Journée Scientifique des Géosciences de l'Environnement (JSGE-4), Université de Saida, 26 Avril 2018, Saida, Algérie.
- **Faiza Moulai-Hacene,** Mokhtaria Yasmina Boufadi & Abdelkader Homrani (2019). Activité antioxydante d'*Elettaria cardamomum* chez les rats Wistar. Les IX<sup>èmes</sup> Journées Nationales des Sciences de la Nature et de la Vie. 6 et 7 Novembre 2019, Mostaganem, Algérie.
- **Faiza Moulai-Hacene,** Mokhtaria Yasmina Boufadi & Mohamed Hachem (2020). Exploration de l'effet de l'extrait d'*Elettaria cardamomum* sur l'inflammation induite par la carragénine chez les rats Wistar. 1<sup>st</sup> International Symposium Environment & Sustainable Development. 10-11 February 2020, Relizane, Algeria.

- Mokhtaria Yasmina Boufadi & **Faiza Moulai-Hacene** (2020). Les propriétés bioactives et la biodisponibilité de la propolis. 1<sup>st</sup> International Symposium Environment & Sustainable Development. 10-11 February 2020, Relizane, Algeria.

## **Liste des tableaux et figures**

### **Partie bibliographique**

#### **Liste des tableaux**

	<b>Page</b>
<b>Tab. 1</b> Composition chimique de la cardamome ( <a href="#">Sharma et al., 2011</a> ).	<b>7</b>

#### **Liste des figures**

<b>Fig. 1</b> Production et culture de la cardamome en Inde ( <a href="#">MCIGI, 2017</a> ).	<b>4</b>
<b>Fig. 2</b> La plante d' <i>Elettaria cardamomum</i> ( <a href="#">Escartin et al., 2010</a> , <a href="#">Siyanna, 2017</a> ).	<b>6</b>
<b>Fig. 3</b> Déséquilibre de la balance des espèces prooxydantes et des systèmes de défense antioxydante ( <a href="#">Belaïch et Boujraf, 2016</a> ).	<b>14</b>
<b>Fig. 4</b> Principales sources des radicaux libres ( <a href="#">Defraigne et Pincimail et al., 2008</a> ).	<b>15</b>
<b>Fig. 5</b> La réponse inflammatoire ( <a href="#">Harou et Yessad, 2017</a> ).	<b>19</b>
<b>Fig. 6</b> Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative ( <a href="#">Mansour, 2015</a> ).	<b>22</b>
<b>Fig. 7</b> Représentation de l'ulcère gastroduodéal ( <a href="#">Lacour et Belon, 2015</a> ).	<b>27</b>
<b>Fig. 8</b> Mode d'action des anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) ( <a href="#">Lamarque, 2001</a> ).	<b>29</b>

## **Partie expérimentale**

### **Liste des tableaux**

		<b>Page</b>
<b>Tab.2</b>	Composition d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> (EEC) par HPLC/UV (mg/g).	<b>60</b>
<b>Tab. 3</b>	Teneur en composés phénoliques et flavonoïques, et activité antioxydante de l'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> .	<b>63</b>
<b>Tab.4</b>	Diamètres des zones d'inhibitions de dix souches pathogènes cultivées en présence de quatre concentrations (12.5, 25, 50 and 100 µg/mL) d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> .	<b>133</b>
<b>Tab. 5</b>	Concentration minimale inhibitrice (CMI) en mg d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> (mg/mL) des souches pathogènes.	<b>135</b>
<b>Tab. 6</b>	Cytotoxicité de l'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> contre différentes cellules (les valeurs CE <sub>50</sub> sont en µg/mL).	<b>136</b>

### **Liste des figures**

<b>Fig. 9</b>	Protocole d'extraction d' <i>E. Cardamomum</i> <a href="#">Masoumi-Ardakani et al. (2017)</a> .	<b>34</b>
<b>Fig. 10</b>	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH ( <a href="#">Mohammedi, 2013</a> ).	<b>38</b>
<b>Fig. 11</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	<b>40</b>
<b>Fig. 12</b>	Schéma illustratif du protocole expérimental de l'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur l'œdème de la patte.	<b>46</b>
<b>Fig. 13</b>	Schéma descriptif du protocole expérimental de l'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur la péritonite induite par la carragénine.	<b>48</b>
<b>Fig. 14</b>	Schéma descriptif du protocole expérimental de l'activité anti-ulcère de la cardamome.	<b>52</b>
<b>Fig. 15</b>	Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> à une longueur d'onde de 270 nm.	<b>59</b>
<b>Fig. 16</b>	Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> à une longueur d'onde de 320 nm.	<b>59</b>

- Fig. 17** Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$  écart type (n = 3). **63**
- Fig. 18** Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations (100, 250, 500, et 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$  écart type (n = 3). **65**
- Fig. 19** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **67**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .
- Fig. 20** Albumine (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **68**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .
- Fig. 21** Bilirubine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **69**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .
- Fig. 22** Les teneurs sériques de l'alanine aminotransférase ALAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **70**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .
- Fig. 23** Les teneurs sériques de l'aspartate aminotransférase ASAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **71**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .
- Fig. 24** Concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **72**
- G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC

et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 25** Concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n =6). **73**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 26** Cholestérolémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **74**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 27** Triglycéridémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **75**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 28** Les teneurs en malondialdéhyde MDA (mmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **76**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 29** Les teneurs en Superoxyde dismutase (SOD) (U/mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **78**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 30** Les teneurs en catalase (CAT) (U/mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **78**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 31** Les teneurs en glutathion peroxydase (GSH-Px) (U/g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **79**

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

- Fig. 32** Coupes histologique du cœur du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j) ; c (G3) : 200 mg/kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j). **81**
- Fig. 33** Coupes histologique des poumons du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j) ; c (G3) : 200 mg/kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j). **83**
- Fig. 34** Coupes histologique du foie du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j) ; c (G3) : 200 mg/kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j). **84**
- Fig. 35** Coupes histologique des reins du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j) ; c (G3) : 200 mg/kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j). **86**
- Fig. 36** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **88**
- G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).
- Fig. 37** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **89**
- G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µl de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).
- Fig. 38** Teneurs sériques en protéines totales (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **91**
- G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).
- Fig. 39** Teneurs sériques en protéines totales (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **92**
- G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).
- Fig. 40** Teneur de l'albumine (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **94**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).

**Fig. 41** Teneur de l'albumine (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **95**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).

**Fig. 42** Taux sériques de fibrinogène (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **96**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).

**Fig. 43** Taux sériques de fibrinogène (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **97**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).

**Fig. 44** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (nmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **98**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).

**Fig. 45** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (mmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **99**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).

**Fig. 46** Taux du superoxyde dismutase (SOD) (U/mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **100**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).

**Fig. 47** Taux du catalase (CAT) (U/mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6). **101**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d) (1 j) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d).

**Fig. 48** Taux du glutathion peroxydase (GSH-Px) (U/g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **102**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d).

**Fig. 49** Taux du superoxyde dismutase (SOD) (U/cg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **103**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p).

**Fig. 50** Taux du catalase (CAT) (U/mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6). **104**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 jours) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p).

**Fig. 51** Taux du glutathion peroxydase (GSH-Px) (U/g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **105**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.p).

**Fig. 52** Teneurs en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6). **107**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 $\mu$ L de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d); G5: 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (i.d).

**Fig. 53** Teneurs en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations **108**

±SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5: 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).

**Fig. 54** Teneurs en Facteur de nécrose tumorale TNF- $\alpha$  dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **110**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.d); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.d).

**Fig. 55** Teneurs en TNF- $\alpha$  dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **111**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine (i.p); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 jours) puis 200 µL de carragénine (i.p); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (i.p).

**Fig. 56** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (% AUG) des rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ± SEM (n = 6). **114**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200µL de carragénine; G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine.

**Fig. 57** Pourcentage de l'inhibition du volume de la patte (% INH) des rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ± SEM (n = 6). **116**

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine; G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine.

**Fig. 58** Coupes histologique de pattes du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 jours) puis 200 µL de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; (e) : G4 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine. **118**

**Fig. 59** Coupes histologique de foie du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 jours) puis 200 µL de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; (e) : G4 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine. **120**

**Fig. 60** Coupes histologique des reins du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; **122**

(e) : G4 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine.

- Fig. 61** Superficie de lésion de la muqueuse gastrique (mm<sup>2</sup>) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **123**

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

- Fig. 62** Pourcentage de lésion de la muqueuse gastrique (%) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **125**

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

- Fig. 63** Pourcentage d'inhibition de lésion de la muqueuse gastrique (%) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **127**

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

- Fig. 64** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (nmol/mL) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6). **129**

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

- Fig. 65** Coupes histologique d'estomac du groupe : (a) : G1, témoin ; (b,c) : G2, 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; (d) : G3, 200 mg/kg d'EEC (5 j) ; (e) : G4, 200 mg/kg d'EEC (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; (f) : G5, 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j). **131**

- Fig. 66** Effets cytotoxiques de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (0,5-100 µg / mL) sur la croissance des lignées cellulaires (A549, SKMEL, MCF7, U373 new, Hs683 et HCT116) après 72 h d'incubation évaluées par la technique colorimétrique MTT. **137**

Les données représentent la valeur moyenne de deux expériences indépendantes réalisées en triple. Chaque condition expérimentale est comparée à la valeur de contrôle. (NS: p > 0,05; \*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01; \*\*\*: p < 0,001).

## Liste des abréviations

**% AUG** : pourcentage d'augmentation.

**% INH** : pourcentage d'inhibition.

**µg** : microgramme.

**µM** : micro-molaire.

**ADN**: acide désoxyribonucléique.

**AINS**: anti-inflammatoire non-stéroïdien.

**ALAT**: alanine aminotransférase.

**ASAT**: aspartate aminotransférase.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH**: éthanol.

**Cal**: calories.

**CAT**: catalase.

**CE<sub>50</sub>**: concentration effective.

**CMI**: concentration minimale inhibitrice.

**Cong**: congestion.

**COX-2** : cyclooxygénase 2.

**DS** : dilatation des sinusoides.

**DVC** : dilatation centro lobulaire.

**EAG** : équivalent d'acide gallique.

**EDTA** : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique.

**EEC** : extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*

**EQ** : équivalent de quercétine.

**ERN** : espèces réactives de l'azote

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

**GSH-Px** : glutathion peroxydase.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique.

**HCl** : Chlorure d'hydrogène.

**HK**: Hexokinase.

**HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

**IIL** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire.

**IL** : infiltrat lymphocytaire.

**i-NOS** : oxyde nitrique synthase.

**LDH** : lactate déshydrogénase.

**LDL** : lipoprotéines de basse densité.

**MDA** : malondialdéhyde.

**NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.

**NAD** : nicotinamide adénine dinucléotide.

**NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduit.

**NADPH** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**NF** : nécrose focalisée.

**NF-KB**: nuclear factor-kappa B.

**nm**: nanomètre.

**nmol**: nanomole.

**NO**: oxydenitrique.

**O<sub>2</sub>**: dioxygène.

**OH:** hydroxyde.

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé.

**P/V:** poids / volume.

**PBS:** Phosphate Buffered Saline.

**PGE2 :** prostaglandine E2

**PHN :** parenchyme hépatique normale.

**PN:** polynucléaire.

**RL:** radicaux libres.

**rpm:** Rotation Par Minute.

**RSA :** activité anti-radicalaire

**SAB:** Sérum Albumine Bovine.

**SOD:** superoxyde dismutase.

**TBA :** acide thiobarbiturique.

**TFA:** acide trifluoroacétique.

**TG:** triglycérides.

**TGO:** Transaminase Glutamate Oxaloacétate.

**TGP:** Transaminase Glutamate Pyruvate.

**TNF- $\alpha$ :** Tumor necrosis factor.

**tr/min :** tour /minute

**UFC:** unité formant colonie.

**V/V:** volume / volume.

**VC :** veine centro-lobulaire.

## Table des matières

« Composition chimique et exploration des activités biologiques d'*Elettaria cardamomum*  
chez les rats Wistar »

Avant propos

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des tableaux et figures

Liste des abréviations

Table des matières

### Partie bibliographique

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b><u>Chapitre I: La cardamome : généralités et intérêts thérapeutiques</u></b>	<b>4</b>
<b>I.1.</b> Historique	<b>4</b>
<b>I.2.</b> Définition	<b>5</b>
<b>I.3.</b> Description botanique	<b>5</b>
<b>I.4.</b> Classification d' <i>Elettaria cardamomum</i> dans le règne végétal	<b>6</b>
<b>I.4.1.</b> Compositions Chimiques	<b>7</b>
<b>I.5.</b> L'utilisation de la cardamome	<b>7</b>
<b>I.5.1.</b> Phytothérapie	<b>8</b>
<b>I.5.2.</b> Culinaire	<b>8</b>
<b>I.6.</b> Les bénéfices thérapeutiques de la cardamome	<b>8</b>
<b>I.6.1.</b> Activité antioxydante	<b>9</b>
<b>I.6.2.</b> Activité anti-inflammatoire	<b>9</b>
<b>I.6.3.</b> Activité immuno-modulatrice	<b>10</b>
<b>I.6.4.</b> Activité anticancéreuse	<b>10</b>
<b>I.6.5.</b> Activité antibactérienne	<b>11</b>
<b>I.6.6.</b> Activité insecticide	<b>11</b>
<b>I.6.7.</b> Activité anti-ulcéreuse	<b>12</b>

I.6.8.	Activité cardio-adaptogène	12
I.6.10.	Un effet sur le cœur	13
I.7.	Le stress oxydant	13
I.7.1.	Les Radicaux libres	14
I.7.2.	Rôle physiologique des radicaux libres	14
I.7.3.	L'origine du stress oxydatif	14
I.7.4.	Les conséquences du stress oxydatif	15
I.7.4.1.	Les dommages oxydatifs à l'ADN	15
I.7.4.2.	Les dommages oxydatifs aux Lipides	15
I.7.4.3.	Les dommages oxydatifs aux protéines	16
I.7.5.	Les maladies liées au stress oxydatif	16
I.7.6.	Les systèmes de défense	16
I.7.6.1.	Antioxydants	17
I.7.6.2.	Polyphénols	17
I.8.	L'inflammation	17
I.8.1.	L'inflammation aiguë	20
I.8.1.1.	Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)	20
I.8.1.2.	Phase cellulaire	22
I.8.1.3.	Phase de résolution	22
I.8.2.	L'inflammation chronique	23
I.8.3.	Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire	24
I.8.3.1.	Les polynucléaires neutrophiles (PNN)	24
I.8.3.2.	Les mastocytes	24
I.8.3.3.	Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires	24
I.8.3.4.	Les plaquettes sanguines	24
I.8.3.5.	Les Polynucléaire basophiles	24
I.8.3.6.	Les polynucléaires éosinophiles	25
I.8.3.7.	Les fibroblastes	25
I.8.3.8.	Les lymphocytes	25
I.8.3.9.	Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre	25
I.8.4.	Les médiateurs de l'inflammation	26
I.9.	L'ulcération	26

I.9.1.	L'ulcère gastrique	26
I.9.2.	Physiopathologie	27
I.9.3.	Les facteurs d'agression de la muqueuse gastrique	27
I.9.3.1.	les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	27
I.9.4.	Phytothérapie de l'ulcère gastrique	29
I.9.5.	Activité anti-ulcéreuse des polyphénols de plantes	29
I.10.	Le cancer et la cytotoxicité	30
I.10.1.	Le cancer et la cardamome	31
I.10.2.	La cytotoxicité et la cardamome	32

## **Partie expérimentale**

<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	<b>34</b>	
II.1.	Le matériel végétal	34
II.2.	Extraction d' <i>Elettaria cardamomum</i>	34
II.3.	Composition chimique de l'extrait d' <i>E. Cardamomum</i> par HPLC/UV	34
II.4.	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	35
II.4.1.	Dosage des polyphénols totaux	35
II.4.2.	Dosage des flavonoïdes	36
II.4.3.	La peroxydation lipidique	36
II.4.4.	Mesure du pouvoir antioxydant par DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	37
II.5.	Etudes <i>in vivo</i> de quelques activités biologiques	38
II.5.1.	Animaux et conditions d'hébergement	38
II.6.	Activité antioxydante <i>in vivo</i> sur des rats Wistar	38
II.6.1.	Protocole de traitement des animaux	39
II.6.2.	Analyse des paramètres sériques	40
II.6.2.1.	Dosage du glucose	40
II.6.2.2.	Dosage de l'albumine	40
II.6.2.3.	Dosage de la bilirubine	40
II.6.2.4.	Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)	41
II.6.2.5.	Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)	41
II.6.2.6.	Dosage de l'urée	41

II.6.2.7.	Dosage de la créatinine	41
II.6.2.8.	Dosage du cholestérol total	42
II.6.2.9.	Dosage des triglycérides	42
II.6.3.	Détermination du statut antioxydant.	42
II.6.3.1.	Dosage du malonaldéhyde (MDA)	42
II.6.3.2.	Dosage l'activité enzymatique de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)	43
II.6.3.3.	Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)	43
II.6.3.4.	Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)	43
II.7.	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> sur des rats wistar	44
II.7.1.	L'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur l'œdème de la patte	44
II.7.2.	L'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur la péritonite induite par la carragénine	46
II.7.3.	Dosage des paramètres biochimiques	47
II.7.3.1.	Dosage de protéines totales	47
II.7.3.2.	Dosage de fibrinogène	47
II.7.4.	Détermination du statut antioxydant	48
II.7.5.	Dosage des bio-marqueurs inflammatoires	48
II.7.5.1.	Dosage de la prostaglandine E2	48
II.7.5.2.	Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ )	48
II.8.	Activité anti-ulcère de la cardamome	49
II.8.1.	Protocole de traitement des animaux	49
II.8.2.	Détermination du malonaldéhyde	50
II.9.	L'étude histopathologique	50
II.9.1.	Préparation des échantillons.	51
II.10.	Activité antimicrobienne <i>in vitro</i> de la cardamome	53
II.10.1.	Souches microbiennes et préparations de culture	53
II.10.2.	Méthodes de diffusion par disques	54
II.10.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	54
II.11.	Détermination de la cytotoxicité de l'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i>	54
II.11.1.	Les lignés cellulaires utilisées	54
II.11.2.	Evaluation de la toxicité	55

II.12.	Analyse statistique	55
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>		<b>59</b>
III.1.	Identification de la composition chimique de la cardamome par HPLC/UV	59
III.2.	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	61
III.2.1.	Teneur en polyphénols totaux d'EEC	62
III.2.2.	Teneur en flavonoïdes d'EEC	62
III.2.3.	L'inhibition de la lipoperoxydation	63
III.2.4.	Piégeage du radical DPPH•	65
III.3.	Activité antioxydante <i>in vivo</i> sur des rats Wistar	67
III.3.1.	Stress oxydatif et paramètres sériques	67
III.3.1.1	Glycémie	67
III.3.1.2	L'albumine	68
III.3.1.3	Bilirubine	69
III.3.1.4	L'alanine aminotransférase (ALAT)	70
III.3.1.5	L'aspartate aminotransférase (ASAT)	72
III.3.1.6	L'urémie	73
III.3.1.7	Créatinémie	74
III.3.1.8	Cholestérolémie	75
III.3.1.9	Triglycéridémie	76
III.3.2.	Statut antioxydant	77
III.3.2.1	Taux du malondialdéhyde (MDA)	77
III.3.2.2	Taux du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)	78
III.3.3.	L'étude histologique	81
III.3.3.1	Histopathologie du cœur	81
III.3.3.2	Histopathologie du poumon	83
III.3.3.3	Histopathologie du foie	83
III.3.3.4	Histopathologie des reins	86
III.4.	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> de la cardamome sur l'œdème de la patte et la péritonite	88
III.4.1.	L'inflammation et paramètres sériques	88
III.4.1.1	Glycémie	88
III.4.1.2	Protéines totales	91

III.4.1.3	Albumine	94
III.4.1.4	Fibrinogène	97
III.4.2.	Statut antioxydant	98
III.4.2.1	Taux du malondialdéhyde (MDA)	98
III.4.2.2	Taux du superoxyde dismutase (SOD), de catalase (CAT) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)	101
III.4.3.	Biomarqueurs de l'inflammation	107
III.4.3.1	Taux de prostaglandine E2 (PGE2)	107
III.4.3.2	Détermination du Facteur de nécrose tumorale TNF- $\alpha$	111
III.4.4.	Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG)	114
III.4.5.	Le pourcentage d'inhibition du volume de la patte (% INH)	116
III.4.6.	L'étude histologique	118
III.4.6.1	Histopathologie des pattes	118
III.4.6.2	Histopathologie du foie	120
III.4.6.3	Histopathologie des reins	122
III.5.	Activité anti-ulcère <i>in vivo</i> de la cardamome sur l'ulcère gastrique	124
III.5.1.	L'ulcère et la muqueuse gastrique	124
III.5.1.1	Superficie de lésion de la muqueuse gastrique (mm <sup>2</sup> )	124
III.5.1.2	Le pourcentage de lésion de la muqueuse gastrique (%)	125
III.5.1.3	Pourcentage d'inhibition de lésion de la muqueuse gastrique (% INH)	127
III. 5.2.	Taux du malondialdéhyde (MDA)	129
III.5.3.	L'étude histologique	131
III.5.3.1	Histopathologie de l'estomac	131
III.6.	Activité antimicrobienne	133
III.6.1.	Activité antimicrobienne par diffusion de disques	133
III.6.2.	Concentration minimale inhibitrice (CMI)	135
III.7.	Cytotoxicité de l'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> vis-à-vis des cellules cancéreuses	137
III.7.1.	Détermination de la CE <sub>50</sub> de l'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> sur des lignées cellulaires cancéreuses	137
III.7.2.	La viabilité des cellules cancéreuses	138
	Conclusion et perspectives	139
	Références bibliographiques	

Annexes

Publication

## Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaires (OMS, 2003). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public (Carillon, 2009).

D'après l'Agence Américaine pour le Développement International, l'importance des plantes médicinales ne cesse d'augmenter en relation, d'une part, avec la forte augmentation de la demande mondiale enregistrée ces dernières décennies pour les plantes médicinales et leurs produits dérivés et, d'autre part, avec le nombre croissant d'utilisateurs et la diversité des domaines de leur valorisation (AADI, 2008).

Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (El Hilah et al., 2015). Il est estimé qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes sont dérivés, directement ou indirectement, à partir de plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux connaissances traditionnelles (Selles, 2012).

Les effets biologiques d'une plante viendraient de l'action de l'ensemble des principes actifs contenus dans la plante dans sa globalité et non des effets isolés de chaque molécule (Morel, 2008). Bien que chaque principe actif ait un tropisme différent pour un organe ou un système, c'est la totalité des principes actifs au sein de cette plante qui lui conférerait son activité et son efficacité clinique (Bone et al., 2013).

Dans le système de médecine traditionnelle, les fruits, les graines et l'huile sont principalement utilisés pour une cause pharmaceutique contre les infections des dents et des gencives, les carminatives, la constipation, l'épilepsie, les coliques, la tuberculose pulmonaire, l'inflammation oculaire, l'anorexie, la toux et le rhume, la bronchite et traitements de l'asthme, intoxication par les serpents et les scorpions (Jamal et al., 2006 ; Sharma et al., 2011).

Pour s'attaquer et faire face à ce désordre pathologique, il est urgent de rechercher des thérapies alternatives sûres (Jamil et al., 2015). Dans ce cadre, le recours à la phytothérapie est à priori une opportunité intéressante à l'utilisation de molécules de synthèse de par la relative sécurité d'emploi que garantit l'utilisation de plantes consommées depuis longtemps (Bruneton, 2009).

A cet égard, certaines de ces plantes, est celle d'*Elettaria cardamomum* est une plante vivace (famille: Zingiberaceae) cultivée dans le monde entier avec une latitude élevée dans une zone

humide (Elizabeth *et al.*, 2006). L'identification des variétés de cardamome est basée sur leurs caractéristiques morphologiques, telles que le numéro de la panicule, la forme et la taille du fruit ainsi que les informations préliminaires collectées auprès des producteurs locaux (Anwar *et al.*, 2016).

En raison des conditions climatiques, les variétés d'*E. Cardamomum* sont variées en biomasse, le rendement et l'arôme des fruits ont entraîné une variation du pourcentage de teneur en huile des métabolites (He *et al.*, 2018). La cardamome, originaire d'Asie du Sud-Est, est traditionnellement utilisée comme une épice de cuisine. L'huile essentielle et l'extrait de cardamome sont également traditionnellement connus pour être bénéfiques pour le système digestif de diverses manières (Han *et al.*, 2017).

L'*Elettaria cardamomum* possède une vaste gamme de composés bioactifs (Padmakumari Amma *et al.*, 2010). Dans une étude récente, la cardamome contient des métabolites actifs, à savoir des monoterpènes (acétate d' $\alpha$ -terpinyle et 1,8-cinéole), ainsi que d'autres constituants actifs voire, du linalol, de l' $\alpha$ -pinène et du  $\beta$ -pinène dans l'huile essentielle d'*E. Cardamomum* (Alam *et al.*, 2019). Des études cliniques ont montré l'efficacité et l'innocuité d'une moindre supplémentation en cardamome sur le profil lipidique, le contrôle glycémique et le stress oxydatif chez un patient atteint de diabète sucré de type II (Aghasi *et al.*, 2018).

L'*E. cardamomum* possède diverses activités pharmacologiques telles que hypotenseur, diurétique et sédatif (Dhuley, 1999 ; Gilani *et al.*, 2008). Les activités antimicrobiennes et antifongiques ont également été observées avec les graines et les gousses de cardamome (Singh *et al.*, 2008 ; Kapoor *et al.*, 2008). Récemment, il a également été rapporté que l'huile essentielle d'*E. cardamomum* est efficace contre les bactéries (Gram positif, Gram négatif) et les champignons (Mohamed *et al.*, 2016 ; Abdullah *et al.*, 2017).

L'effet antioxydant est révélé par l'administration de la cardamome qui a induit à la baisse des cytokines telles que COX-2, IL-6 et TNF- $\alpha$  et inhibe la génération de NO médiée par l'i-NOS et également présente des effets antioxydants en restaurant les niveaux de SOD, de catalase et de GSH (Kandikattu *et al.*, 2017). Dans une autre étude (Rahman *et al.*, 2017), la supplémentation de la cardamome en poudre prévient l'obésité, améliore l'intolérance au glucose et le stress oxydatif dans le foie. De plus, (Bhat *et al.*, 2015), la cardamome a une efficacité comparable à la pioglitazone dans la prévention de l'hépatomégalie, de la dyslipidémie et de l'hyperglycémie à jeun.

En outre, l'*E. cardamomum* améliore certains paramètres de l'inflammation et du stress oxydatif chez les sujets prédiabétiques (Kazemi et al., 2017). Par conséquent, elle pourrait être utile pour réduire les complications associées à l'inflammation et au stress oxydatif chez ces patients.

Ainsi, la cardamome inhibe l'agrégation plaquettaire (Suneetha et al., 2005). Les propriétés antiulcérogènes et gastroprotectrices ont également été rapportées (Jafri et al., 2001 ; Mutmainah et al., 2004). Les extraits de cardamome inhibent également le cancer du côlon et le cancer de la peau avec une réduction de l'expression de la COX-2, de l'i-NOS, du facteur érythroïde-2 et du NF-kB et améliorent l'activité antioxydante (Sengupta et al., 2005 ; Qiblawi et al., 2015). En outre, la cardamome présente des qualités chimiopréventives et anticancéreuses, qui ont été suggérées pour réduire considérablement le diamètre et le poids des tumeurs et des papillomes rapportées par (Vutakuri et al., 2018).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés de déterminer la composition chimique, évaluer le potentiel antioxydant *in vitro* et *in vivo* contre la toxicité induite par l'AlCl<sub>3</sub>, anti-inflammatoire, anti-ulcère, antimicrobien et cytotoxique contre les cellules cancéreuses d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*.

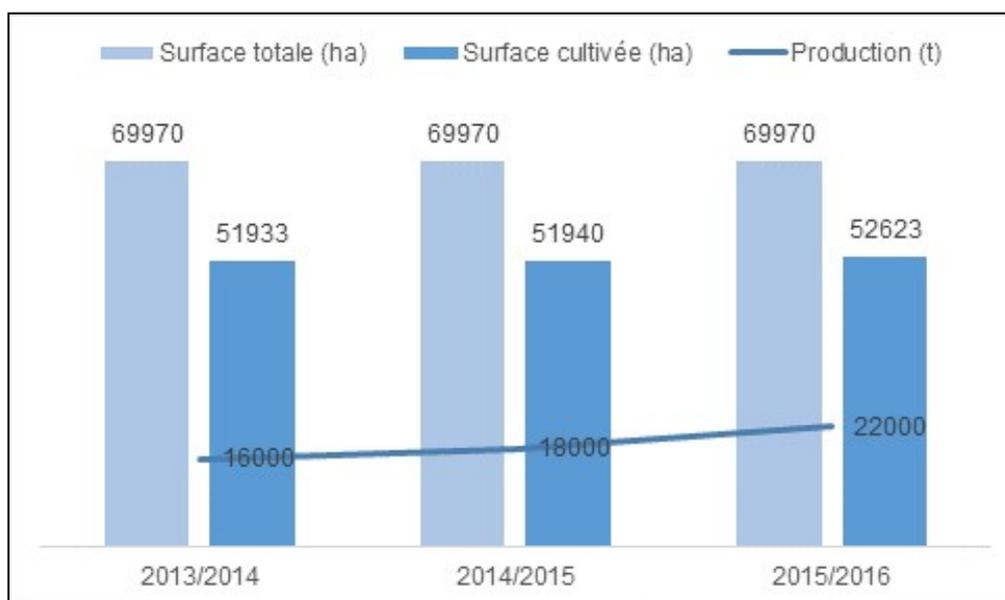
Ce manuscrit comporte le premier chapitre qu'est un recueil bibliographique avec une description de la cardamome et les pathologies, le second chapitre aborde le matériel et les méthodes utilisées au cours de l'expérimentation et en dernier lieu le troisième chapitre est consacré à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus suivis d'une conclusion avec des perspectives.

## **Chapitre I: La cardamome : généralités et intérêts thérapeutiques**

### **I.1. Historique**

La cardamome est souvent qualifiée comme la reine d'épices à cause de son arôme très agréable (kaushik *et al.*, 2010 ; Al-Maliki, 2011) et son goût et dans le passé c'était suivait seulement pour le poivre noir dans l'importance. La cardamome est toujours un du plus coûteux d'épices dans le marché mondial classant après le safran et la vanille (Gautam *et al.*, 2016). La cardamome est un type spécial de plante de récolte qui a une distribution naturelle très limitée; son autochtone à la maison est les forêts à feuilles persistantes moites des Ghats Occidentaux de l'Inde du sud (connu comme la cardamome des Collines) (Botineau, 2010).

La cardamome qui se vend sur le marché est le fruit séché de la plante de cardamome. Jusqu'au début du 20<sup>ème</sup> siècle, les fruits de cardamome ont été rassemblés des populations naturelles abondantes d'usines de cardamome distribuées dans les régions forestières des élévations plus hautes des Ghats Occidentaux (Bilimoff, 2011). Aujourd'hui la production mondiale est partagée par l'Inde (fig. 1), le Guatemala et le Sri Lanka, bien que les quantités négligeables soient produites dans le Salvador, le Nicaragua, le Costa Rica, la Tanzanie, le Viêt-Nam, le Laos, la Thaïlande et Nouveau Guinée Papua (MCIGI, 2017).



**Figure 1** : Production et culture de la cardamome en Inde (MCIGI, 2017)

Le mot cardamome a passé dans toutes les langues de l'Europe. Dans le passé, cardamome a déclenché des événements historiques. Les épices indiennes dont la cardamome est la Reine, ont été la raison principale pourquoi Colomb d'Espagne a décidé de découvrir l'Inde et fini par découvrir l'Amérique (Moro-Buronzio *et al.*, 2013). La cardamome indienne, ainsi que d'autres épices a provoqué le peuple tout entier de Romains et grecs, qui a conduit à l'invasion historique de l'Inde, par Alexandre de Macédoine (Lijo *et al.*, 2015). Dans les siècles suivants, les Arabes, les Portugais, les Hollandais et les anglais sont venus en Inde à travers les mers à prendre la cardamome avec eux (Pierre *et al.*, 2011).

Dès le 4<sup>ème</sup> siècle avant JC, la cardamome a été utilisée en Inde comme une herbe médicale. L'œuvre poétique de Kalidasa au 4<sup>ème</sup> siècle AD abonde en référence à son parfum épicé. Parmi la littérature ancienne en tamoul la plante de cardamome trouve la mention dans Chilappatikaram, écrit dans le 4ème siècle après JC (Verbois, 2009).

## **I.2. Définition**

La cardamome, *Elettaria cardamomum* est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, populairement connues sous le nom « Reine des épices ». Originaires des forêts tropicales de Sud de l'Inde et du Sri Lanka, la cardamome fut introduite, il y a plus de mille ans en Asie du Sud-Est (Poirel, 2017).

## **I.3. Description botanique**

Il s'agit d'une herbe vivace à gros rhizomes superficiels, horizontaux, ramifiés et sublinguaux, qui chaque année émette des tiges végétatives feuillées, hautes de 2,5 à 3 m. Ces tiges disposées en touffes meurent au bout de quelques mois et se décomposent. Sur leurs nœuds s'insèrent des feuilles à pétiole engainant et à limbe très lancéolé (50 x 3 à 5 cm) d'un beau vert sombre (Gilly, 2005 ; Arvy et Gallouin, 2015). À côté de ces tiges, les rhizomes émettent des hampes florales, longues de 40 à 70 cm. Il s'agit de panicules lâches, prostrées ou retombantes dont les fleurs donnent naissance à des capsules peu déhiscentes. Celles-ci pourvues de trois loges, sont oblongues, légèrement ridées longitudinalement. Leurs dimensions varient légèrement. Chacune de leurs loges compte 3 à 6 graines pleines, anguleuses, noires de 3 mm de long. Ces graines et leur capsule par leur saveur et leur odeur constituent la seule partie utile de la plante (fig. 2) (Madhusoodanan *et al.*, 2003 ; Khandelwal, 2008).



**A :** *Elettaria cardamomum*



**B et C :** Tiges portant des fleurs et fruits

**Figure 2:** La plante d'*Elettaria cardamomum* (Escartin et al., 2010, Siyanna, 2017).

Les fleurs de cardamome sont bisexuelles, zygomorphe et ouvertes dans la succession de la base en avant à l'apex. La structure d'une fleur de cardamome est prédisposée pour la pollinisation d'insecte. Les abeilles à miel sont les insectes de pollinisation les plus importants. Le taux de pollinisation et l'ensemble de fruit peuvent être augmentés significativement en gardant des colonies d'abeille à miel dans des champs de cardamome (Madhusoodanan et al., 2003).

#### **I.4. Classification d'*Elettaria cardamomum* dans le règne végétal**

La plante d'*Elettaria Cardamomum* dans la classification systématique botanique est la suivante (Cronquist, 1981).

**Règne :** *Plantae*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Liliopsida*

**Ordre :** *Zingiberales*

**Famille :** *Zingiberaceae*

**Genre :** *Elettaria*

**Espèce :** *Elettaria Cardamomum* (Arvy et Gallouin, 2015 ; Biju, 2013).

#### **I.4.1. Compositions Chimiques**

La composition chimique de la cardamome varie considérablement avec la variété, la région et l'âge du produit. L'analyse chimique des fruits secs de la cardamome révèle la présence des huiles essentielles, Cires, stérols, des pigments, des protéines, la cellulose, les sucres, l'amidon, l'oxalate de calcium, des minéraux (tableau 1) (Madhusoodanan et al., 2003 ; Nair, 2006; Sharma et al., 2011).

**Tableau 1:** Composition chimique de la cardamome (Sharma et al., 2011).

<b>Elément</b>	<b>Composition</b>
<b>Humidité</b>	20.0 g
<b>Protéine</b>	10.1 g
<b>Graisse</b>	2.2 g
<b>Minéraux</b>	5.4 g
<b>Glucide</b>	42.1 g
<b>Énergie</b>	229.0 cal
<b>Calcium</b>	13.0 mg
<b>Phosphore</b>	160.0 mg
<b>Fer</b>	5-0 g
<b>Thiamine</b>	0.22 mg
<b>Riboflavine</b>	0.17 mg
<b>Acide nicotinique</b>	0.8 mg
<b>Vitamine A</b>	0.1 mg
<b>Vitamine C</b>	0.1 mg

## **I.5. L'utilisation de la cardamome**

### **I.5.1. Phytothérapie**

La cardamome est une des plus anciennes épices. En Égypte, on en faisant un grand usage dans l'Antiquité pour fabriquer des parfums (Johnya et al., 2002). Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour traiter de nombreux troubles digestifs (indigestion, flatulences), gastro-intestinaux, stomacaux, résolvents, retentissants et antiémétiques (Marongiu et al., 2004 ; Sereshti et al., 2012). Une infusion de cardamome peut être utilisée comme un gargarisme pour soulager la plaie la gorge. Elle est aussi ajoutée au thé pour faire un fortifiant afin de soulager les symptômes de stress dû au surmenage ou la dépression. On donne des graines de cardamome aux patients qui ont la mauvaise haleine et une capsule de cardamome prise avec le miel est réputée pour améliorer la vue (Bernard, 2016).

Les utilisations traditionnelles de cardamome pour traiter des affections cutanées ont attiré l'attention d'entre ceux qui développent la cosmétique à base de plantes, d'autant plus qu'il a été utilisé traditionnellement pour traiter les zones du corps qui ont la dépigmentation. Elle est souvent incorporée dans des savons et la main crème (Han et al., 2017). Une autre utilisation de la cardamome est en médecine traditionnelle en Chine et l'Inde comme aide digestive, et pour le traitement des gaz intestinal (Ravindran, 2002). Il a également été ajouté sur les huiles et lotions de massage ainsi que les savons, les détergents, et parfums pour ses propriétés apaisantes (Ravindran, 2002 ; Poirel, 2017).

### **I.5.2. Culinaire**

Dans la plupart des pays européens ; la cardamome est utilisée principalement comme un agent d'arôme dans la cuisine, le mâchement et comme un ingrédient commun d'assaisonnement spécial et des poudres de curry et pour des sucreries d'arôme, des pâtisseries, des gâteaux, le pain, le pouding et d'autres préparatifs culinaires (Tricoulet, 2014 ; Planet, 2013). Son huile est utilisée pour des alcools d'arôme, traitée la nourriture, la parfumerie et dans des boissons. Elle est aussi utilisée pour masticatoire, le thé d'arôme et la confiserie (Henaryn et Ridly, 1999).

## **I.6. Les bénéfices thérapeutiques de la cardamome**

### **I.6.1. Activité antioxydante**

L'acide protocatéchuique, 1,8-cinéol et alphaterpineol et protocatchualdehyde présent dans les graines d'*E. cardamomum* ont montré une activité antioxydante (Kikuzaki *et al.*, 2001). Ils ont des avantages potentiels pour la santé en inhibant la peroxydation lipidique (Jessie et Krishnakantha, 2005). La graine de la plante cardamome a une activité antioxydante sur enzymes antioxydantes hépatiques et cardiaques qui est attribuée à leur capacité à activer les enzymes antioxydantes (Verma *et al.*, 2010). Des études récentes ont déterminé les propriétés anti oxydantes des composés bioactifs de la cardamome, et ces avantages pour la santé associés à l'augmentation de sa utilisation dans les aliments (Mueller *et al.*, 2010 ; Rubio *et al.*, 2013). La cardamome possède des propriétés antioxydantes et peut augmenter les niveaux de glutathion et d'enzymes antioxydantes dans le corps (Verma *et al.*, 2010 ; Bisht *et al.*, 2011 ; Das *et al.*, 2012).

### **I.6.2. Activité anti-inflammatoire**

Un couple de composés bioactifs de cardamome ont été étudiés pour l'activité anti inflammatoires. Les mono-terpènes composés d'huile de cardamome ont été montrés pour améliorer l'activité de l'indométacine sur la peau. Une dose plus faible de la cardamome supprimée œdème dans une moindre mesure, considérant qu'une dose plus élevée de la cardamome révèle un plus puissant anti inflammatoire effet sur la peau en présence de indométacine (Huang *et al.*, 1999).

L'huile de cardamome a une action anti-inflammatoire; il a inhibé la croissance d'œdème de patte induit par la carrageenan chez les rats.. L'effet anti-inflammatoire de l'huile de la cardamome a résulté en partie ; la modulation d'expression de protéine pro-inflammatoire. Les enzymes modulées par l'huile de cardamome incluent cyclooxygénase-2 (COX-2) et le monoxyde d'azote inductible synthéase (i-NOS). L'inhibition de ces enzymes est un mécanisme cellulaire important impliqué dans la propriété anti-inflammatoire de cardamome (Sengupta et Bhattacharjee, 2009).

Les graines d'*E. Cardamomum* possèdent des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antispasmodiques. L'extrait de l'huile de graines de cardamome, s'est avéré réduire l'inflammation. L'activité analgésique a été évaluée par la méthode de contorsion induite par la p-benzoquinone, mais l'activité antispasmodique a été évaluée in vitro. Des études révèlent que

l'action antispasmodique est produite par le blocage des récepteurs muscariniques, indiqué par (Al-zuhair et al., 1996) .

L'*Elettaria cardamomum* se trouve en application comme composant de nombreux baumes, pommades et huiles thérapeutiques utilisées contre les crampes, les douleurs rhumatismales, les inflammations (Nagashree et al., 2016). Dans la présente étude, la partie volatile et non volatile de la cardamome a été évaluée pour une possible influence anti-inflammatoire chez les rats mâles Wistar en évaluant l'œdème de la patte induit par la carragénine (Arpitha et al., 2019).

Plus spécifiquement, le 1,8-cinéole (eucalyptol), s'est avéré le principal constituant actif de la cardamome étudié pour ses activités anti-inflammatoires (Sudhoff et al., 2015; Zhao et al., 2014).

### **I.6.3. Activité immuno-modulatrice**

Les métabolites actifs d'*E. cardamomum* ont été reconnues pour la modulation accrue des macrophages dans l'immunologie des affections connexes et la protection du système immunitaire de l'homme (Abdelkader et al., 2015). Récemment, l'extrait de la cardamome a été jugé comme un modulateur puissant des macrophages (Vaidya et Rathod, 2014).

L'inhibition induite par l'huile essentielle d'*Elettaria cardamomum* de la production de biomarqueurs protéiques suggère son potentiel anti-inflammatoire et immunomodulateur, a été largement attribué à son principal composant actif, l'eucalyptol (Han et parker, 2017).

### **I.6.4. Activité anticancéreuse**

Une étude de la plante cardamome a montré qu'elle inhibe l'agrégation plaquettaire (Suneetha et Krishnakanta, 2005). Les extraits de cardamome aussi inhibent le cancer du côlon et cancer de la peau avec une réduction de la cyclooxygénase 2 (COX-2), l'oxyde nitrique synthase inductible (i-NOS), facteur 2-érythroïdes et l'expression du facteur nucléaire kappa B (NF-kB) et augmente l'activité anti-oxydante (Sengupta et al., 2005 ; Qiblawi et al., 2015). Il a été démontré par Bhattacharjee et al. (2007) que la cardamome a une grande capacité à guérir le cancer colorectal.

Manjunath et al. (2020) ont montré que l'huile de cardamome avait la cytotoxicité la plus élevée par rapport à l'huile de citron sur la lignée cellulaire cancéreuse de la peau (A431). Amnah et al. (2012) et Majdalawieh et al. (2010) ont montré une activité cytotoxique très significative sur la lignée cellulaire hépatique (Hepg2) et une activité modérée sur la lignée cellulaire du côlon (HCT116) de l'extrait aqueux de cardamome.

### **I.6.5. Activité antibactérienne**

L'*Elettaria cardamomum* a une grande variété de métabolites secondaires tels que des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes ayant des activités antimicrobiennes. Les extraits d'éther de pétrole du cardamome ont montré une activité antimicrobienne et ont été trouvées actives sur les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Kumar et al., 2010).

En outre, l'extrait de cardamome a exercé un effet antibactérien contre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*, (Souissi et al., 2019).

L'étude de Jamal et al. (2016) a montré que les nanoparticules de chitosane chargées d'huile de cardamome se sont avérées présenter un excellent potentiel antimicrobien contre *Escherichia coli* produisant des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

L'extrait de cardamome a été très efficace pour inhiber la croissance de toutes les souches, en particulier sur des bactéries à Gram positif (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) (El-Malti et al., 2007).

Les auteurs de l'étude (Kaushik et al., 2010) ont conclu que, les bactéries à Gram positif été sensibles de façon variable à tous les extraits testés d'*Elettaria cardamomum* et que la cardamome avait une activité antibactérienne significative, et pourrait devenir utile dans la recherche de nouveaux antibiotiques.

L'huile essentielle de cardamome possède une activité antifongique sur plusieurs espèces de champignons microscopiques, activité due notamment à l'acétate d' $\alpha$ -terpényle (Devendeville, 2009).

### **I.6.6. Activité insecticide**

L'huile volatile de la cardamome agit comme un protecteur potentiel des céréales en tuant divers stades de la vie des insectes du produit stocké attaquant le blé, comme le *Tribolium castaneum* et *Sitophilus zeamais*, par contact et action fumigante (Sharma et al., 2011). Des recherches sur la cardamome ont montré des preuves de son action insecticide (Abbasipour et al., 2011).

### **I.6.7. Activité anti-ulcéreuse**

La fraction soluble de l'extrait méthanolique de cardamome dans le pétrole et l'acétate d'éthyle produit une protection importante contre l'ulcère induit par l'éthanol (Sen et al., 2009). L'inhibition de l'huile essentielle d'*E. cardamomum* s'est avérée significativement importante contre la formation des ulcérations de 60,91 % dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol et l'aspirine (Farah et al., 2005).

L'activité gastroprotectrice d'*E. Cardamomum* était mieux trouvée dans l'extrait soluble dans l'éther de pétrole qui a inhibé les lésions de près de 100% à 12,5 mg/kg dans l'ulcère gastrique induit par l'aspirine. L'extrait méthanolique possède également un effet gastroprotecteur (Jamal et al., 2006).

L'activité anti-ulcéreuse observée selon Mutmainah et al. (2014) pourraient être corrélées avec des métabolites tels que les groupes de composés polyphénols, flavonoïdes et terpénoïdes identifiés dans la fraction hexane d'*Elettaria Repens*.

### **I.6.8. Activité cardio-adaptogène**

L'injection intraveineuse d'un extrait de cardamome à des rats anesthésiés a provoqué une chute dose-dépendante de la pression artérielle (Gilani et al., 2008), ceci confirme son effet diurétique, tout en augmentant l'excrétion urinaire du sodium et du potassium et ce de façon comparable à l'effet du furosémide ; diurétique de référence.

Une équipe du Verma et al. (2009) a montré qu'à la fin d'un traitement à base de la poudre de cardamome à des patients hypertendus, la pression systolique et diastolique des patients avait diminué de façon significative.

Les propriétés de la cardamome sur les viscères (intestin et cœur) ont été confirmées. Elle agit bien sur le système cholinergique et les antagonistes du calcium et abaisse ainsi la pression

artérielle par ces deux mécanismes (Goetz, 2012). Par ailleurs, l'effet diurétique et sédatif participe à l'effet antihypertenseur.

### **I.6.9. Activité hypocholestérolémiant**

La cardamome réduit significativement le cholestérol, d'où une baisse de façon significative de l'indice d'athérogénicité, et ceci suggère un effet cardioprotecteur potentiel (Nagashree et al., 2016).

### **I.6.10. Un effet sur le cœur**

La cardamome a provoqué des changements de la structure hémodynamique, biochimique et tissulaire dans l'infarctus du myocarde induit par l'isoproterenol chez le rat, d'où les troubles cardiaques ont été améliorés, ainsi que les différents marqueurs et les structures pathologiques des tissus ; les cellules cardiaques ont été protégées des effets délétères de l'isoproterenol. Ces résultats démontrent que la cardamome protège bien le myocarde de façon significative, et exerce des effets cardioprotecteurs en piégeant les radicaux libres (Goyal et al., 2015).

## **I.7. Le stress oxydant**

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme un facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier, 2003). Il est caractérisé par la production quotidiennement des radicaux libres par l'organisme. Ces derniers sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. La surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme (Koechlin, 2006).

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydante, soit d'une surabondance des RL (Belaïch et al., 2015). Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (Fig. 3) (Belaïch et Boujraf, 2016).



**Figure 3:** Déséquilibre de la balance des espèces prooxydantes et des systèmes de défense antioxydante (Belaïch et Boujraf, 2016)

### **I.7.1. Les Radicaux libres**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches périphériques, rendant ainsi ces espèces particulièrement instables (Durand *et al.*, 2013). Ils sont très réactifs et répartis en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en espèces réactives de l'azote (ERN) (Sosa *et al.*, 2013). Les ERO comprennent des dérivées radicalaires comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) ou le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Les ERN sont définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou le monoxyde d'azote (NO) (Pisoschi et Pop, 2015 ; Weidinger et Kozlov, 2015).

### **I.7.2. Rôle physiologique des radicaux libres**

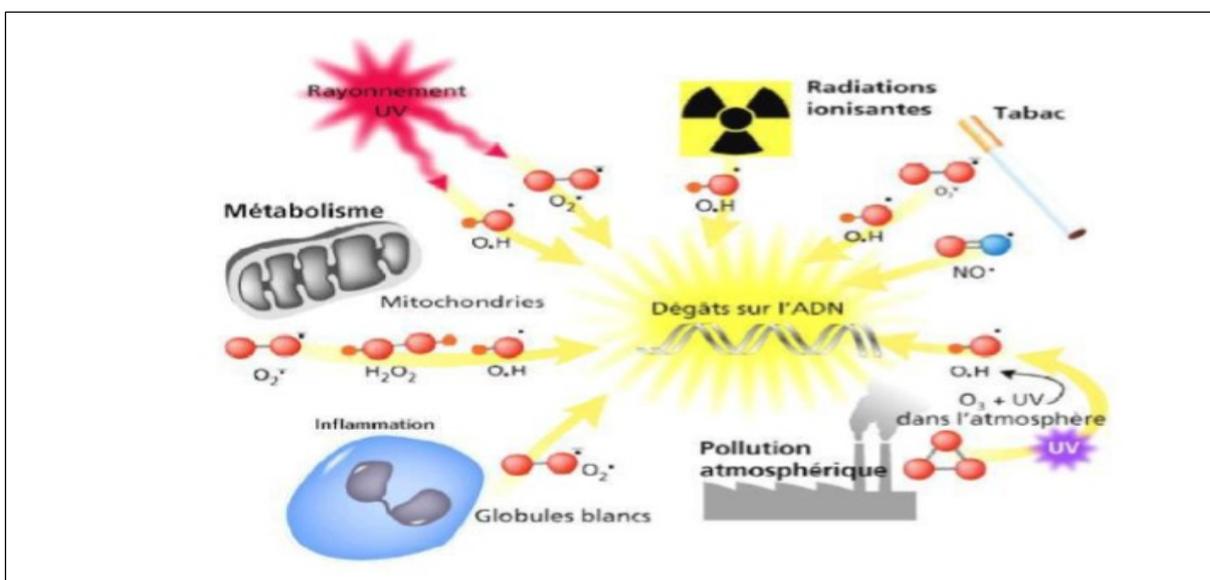
Les radicaux libres longtemps considérés comme délétères ont en quantité modérée, un rôle physiologique essentiel au niveau de l'homéostasie cellulaire et plus particulièrement dans l'activité de certaines enzymes intracellulaires (Cindrova-Davies *et al.*, 2014). La mort cellulaire programmée est l'une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydant ;

elle est considérée comme un phénomène naturel qui se produit pendant le développement normal.

Des ERO sont impliquées lors du développement comme molécules de signalisation et dans la modulation de la plasticité synaptique. Cependant, lorsque la production de RL est trop élevée et dépasse les capacités de défense antioxydantes des tissus, ces molécules provoquent des altérations irréversibles des fonctions cellulaires de base, de l'intégrité de la membrane cellulaire, et de l'ADN (Belaïch et Boujraf 2016 ; Jauniaux et Burton, 2016).

### I.7.3. L'origine du stress oxydatif

Le stress oxydant peut avoir diverses origines, tel que des facteurs environnementaux comme : l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (fig. 4) (Thanan et al., 2014).



**Figure 4:** Principales sources des radicaux libres (Defraigne et Pincemail et al., 2008)

#### **I.7.4. Les conséquences du stress oxydatif**

##### **I.7.4.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN**

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Valko, 2007). L'attaque de l'ADN va entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques où des cassures au niveau de la double hélice et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir de graves conséquences sur la synthèse des protéines et sur la transmission de l'intégrité du patrimoine génétique (Thanan et al., 2014).

##### **I.7.4.2. Les dommages oxydatifs aux Lipides**

L'oxydation des lipides, notamment des acides gras polyinsaturés, induit une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (Cillard et al., 2006). L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages qui transforment en cellules spumeuses (Atkin et al., 2005), constituant une étape dans la formation de l'athérosclérose (Nakajima et al., 2006).

##### **I.7.4.3. Les dommages oxydatifs aux protéines**

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des radicaux libres. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine (Sentman et al., 2006). Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra et inter-chaînes (Sanz et al., 2008). La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (Schmidt-Ott et al., 2007). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng et al., 2007).

#### **I.7.5. Les maladies liées au stress oxydatif**

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Sanchez, 2017 ; Ighodaro et Akinloye, 2018). En faisant apparaître des

molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (Sanchez, 2017 ; Forrester *et al.*, 2018). Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Fonseca *et al.*, 2019).

#### **I.7.6. Les systèmes de défense**

L'homéostasie cellulaire, essentielle au bon fonctionnement du corps humain, est maintenue en partie par le système de défense antioxydant (Rodrigo, 2009). Le terme d'antioxydant désigne « toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat » (Théron et Bonnefont-Rousselot, 2005). Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des RL alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de protons ou d'électrons (Durand *et al.*, 2013).

##### **I.7.6.1. Antioxydants**

C'est l'ensemble des substances ou molécules capables d'inhiber la production, limiter la propagation ou destruction d'ERO ; les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant l'espèce ou en la piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).

Le terme substrat oxydable inclut toutes sortes de types de molécules *in vivo*. Ainsi lorsque les ERO sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agit principalement d'enzymes dont le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le glutathion ou acide urique (Kozarski *et al.*, 2015 ; Ighodaro et Akinloye, 2018 ; Islam *et al.*, 2019).

Les antioxydants alimentaires comprennent des vitamines (A, C et E), certains oligoéléments et aussi des éléments bioactifs qui ne sont ni des vitamines ni des minéraux et qui se trouvent naturellement dans les végétaux appelés phytonutriments ou les métabolites secondaires (Liu, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Fofana, 2011 ; Islam *et al.*, 2019).

### **I.7.6.2. Polyphénols**

Les polyphénols peuvent être classés en deux groupes : les composés flavonoïdes par exemple les flavanes, flavanols, flavonols, isoflavonones, anthocyanidines ; et d'autres composés non flavonoïdes comme les acides phénoliques et stilbènes dont le principe actif est le resvératrol (Handique *et al.*, 2002; Stratil *et al.*, 2006).

Ils possèdent plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (alcooliques ou carboxyliques) (Bahorun *et al.*, 1994). Ils constituent une importante famille d'antioxydants au sein des plantes, des fruits et des légumes puisqu'ils comprennent plus de six mille molécules. Des études récentes ont montré que le contenu en polyphénols dans les fruits et les légumes est responsable de la capacité antioxydante totale de ces aliments (Handique *et al.*, 2002; Stratil *et al.*, 2006).

Des recherches sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme antiallergiques et d'autres activités (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007).

### **I.8. L'inflammation**

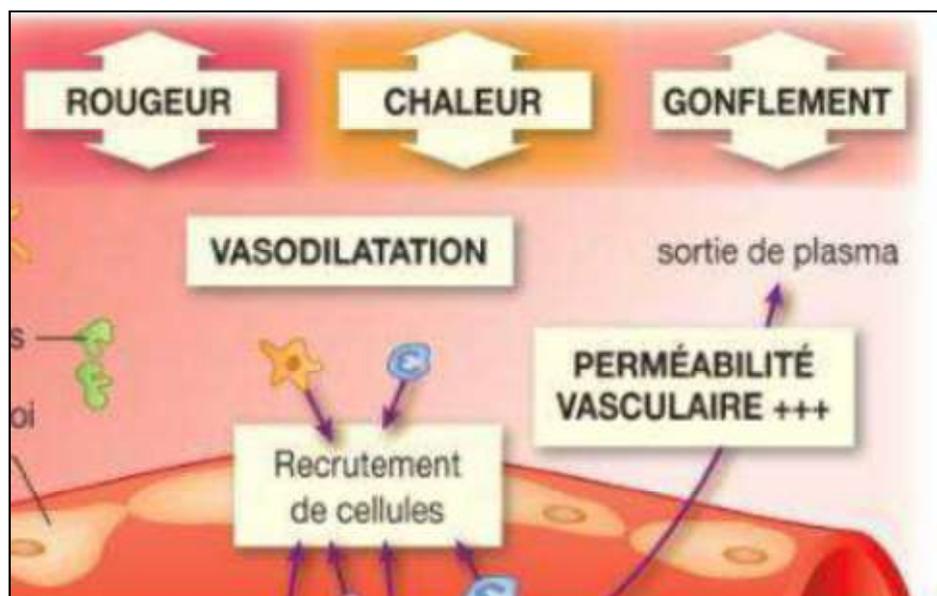
L'inflammation est un phénomène omniprésent qui opère lors de perturbations sévères de l'homéostasie tissulaire, comme l'infection, les blessures et l'exposition aux contaminants et est déclenchée par les systèmes immunitaires innés et adaptatifs pour combattre les intrus pathogènes (Medzhitov, 2008 ; Ashley *et al.*, 2012). L'inflammation, lorsqu'elle est correctement réglée, est susceptible d'adaptation. Mais, parfois, la réaction inflammatoire dépasse ses objectifs. Lorsqu'elle persiste pendant une longue durée, elle peut être à l'origine d'effets délétères, mais il s'agit là du prix que l'organisme doit parfois payer pour assurer le maintien de son intégrité (Geng *et al.*, 2014 ; Haioun et Zohra, 2015 ; Du *et al.*, 2018).

Une réponse inflammatoire contrôlée est généralement prise comme étant bénéfique, par exemple, en fournissant une protection contre l'infection, mais elle peut devenir préjudiciable si elle est dérégulée et/ou insuffisante, engendrant des dommages irréversibles ; en augmentant ainsi la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme la goutte, l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète de type 2 (fig. 5) (Du *et al.*, 2018). Une inflammation mal contrôlée peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine et peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, par

exemple, provoquant un choc septique et dans les cas les plus graves le décès (Nathan, 2002; Barton, 2008).

Ces états inflammatoires chroniques ne semblent pas être causés par les instigateurs classiques de l'inflammation: infection et blessure. Au contraire, ils semblent être associés au dysfonctionnement du tissu, c'est-à-dire au déséquilibre homéostatique de l'un de plusieurs systèmes physiologiques qui ne sont pas directement liés à la défense de l'hôte ou à la réparation tissulaire (Medzhitov, 2008).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, dont la fonction est de protéger contre les infections, comprend deux branches interconnectées: une plus primitive appelée immunité innée et la plus récente, appelée immunité adaptative (spécifique) (Gattorno et Martini, 2016).



**Figure 5:** La réponse inflammatoire (Harou et Yessad, 2017)

Les cellules de l'immunité innée et adaptative ne sont pas deux compartiments séparés mais un système intégré de défense de l'hôte, partageant des interactions bidirectionnelles fondamentales à la fois pour la phase d'induction et la phase effectrice de la réponse immunitaire (Gattorno et Martini, 2016). Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs de reconnaissance de formes (PRR) et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, ou endogènes, les alarmines (Bianchi, 2007 ;

Medzhitov, 2008 ; Broz et Monack, 2013 ; Gattorno et Martini, 2016), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (Barton, 2008; Medzhitov, 2008).

D'autre part, le système immunitaire adaptatif est responsable de l'élimination des agents pathogènes dans la phase tardive de l'infection, du maintien de la tolérance immunologique et de la génération de la mémoire immunologique (Gattorno et Martini, 2016). Cette réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (Barton, 2008 ; Medzhitov, 2008 ; Soehnlein et Lindbon, 2010). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique (Drayton et al., 2006 ; Gattorno et Martini, 2016).

### **I.8.1. L'inflammation aigue**

C'est une réponse immédiate à un agent agresseur qui se définit comme une série de réactions tissulaires qui peuvent survenir dans les premières heures suivant la blessure. Elle a une durée relativement courte de quelques jours ou semaines, d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses (Haioun et Zohra, 2015). L'inflammation aiguë guérit spontanément ou avec un traitement, mais peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Dinarello, 2010). L'inflammation aigue peut être divisée en trois grandes phases :

#### **I.8.1.1. Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)**

Ce sont des mécanismes immédiats de l'ordre de la minute qui se mettent en route en réponse à une agression dont le but est d'alerter et de recruter des cellules de l'immunité naturelle (fig. 6). Cette phase est caractérisée par des modifications de la microcirculation locale et elle se traduit cliniquement par 4 phénomènes typiques, signes cardinaux de Celsius, qui sont le gonflement (Œdème), la douleur, la chaleur et l'érythème (Pacheco-Sanchez et al., 2006 ; Geng et al., 2014).

La phase vasculo-exsudative ou vasculaire comporte trois modifications élémentaires qui sont la congestion active, l'œdème inflammatoire et les diapédèses leucocytaires.

- **Congestion active**

Le déclenchement de cette phase est dû à une vasodilatation survenue après une phase de vasoconstriction, extrêmement brève, de quelques secondes, de type réflexe sous l'action du système nerveux sympathique. Elle est artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte, entraînant un érythème, un dégagement de chaleur locale. Cette phase est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine. Ces médiateurs activent les plaquettes présentes dans la circulation, ce qui conduira à une vasodilatation des vaisseaux sanguins (Hajjaj, 2017).

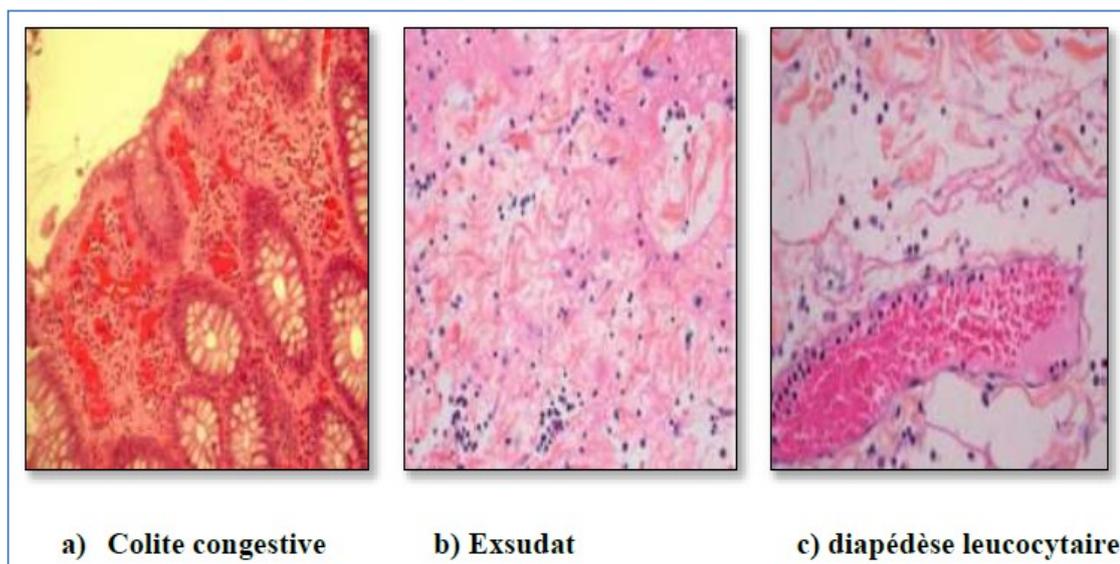
- **Œdème inflammatoire**

L'œdème survient lorsqu'un volume excessif d'un liquide appelé exsudat, fait d'eau et de protéines plasmiques, s'accumule dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses. Il résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine (Carip, 2010).

- **Diapédèse leucocytaire**

La diapédèse ou la migration trans-endothéliale (TEM), est le processus par lequel les leucocytes se compriment de façon amibe à travers les cellules endothéliales (Sumagin et Sarelius, 2010 ; Woodfin *et al.*, 2011). Cette migration trans-endothéliale s'effectue en quatre étapes successives : la capture, le roulement, l'adhésion cellulaire et la diapédèse (Muller, 2013).

Dans les veinules post-capillaires au niveau des sites d'infection, les modifications locales de l'hémodynamique entraînent une réduction importante du débit sanguin. Cela augmente les chances que les leucocytes entrent en contact avec les cellules endothéliales qui tapissent le vaisseau. Les molécules d'adhésion leucocytaire, dont l'expression à la surface des cellules endothéliales est induite par la réponse inflammatoire, augmentent les chances que ces contacts conduisent à une liaison productive (Muller, 2013).



**Figure 6:** Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative (Mansour, 2015)

La transition épithélium-mésenchyme (TEM) est médiée par une série d'interactions complexes et séquentielles entre les leucocytes et la surface apicale endothéliale via divers récepteurs d'adhérence. Dans un premier temps, l'endothélium qui a été activé par des cytokines pro-inflammatoires exprime des sélectines endothéliales (E) et plaquettaires (P) sur la surface apicale endothéliale, ils capturent les leucocytes et facilitent leur enroulement sur l'endothélium via la sélectine leucocytaire (L). Le but de l'enroulement et de l'enroulement lent est de mettre le leucocyte en contact avec les cellules endothéliales de sorte que le leucocyte puisse être davantage activé par des chimiokines et d'autres agents pro-inflammatoires présentés à la surface endothéliale, ce qui conduit à l'activation des intégrines leucocytaires (Kunkel et Ley, 1996 ; Ley *et al.*, 2007).

Par la suite, l'adhésion ferme est contrôlée par les récepteurs d'adhésion de la famille des immunoglobulines, à savoir les intégrines leucocytaires (LFA-1, Mac-1, et VLA4), qui se lient à leurs ligands endothéliaux, y compris ICAM (ICAM-1 et -2) et la molécule 1 d'adhésion cellulaire vasculaire (VCAM-1), respectivement. Après ces étapes, la TEM peut se produire via la migration des leucocytes par des jonctions entre les cellules endothéliales adjacentes (TEM para-cellulaire) ou à travers le corps de l'endothélium (TEM trans-cellulaire) (Ley *et al.*, 2007 ; Luo *et al.*, 2007 ; Muller, 2013 ; Nourshargh et Alon, 2014).

### **I.8.1.2. Phase cellulaire**

La phase cellulaire fait suite à la diapédèse. Les leucocytes poursuivent leur progression jusqu'au foyer inflammatoire ; les premiers sur place sont les neutrophiles polynucléaires (NP), qui vont être progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes/macrophages dont la fonction est d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immunitaire spécifique de l'antigène (Horvat, 2010).

### **I.8.1.3. Phase de résolution**

La phase de résolution, ou de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Mebirouk, 2017).

### **I.8.2. L'inflammation chronique**

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses

vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Mebirouk, 2017). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh et al., 2006; Dinarello, 2010).

L'inflammation chronique se développe dans les conditions où persiste une agression ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, où l'antigène ne peut être éliminé (Rankin, 2004). Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois ou des années. Elle peut même se prolonger tout au long de la vie de l'individu (Fauve et Hevin, 1998).

A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (Weill et al., 2003). Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Fauve et Hevin, 1998; Weill et al., 2003).

La présence de lymphocytes dans l'infiltrat est habituelle. Tandis que la présence des polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (Dombrowicz et Capron, 2001).

### **I.8.3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire**

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

#### **I.8.3.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)**

Les polynucléaires neutrophiles sont les principaux agents cellulaires impliqués dans le mécanisme inflammatoire qui a pour but de recruter rapidement les leucocytes sur le lieu d'une lésion ou d'une infection (Wagner, 2005). Elles sont également impliquées dans la réparation tissulaire (Eming et al., 2007).

### **I.8.3.2. Les mastocytes**

Ils sont des cellules résidentes des tissus conjonctifs. De plus, ils jouent un rôle très important dans le déclenchement de la réaction inflammatoire (Weill *et al.*, 2003). Ils se caractérisent par la présence dans leur cytoplasme de très nombreuses granulations contenant des médiateurs inflammatoires comme la sérotonine, l'histamine, l'héparine et des cytokines (Williams *et Galli*, 2000). Ils sont aussi impliqués dans la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007).

### **I.8.3.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires**

Ils constituent le système des phagocytes mononuclées. De nombreuses situations engendrent l'activation des macrophages rencontre avec un micro-organisme, avec une particule inerte, avec un produit de dégradation tissulaire ou liaison avec un ligand naturel pour un de leurs récepteurs : anticorps, thrombine, fibrine, facteurs de croissance, cytokines (Rankin, 2004).

### **I.8.3.4. Les plaquettes sanguines**

Elles sont indispensables à l'hémostase primaire. Elles contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine (Steinhubl, 2007).

### **I.8.3.5. Les Polynucléaire basophiles**

Elles sont les plus rares des polynucléaires (moins de 1 % des cellules inflammatoires). Elles présentent également un cytoplasme qui contient de très nombreuses granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Les basophiles sont des cellules phagocytaires qui interviennent principalement dans les réactions allergiques (Rankin, 2004).

### **I.8.3.6. Les polynucléaires éosinophiles**

Elles représentent de 1 à 6% des cellules inflammatoires. Elles possèdent aussi des propriétés phagocytaires (Rankin, 2004). Leur fonction principale est de s'attaquer aux parasites via le contenu de leurs granules. Elles interviennent aussi dans la modulation et la propagation de la réponse immunitaire adaptative en activant directement les lymphocytes T (Hogan *et al.*, 2008).

#### **I.8.3.7. Les fibroblastes**

Les fibroblastes sont des cellules ubiquitaires et principales du tissu conjonctif ; elles interviennent dans la production de la matrice extracellulaire qui offre une résistance mécanique aux cellules. Ils produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase, stromélysine, cathepsines, sérine protéase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (Botting et Botting, 2000).

#### **I.8.3.8. Les lymphocytes**

Il existe deux types de lymphocytes impliqués dans l'inflammation: les lymphocytes T qui se différencient dans le thymus et les lymphocytes B acquièrent leur maturation dans la moelle osseuse. Ils interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par la production de différentes cytokines (Adrie et Pinsky, 2000).

#### **I.8.3.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre**

Elles jouent un rôle important au cours de l'inflammation (Wagner et Roth, 2000). L'état de jonction des cellules entre elles et avec la matrice extra-cellulaire contrôle le passage des liquides et des macromolécules de l'espace intra-vasculaire vers les tissus interstitiels. Cet état de jonction fait intervenir de nombreuses protéines trans-membranaires ou intra-cellulaires tels que connexines, cadhérines, protéines du cytosquelette, intégrines de surface (Janeway et al., 2001). Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (Aggarwal et Shishodia, 2006).

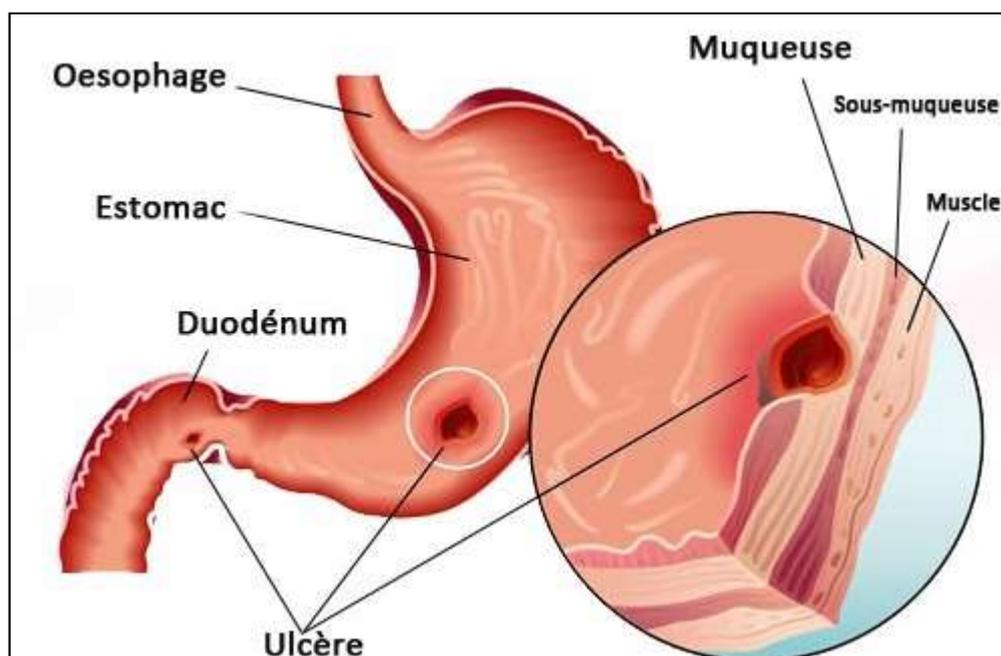
#### **I.8.4. Les médiateurs de l'inflammation**

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (Liu et al., 2017). Le déclenchement et la poursuite de l'inflammation, sa diffusion à partir du foyer inflammatoire font appel à des facteurs synthétisés localement ou qui sont présents à l'état de précurseur inactif dans la circulation sanguine (Patel et al., 2017).

## **I.9. L'ulcération**

### **I.9.1. L'ulcère gastrique**

La maladie ulcéreuse gastroduodénale est une affection cosmopolite, d'évolution chronique récidivante dont l'incidence lui confère le statut de maladie de santé publique (Kadjo *et al.*, 1999). Un ulcère gastroduodéal est une plaie qui apparaît sur la muqueuse de l'estomac ou sur l'intestin grêle (fig. 7). Elle est caractérisée par une perte de substance profonde amputant la musculuse et pouvant atteindre la séreuse (perforation) (Salducci *et al.*, 2005). Les lésions provoquées vont produire une réaction inflammatoire caractérisée par l'apparition d'un socle scléro-inflammatoire contenant des névromes (croissance des fibres nerveuses) et des lésions d'endartérite (inflammation de la tunique artérielle) (Gimenez *et al.*, 2000; Lacour et Belon, 2015).



**Figure 7:** Représentation de l'ulcère gastroduodéal (Lacour et Belon, 2015)

### **I.9.2. Physiopathologie**

Dans l'estomac, il existe un équilibre entre les facteurs d'agression et de défense de la muqueuse gastrique, la maladie ulcéreuse gastroduodénale résulte lors d'un déséquilibre de cette balance, c'est-à-dire l'augmentation de l'agression ou diminution de la résistance de la muqueuse gastrique. De multiples facteurs endogènes et exogènes modulent cet équilibre agression/défense. Ces facteurs étiologiques déterminent des entités pathologiques différentes

par leur pathogénie, leur histoire naturelle et leur traitement (Borrelli et Izzo, 2000). Ainsi, l'ulcère se produit quand les facteurs agressifs dominent les facteurs protecteurs (Gimenez et al., 2000).

### **I.9.3. Les facteurs d'agression de la muqueuse gastrique**

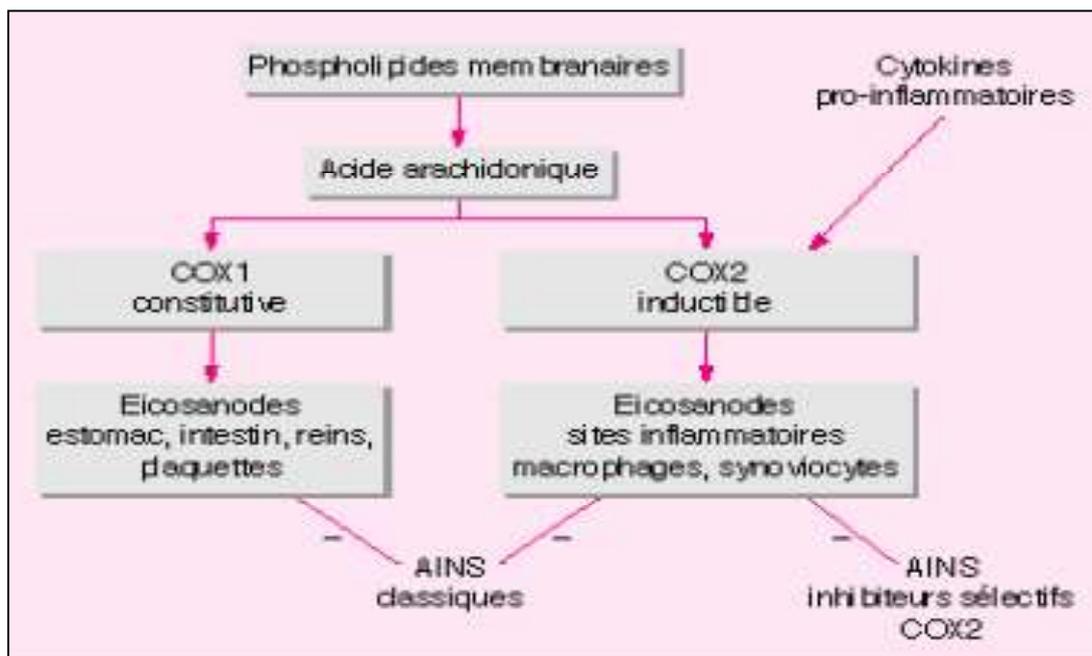
On trouve les facteurs endogènes représentés essentiellement par l'acide chlorhydrique, la pepsine, le reflux de la bile, les leucotriènes, et les espèces réactives de l'oxygène (EROs). Les facteurs exogènes sont le tabac, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), l'alcool, le stress, les aliments gras, le café, et les infections à *Helicobacter pylori* (Martins et al., 2014). Les facteurs ulcérogènes les plus importants sont :

#### **I.9.3.1. les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Ils sont subdivisés en deux groupes, le premier groupe inclut les acides carbonyliques, l'ibuprofène, le naproxène, et l'indométacine; ces agents présentent un caractère acide et sont des inhibiteurs non sélectifs des COX. L'autre groupe comporte les acides enol comme l'azapropazone et le phénylbutazone (Sinha et al., 2013).

La physiopathologie des lésions gastroduodénales induites par les anti-inflammatoires non stéroïdiens passent d'abord par une diminution du flux sanguin muqueux, conséquence de l'inhibition de la cyclooxygénase qui produit des prostaglandines vasodilatatrices. Les lésions endothéliales accentuent la baisse du débit sanguin muqueux et favorisent le processus inflammatoire dans la muqueuse digestive (Lamarque, 2004).

Les AINS non sélectifs inhibent les deux iso-enzymes de la cyclooxygénase (COX) (COX-1 et COX-2). L'expression de COX-1 intervient au niveau du tube digestif dans la synthèse de mucus et l'accroissement du débit sanguin muqueux qui permettent le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastroduodénale face à des agents érosifs (Takeuchi et al., 2002). Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 ont le but d'inhiber sélectivement la production de prostaglandines au niveau du site inflammatoire (fig. 8) (Ferraz et al., 1997).



**Figure 8:** Mode d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Lamarque, 2001).

- **L'indométacine**

Un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien, fréquemment prescrit pour réduire la fièvre, la douleur, et l'inflammation et considéré comme étant l'AINS le plus agressif. En effet, l'indométacine a la propriété d'inhiber la cyclooxygénase (COX-2) empêchant ainsi la biosynthèse des prostaglandines et par conséquent la sécrétion du mucus (Arun Ray *et al.*, 2002) ce qui induit des érosions au niveau gastrique. L'inflammation causée par ces érosions contribue à aggraver l'ulcère en activant les phagocytes et les leucotriènes qui produisent des radicaux libres par l'action de la 5-lipoxygénase sur l'acide arachidonique (Katzung, 2004).

De ce fait, la peroxydation lipidique produite par ces radicaux libres joue un rôle important dans l'aggravation de l'ulcère induit par l'indométacine (Naito *et al.*, 1995). L'indométacine peut aussi atténuer directement la surface de la barrière hydrophobique de la muqueuse gastrique due à sa capacité de se lier à des phospholipides membranaires (Lamarque, 2004).

- **L'acide gastrique (HCl)**

L'HCl est considéré comme un agent nécrotique important dans l'estomac, il est connu pour son induction de graves dommages gastriques, par une action nécrosante directe sur la muqueuse lorsqu'il est introduit, de manière exogène et en quantité excessive dans l'estomac

normal. L'HCl endogène dénature les protéines dans la membrane plasmique, et catalyse les groupements polysaccharidiques des protéoglycanes dans la couche de la muqueuse protectrice, recouvrant la surface luminale de l'estomac, induisant ainsi la fragilité de la muqueuse (Havsteen, 2002).

#### **I.9.4. Phytothérapie de l'ulcère gastrique**

Malgré l'efficacité des traitements médicamenteux, ces derniers présentent toujours un certain nombre d'effets indésirables d'où l'intérêt de la phytothérapie, la source alternative à base de plantes qui est de plus en plus utilisée pour traiter une grande variété de maladies dont l'ulcère gastrique (Lakshmi Srinivas et al., 2013). Parmi les plantes utilisées pour traiter l'ulcère gastrique on cite, l'*Elettaria cardamomum* (Lesur et al., 2000). Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes et anti-ulcères comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols en raison de leur diversité d'effets thérapeutiques (Sumbul et al., 2011 ; Boros et al., 2010 ; Santangelo et al., 2007).

#### **I.9.5. Activité anti-ulcéreuse des polyphénols de plantes**

Les polyphénols agissent au niveau du tractus gastro-intestinal soit comme agent antiulcéreux, anti-sécrétoire ou agents anti-oxydants. Les flavonoïdes (la quercétine et la naringénine), les tanins et les coumarines jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection de la muqueuse gastrique des différentes lésions induites par plusieurs facteurs d'agression, tels que l'acide-éthanol, le stress et l'indométacine (Borrelli et Izzo, 2000) via plusieurs mécanismes impliquant :

- La chélation des ions métalliques ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ )
- L'inhibition de la peroxydation lipidique par scavenger des radicaux libres
- La stabilisation membranaire (Czinner et al., 2001).
- L'inhibition de la production de pepsinogène (Alanko et al., 1999).
- L'altération du métabolisme de glutathion qui est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress

oxydant. En effet, le GSH réagit très rapidement avec les EOA pour former le GSSG, plus la valeur de ce rapport est basse, plus le stress oxydant est élevé (Haleng *et al.*, 2007).

- L'inhibition de l'influx  $Ca^{2+}$  et inhibition de l'activité nucléase, puisque le  $Ca^{2+}$  dépend de l'oxyde nitrique synthase (Nos) en produisant le NO qui provoque les radicaux libres en augmentant le risque de formation des ONOO- (Hernandez Muñoz *et al.*, 2006).
- L'inhibition de la production des leucotriènes (Nkhili, 2009).
- L'augmentation de la production du mucus (Nkhili, 2009). Ce dernier est caractérisé par un film formé par la polymérisation des glycoprotéines qui permet d'emprisonner les bicarbonates, de retarder la pénétration des ions  $H^+$  endolumineux et d'instaurer ainsi un gradient de pH allant de moins de 3 au niveau de la face luminale de cette couche, à plus de 7 sur la face muqueuse (Kamguia *et al.*, 2011).

#### **I.10. Le cancer et la cytotoxicité**

Les produits naturels ont attiré l'attention de nombreux chercheurs ces dernières années en tant qu'agents antimicrobiens complémentaires et alternatifs (Calo *et al.*, 2015). Des huiles essentielles, des extraits bruts et des produits purs obtenus de différentes plantes ont été testés pour plusieurs activités (antibactérienne, antivirale, estrogénique, anti-coagulante, anticancer, etc...) (Maggi *et al.*, 2009 ; Zhou *et al.*, 2000 ; Ikeda *et al.*, 2002).

Certains composés ont montré des activités chimiopréventives ou cytotoxiques vis-à-vis de plusieurs lignées cancéreuses. Dans cette partie, nous présenterons les composés étudiés pour les activités chimiopréventives et cytotoxique (Kogure *et al.*, 2004).

Le cancer est un groupe complexe et multiforme de maladies caractérisées par une croissance cellulaire incontrôlée, une invasion tissulaire locale et des métastases. Selon des statistiques récentes, le cancer représente environ 23% de tous les décès liés à la maladie aux États-Unis d'Amérique (USA). C'est la deuxième cause de décès après les maladies cardiaques, en particulier dans les pays en développement où l'on estime que l'impact du cancer sur la population correspond à environ 80% des 20 millions de nouveaux cas estimés pour 2025 (NICA, 2016). De nombreux agents anticancéreux synthétiques sont utilisés dans le traitement du cancer, ce qui a à son tour aggravé le risque d'effets secondaires chez les patients cancéreux (Manjunath *et al.*, 2020). L'utilisation d'huiles essentielles de plantes aromatiques à des fins diététiques et thérapeutiques a été au centre de la recherche en sciences

de la santé puisque les métabolites secondaires des plantes ont montré de faibles effets secondaires et une faible toxicité. (Kurapati *et al.*, 2012).

### **I.10.1. Le cancer et la cardamome**

L'utilisation de plantes médicinales a de solides antécédents de contribution au développement de médicaments, et il existe un large consensus sur le fait que le potentiel de nouveaux produits naturels à partir de plantes n'est pas épuisé et représente toujours une source importante pour le leadership dans la découverte de médicaments (Tabana *et al.*, 2016). La propriété antitumorale des huiles essentielles a été la source de recherches pour le développement de médicaments pour traiter différents types de cancer. La cardamome est l'ingrédient le plus courant de l'Ayurveda indien et de la médecine traditionnelle chinoise, et elle possède une vaste gamme de composés bioactifs (Padmakumari Amma *et al.*, 2010). Il est utilisé dans le traitement de la bronchite, de la voix rauque, de l'impuissance, des vomissements, de la tension artérielle, des vomissements, des lèvres sèches, de l'arythmie, de la diarrhée, des maux de dents et des saignements des gencives. La cardamome présente des qualités chimiopréventives et anticancéreuses, qui ont été suggérées pour réduire considérablement le diamètre et le poids des tumeurs et des papillomes. En Inde, le Kerala est le principal producteur de cardamome, responsable de 70% de la culture totale, suivi du Karnataka (20%) et du Tamil Nadu (10%) (Vutakuri *et al.*, 2018).

L'huile essentielle de capsules de cardamome dans des études *in vitro* a montré des effets anticancérogènes en inhibant les dommages à l'ADN adulte par l'aflatoxine B1 dans une réaction d'intermédiation enzymatique microsomale (Hashim *et al.*, 1994). Cela peut être dû à la présence de composants bioactifs dans l'huile essentielle qui ont des rôles anticancéreux potentiels. L'huile de cardamome a augmenté le glutathion les activités transférase et sulfhydryle soluble dans l'acide et arbitre l'oxydation et la détoxification des xénobiotiques (Banerjee *et al.*, 1994). Bhattacharjee et ses collaborateurs. (2007) ont rapporté que les constituants des composés phytochimiques de la cardamome tels que le 1, 8-cinéole et le limonène ont démontré un rôle protecteur contre le développement du cancer.

En outre, ils ont déclaré qu'un extrait aqueux de cardamome pourrait améliorer la l'activité de l'enzyme détoxifiante glutathion S-transférase et réduire la peroxydation lipidique. Elguindy

*et al.* (2018) ont déclaré que l'administration de la cardamome a provoqué une diminution significative de la créatinine sérique et de l'urée et de l'activité de la LDH la diéthylnitrosamine (DENNA) a induit un stress oxydatif chez le rat.

### **I.10.2. La cytotoxicité et la cardamome**

Les extraits de capsules de cardamome ont considérablement amélioré les effets cytotoxiques des cellules tueuses naturelles et ont indiqué leur potentiel anticancéreux (*Majdalawieh et Carr, 2010*). Selon *Raksamiharja et al. (2012)*, l'administration de la cardamome a augmenté la quantité de lymphocytes, chez les rats traités à la doxorubicine d'une manière dose-dépendante. De plus, *Elguindy et al. (2016)* ont rapporté que l'huile essentielle de cardamome ou le géraniol (200 mg/kg) diminuait le taux du facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ) et de l'interleukine (IL-1) chez les rats induits par la diéthylnitrosamine. Ces chercheurs ont également montré que la cardamome était un agent immunostimulant pour la chimiothérapie.

Les effets potentiels de la cardamome se sont également avérés être cytotoxiques, où il a été observé que les lignées cellulaires HCEC et HepG2 après le traitement CSNPs ont donné une viabilité cellulaire de 100% (*De Campos et al., 2004*). L'hémolyse ou la destruction des globules rouges est un aspect très important à prendre en compte pour les applications *in vivo* de tous les agents pharmaceutiques, car elle peut entraîner une anémie, une jaunisse et d'autres conditions pathologiques. Les nanoparticules de la cardamome se sont avérés être absolument non hémolytiques, rapportée par *Zhou et al. (2015)*.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### II.1. Le matériel végétal

Les fruits d'*Elettaria cardamomum*, « Hab el Hal », ont fait l'objet de cette étude. Ils ont été achetés secs auprès d'un herboriste à Mostaganem. Ces graines ont été identifiées par un botaniste. La matière végétale est broyée à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine puis mis dans des bocaux hermétique et conservé à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.

### II.2. Extraction d'*Elettaria cardamomum*

Broyer les graines d'*Elettaria cardamomum* en poudre, puis mettre 200 g de cette dernière en suspension avec 1000 mL d'éthanol (99%). Laisser le mélange se macérer à température ambiante pendant 72 heures à l'abri de la lumière. Après filtration par un papier Whatman N°1, l'extrait éthanolique récupéré a été concentré à l'aide d'un rota-vapeur à 60°C afin que l'éthanol soit évaporé. L'extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) sera récupéré dans un flacon obscure en verre et conservé à 4°C (fig. 9) Masoumi-Ardakani et al. (2017).



**Figure 9:** Protocole d'extraction d'*E. Cardamomum* Masoumi-Ardakani et al. (2017)

### **II.3. Composition chimique de l'extrait d'*E. Cardamomum* par HPLC/UV**

L'identification chimique des composés phénoliques de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance HPLC/UV selon le protocole de [Chaa et al. \(2019\)](#). Le chromatogramme utilisé est de type Agilent 1100, en utilisant une colonne de poroshell Agilent 120EC (100 mm x 2,1 mm, 2,7 um) pour la séparation, avec des phases mobiles: eau / TFA / acide formique (99: 0,25: 0,75) (A) et acétonitrile (B). L'élution a été effectuée à un débit de 0,6 mL/min avec une aliquote de 10 µL et à une température de 55 ° C. Le gradient d'élution est comme suit (t / min,% B): (0, 0), (1, 10), (2, 12,5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), (14, 0) avec post 5 min. Les chromatogrammes ont été enregistrés à 270 et 320 nm.

Les différents composants de la cardamome à analyser ont été identifiés par comparaison des temps de rétention et des spectres UV- visible avec ceux des étalons (acide trans-cinnamique, acide gallique, acide benzoïque, acide férulique, acide m-coumarique, acide caféique, acide rosmarinique et acide ellagique), des flavonoïdes (catéchine, hespéridine, thymol, galangine, tectochrysin, pinocembrine, acacétine, rutine, chrysin, apigénine, kaempférol et quercétine) et d'autres composés (acide ascorbique, menthol).

L'échantillon a été préparé en diluant l'EEC avec du méthanol à 1: 100 (v / v). Les étalons ont été dissous dans du méthanol pour donner des solutions mères à 1 mg/mL. La quantification des constituants a été déterminée à l'aide de courbes standard exprimées en mg pour 1 g de cardamome brute.

### **II.4. Activité antioxydante *in vitro***

#### **II.4.1. Dosage des polyphénols totaux**

**Principe :** Le dosage des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été effectué selon la méthode décrite par [Singleton et al. \(1999\)](#) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution acide jaune (Ac) contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe bleu.

**Procédure :** mélanger 0.5 mL d'extrait éthanolique d'EEC avec 5 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif Folin-Ciocalteu. Laisser incuber pendant 3 min à température ambiante, puis ajouter 0.5 mL de la solution du carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 10% (P/V), une heure après l'incubation à la température ambiante, l'absorbance est lue à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux de type SHIMADZU UV-2401PC contre un blanc sans extrait (eau distillée dans un même volume réactionnel).

Le taux de polyphénols totaux dans l'extrait a été calculé à partir d'une droite d'étalonnage linéaire établie avec des concentrations d'acide gallique, comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de cardamome (EAG/g).

#### **II.4.2. Dosage des flavonoïdes**

**Principe :** Le dosage de flavonoïdes dans l'extrait EEC a été effectué selon le protocole de [Woisky et Salatino \(1998\)](#), en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) comme réactif. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'un complexe de couleur jaune ; due à la formation d'une liaison entre l' $\text{AlCl}_3$  et les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes, dont l'absorption s'ajuste à 430 nm.

Une extrapolation est effectuée sur une droite d'étalonnage établie avec plusieurs concentrations connues de quercétine, afin de déterminer la quantité des flavonoïdes d'extrait EEC.

**Procédure :** 1 mL d'extrait de cardamome est mélangé à 1 mL de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (2%) (P/V), après leur réaction pendant 30 min à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est lue contre un blanc à 430 nm. La quercétine est utilisée pour tracer la courbe d'étalonnage.

La teneur en flavonoïdes contenue dans l'extrait EEC est calculée à partir d'une droite d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions réactionnelles que l'échantillon. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de cardamome brute (EQ/g).

### II.4.3. La peroxydation lipidique

**Principe :** L'inhibition de la peroxydation lipidique a été mesurée selon le protocole de [Yagi et al. \(1976\)](#). Le principe de ce dosage repose sur la formation d'un pigment en couleur rose d'un milieu réactionnel entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA).

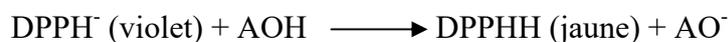
**Procédure :** Mélanger 20 µL de plasma à 0.8 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, après agitation, 100 µL de solution d'acide phosphotungstique (10% : P/V) sont ajoutés. 5 min après l'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, centrifuger la solution résultante pendant 10 min à 1600 tours/min. Après élimination du surnageant, re-suspendre le culot dans 0.4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 60 µL d'acide phosphotungstique puis centrifugé de nouveau 10 min à 1600 tours/min. Le surnageant est éliminé et le culot résultant dissous dans 2 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif TBA (335 mg d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau + 50 mL d'acide acétique 99%). Le mélange résultant a été chauffé au bain-marie à 95 °C pendant 60 min. La solution a été refroidie et extraite par 2,5 mL de butanol. La fluorescence de la phase butanolique a été mesurée avec une longueur d'onde d'excitation à 515 nm, une longueur d'onde d'émission à 553 nm, 10 nm étaient glissière avec la coupure à 515 nm.

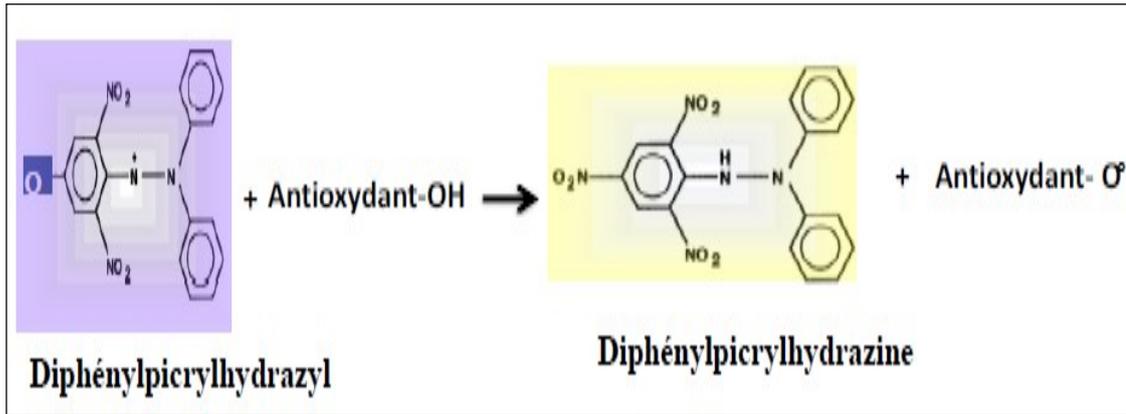
La quantité de la peroxydation lipidique a été exprimée en équivalent MDA à partir d'une courbe linéaire dessinée avec plusieurs concentrations de la tétraméthoxypropane (TMP) standard.

### II.4.4. Mesure du pouvoir antioxydant par DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

**Principe :** L'activité anti-radicalaire d'extrait EEC a été évaluée par le test du DPPH selon la méthode originale décrite par [Blois \(1958\)](#) et modifiée par [Brand-Williams et al. \(1995\)](#).

Le DPPH<sup>•</sup> (2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 515 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH<sup>•</sup> est réduit et change de couleur en virant au jaune ([fig. 10](#)). Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon.





**Figure 10:** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Mohammedi, 2013).

L'absorbance du mélange permet de déterminer le pourcentage de DPPH<sup>•</sup> résiduel à l'équilibre. Cette mesure est effectuée avec différentes concentrations d'extrait éthanolique de la cardamome (5, 10, 20 et 50 µg/mL).

Une concentration en AOH nécessaire pour réduire la moitié de la quantité en DPPH<sup>•</sup> initialement présente dans le milieu a été calculée et qui représente la concentration effective 50 (CE<sub>50</sub>) (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al.*, 1995).

**Procédure :** L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* par le DPPH est effectuée par la méthode décrite par Arnous *et al.* (2002).

Mélanger 0.025 mL d'extrait EEC à différentes concentrations (5, 10, 20 et 50 µg/mL) avec 0.975 mL de DPPH (60 µM), incuber la suspension pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, puis lire l'absorbance à 517 nm.

Les résultats d'absorbance obtenus ont été convertis en taux de pouvoir anti-radicalaire (% RSA ou Radical Scavenging Activity) de DPPH selon l'équation:

$$[\%RSA = (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_E) / Abs_{\text{contrôle}} \times 100]$$

Les résultats sont souvent apportés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique.

## **II.5. Etudes *in vivo* de quelques activités biologiques**

### **II.5.1. Animaux et conditions d'hébergement**

Dans les quatre présentes expérimentations, un total de 114 rats mâles Wistar albinos d'un poids de  $110 \pm 10$  g a été utilisé. Les rats ont été fournis par l'institut Pasteur d'Alger (Algérie).

Dès leur réception, les rats ont été mise aléatoirement dans des cages métaboliques par groupes de six dans chaque cage pour une période d'adaptation de 2 semaines à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité. Les rats ont un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de la société de production des aliments pour animaux, Bouzaréa, Alger) et à l'eau. Le protocole est conforme aux lignes directrices du National Institute of Health (NIH-USA).

## **II.6. Activité antioxydante *in vivo* sur des rats Wistar**

### **II.6.1. Protocole de traitement des animaux**

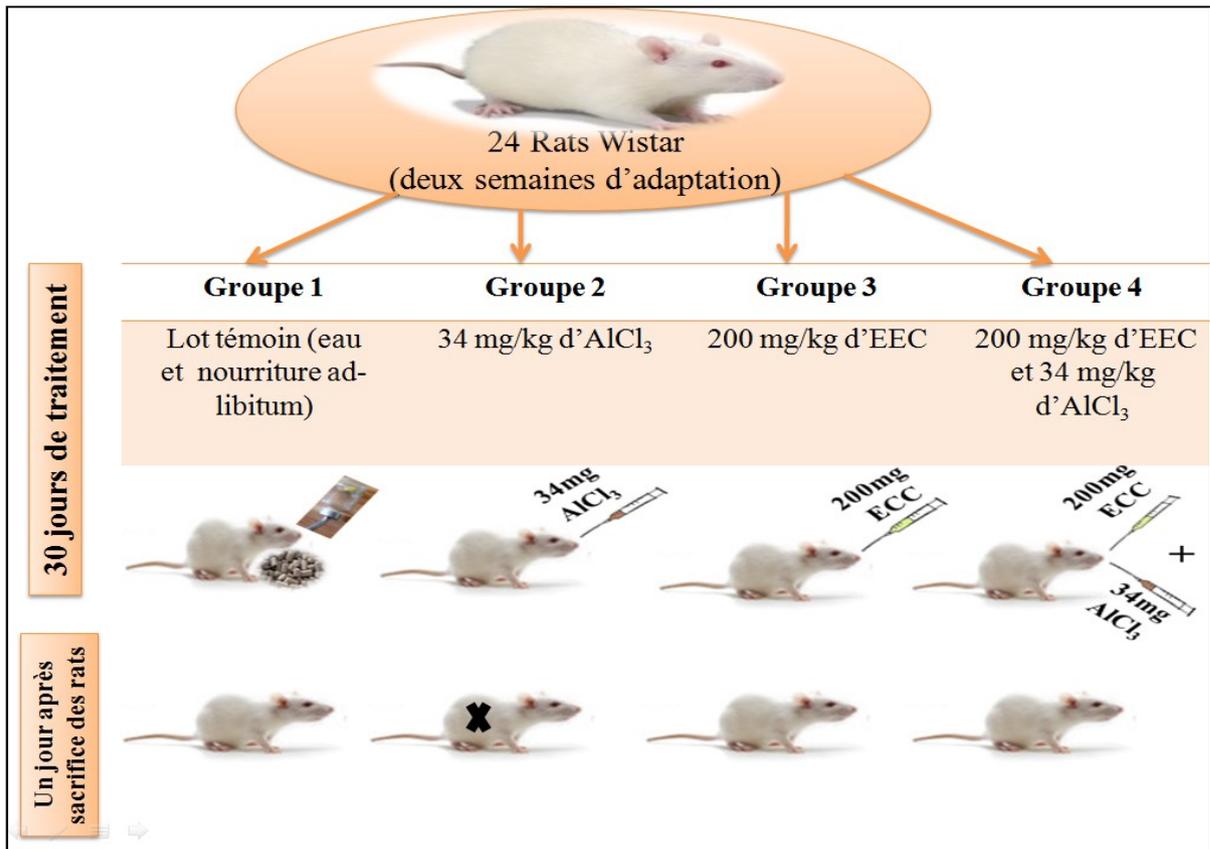
Après la période d'acclimatation, le protocole est le suivant ;

**G1** : a été utilisé comme témoin négatif ;

**G2** : les rats ont reçu uniquement 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  par gavage pendant 30 jours ;

**G3** : ont reçu 200 mg/kg d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) par gavage durant 30 jours ;

**G4** : ont été administré par 200 mg/kg d'extrait EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  par gavage voie orale pendant 30 jours (fig. 11).



**Figure 11:** Schéma récapitulatif du protocole expérimental

Après 30 jours de traitement, les rats ont été mis à jeun pendant 12 heures avant la collecte du sang. Maintenir les rats sous une légère anesthésie (un coton imbibé de chloroforme), puis collecter des échantillons de sang par ponction cardiaque dans des tubes sec, héparine, EDTA et citrate. Une centrifugation à 1000 tr/min pendant 20 min a été effectuée sur les tubes de sang afin d'obtenir le sérum et le plasma. Les culots restants ont été lavés trois fois les culots restants (du tube sec) avec du sérum physiologique, ajouter l'eau distillée glacée et incubé pendant 15 min dans la glace afin de lyser les cellules. Eliminer les débris cellulaires par centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 min et récupérer le lysat pour doser les enzymes oxydantes dans les érythrocytes.

Après dissection des rats, leurs cœurs, poumons, foies et reins ont été soigneusement prélevés, examinés, rincés rapidement avec une solution de NaCl à 0.9% glacée. Après l'exérèse, les échantillons d'organes sont conservés dans du formol à 10 % à température ambiante pour l'étude histologique.

## **II.6.2. Analyse des paramètres sériques**

### **II.6.2.1. Dosage du glucose**

La glycémie a été déterminée par une méthode enzymatique (Hexokinase /G-6-PDH) en utilisant le Kit de réactif de glucose (Biomérieux, France).

**Principe :** Le glucose est phosphorylé par l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ions de magnésium; tout en produisant du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) oxyde en particulier le G-6-P en 6-phosphogluconate avec réduction simultanée du cofacteur enzymatique Hexokinase nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).

Pour chaque micromole de glucose consommée ; une micromole de NADH est produite. Le NADH produit, absorbe la lumière à 340 nm et cette augmentation de l'absorbance peut être détectée par spectrophotométrie.

### **II.6.2.2. Dosage de l'albumine**

Le dosage de l'albumine est effectué par la méthode colorimétrique (Kit Biolabo, France). La réaction de l'albumine avec le vert de bromocrésol en milieu acide, donnant lieu à un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda=630$  nm d'où la lecture s'effectue.

### **II.6.2.3. Dosage de la bilirubine**

Le dosage de la bilirubine est réalisé suivant la méthode de [Pearlman et Lee \(1974\)](#). La bilirubine est transformée par l'acide sulfanilique diazoté en azobilirubine, composée colorée qui peut être mesurée par photométrie. Des deux fractions de la bilirubine dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre qui est fixée à l'albumine, seulement la première réagit directement, tandis que la bilirubine libre réagit après avoir été déplacée de la protéine par un accélérateur (bilirubine totale). L'intensité de la coloration est mesurée à 578 nm, elle est proportionnelle à la concentration de l'échantillon.

### **II.6.2.4. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)**

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France).

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH. Lecture à 340 nm [Wróbleswski et La Due, \(1956\)](#).

#### **II.6.2.5. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)**

Le dosage de l'aspartate aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France).

L'aspartate aminotransférase (ASAT) fait partie d'un groupe d'enzyme, aminotransférase ou transaminase, qui catalyse la transformation réversible d'acide  $\alpha$ -cétonique en acide aminé par transfert de groupe amine. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de cette enzyme dans le sang, calculée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340 nm ([Bergmer et al. 1977](#)).

#### **II.6.2.6. Dosage de l'urée**

L'urémie a été déterminée par la méthode calorimétrique enzymatique (Kit Chronolab, System) ([Berthelot, 1998](#)). L'urée présente dans l'échantillon donne en présence d'uréase et de nitroprussiate un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie à 580 nm.

#### **II.6.2.7. Dosage de la créatinine**

Le dosage de la créatinine a été déterminé selon une méthode cinétique colorimétrique décrite par ([Whelton et al., 1994](#)).

La créatinine est déterminée par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany). La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré. La vitesse de formation de ce complexe est mesurée dans des périodes initiales courtes, en évitant ainsi l'interférence avec d'autres composés. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda=500$  nm.

#### **II.6.2.8. Dosage du cholestérol total**

La cholestérolémie totale a été dosée par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany), sous l'action de deux enzymes ; la cholestérol estérase et la cholestérol oxydase.

**Principe :** Ces dernières dégradent les esters de cholestérol et le cholestérol libre en cholesténone et le peroxyde d'hydrogène formé réagit alors avec le phénol en présence de peroxydase. Le phénol utilisé est la 4-aminoantipyrine et entraîne une coloration rouge de la solution, qui absorbe à 512 nm, et est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol.

#### **II.6.2.9. Dosage des triglycérides**

La triglycéridémie a été réalisée suivant une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany) dans le plasma et les différentes fractions lipoprotéiques.

**Principe :** Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases en glycérol et acides gras libres. L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'onde de 505 nm. La concentration en quinoneimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présente dans l'échantillon.

#### **II.6.3. Détermination du statut antioxydant.**

##### **II.6.3.1. Dosage du malonaldéhyde (MDA)**

Le taux de malondialdéhyde (MDA), marqueur de la peroxydation lipidique, a été déterminé au niveau plasma par la méthode décrite [Yagi et al. \(1997\)](#).

**Principe :** 20 µL de plasma sont mélangés à 0.8 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après agitation, 100 µL de solution d'acide phosphotungstique (10% : P/V) sont ajoutés. Centrifugation de la solution résultante 10 min à 1600 tours/min après avoir été laissée 5 min dans l'obscurité. Le culot est re-suspendu dans 0.4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> additionnés de 60 µL d'acide phosphotungstique puis centrifugé de nouveau 10 min à 1600 tours/min avec élimination du surnageant. Le culot résultant est dissous dans 2 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif TBA (335 mg d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau + 50 mL d'acide acétique 99%). Après un traitement acide à chaud (95 °C /60 min), la solution est refroidie puis additionnée à 2,5 mL de butanol. L'absorbance a est déterminée sur la phase butanolique fluorescente à 553 nm. La concentration du MDA est déduite à partir d'une courbe linéaire établie avec plusieurs concentrations de tétraméthoxypropane (TMP) standard.

### **II.6.3.2. Dosage l'activité enzymatique de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)**

L'activité de la catalase est déterminée dans l'érythrocyte selon la méthode de [Lück \(1965\)](#), par la mesure du taux de décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Principe :** Le dosage s'effectue sur 1 de surnageant d'érythrocytes. 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 1 mL de tampon phosphate (50 mMol/L, pH 7.4) et 2 mL de catalase (3 U/μL) sont ajoutés, la solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 min. Après addition de 1 mL du réactif sulfate d'oxyde de titane (TiOSO<sub>4</sub>) (1,7 g dans 500 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N). L'absorbance est lue à 240 nm. Les concentrations en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restant sont déterminées à partir d'une gamme d'étalon de la solution de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0.5 à 2 mM/L.

### **II.6.3.3. Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)**

L'activité érythrocytaire de la SOD a été déterminée par la méthode d'[Elstner et al. \(1983\)](#).

**Principe :** Le principe repose sur la production de l'ion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) par l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de MnCl<sub>2</sub> et de mercaptoéthanol.

Le NADPH, s'oxyde en présence des ions superoxyde dans le milieu. L'inhibition de l'oxydation du NADPH est provoquée une fois la SOD est additionnée au milieu réactionnel. 5 μL de surnageant, 10 μL de tampon phosphate et 100 μL de réactif 1 sont incubés avec 10 μL de NADPH pendant 15 min à température ambiante. Puis 100 μL de réactif 2 sont ajoutés. La lecture se fait à 540 nm, après incubation de 20 min. La gamme d'activité enzymatique est réalisée avec la SOD étalon. Les résultats sont exprimés en U/cg Hb.

### **II.6.3.4. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)**

L'activité de la glutathion peroxydase a été déterminée selon la méthode de [Paglia et Valentine \(1967\)](#).

**Principe :** La GPX catalyse l'oxydation du glutathion réduit (GSH) par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), en présence de glutathion réductase (GR) et de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH).

Du GR exogène (c'est-à-dire n'appartenant pas au sujet) est utilisé pour régénérer le glutathion réduit par l'oxydation du NADPH en NADP<sup>+</sup> :

La quantité du NADP<sup>+</sup> formée sera suivie à 405 nm. Ainsi, on peut déterminer la quantité du GSSG formée et par la suite l'activité de la GPX. Les résultats ont été calculés en U/g Hb.

## **II.7. Activité anti-inflammatoire *in-vivo* sur des rats wistar**

A fin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), deux modèles d'inflammation ont été utilisés dans l'étude *in-vivo*, à savoir ;

- Une inflammation de l'œdème de la patte induite par la carragénine ;
- Une inflammation du péritoine induite par la carragénine.

### **II.7.1. L'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur l'œdème de la patte**

L'activité anti-inflammatoire d'extrait éthanolique EEC a été réalisée selon la méthode décrite par [Alaoui et al. \(1998\)](#). Pour ce faire, l'inflammation a été provoquée par l'injection intradermique de la de carragénine (1%).

Après 2 semaines d'acclimatation, les rats ont reçu par gavage comme suit :

**G1** : 1 mL d'eau physiologique pendant 15 jours ;

**G2** : 1 mL d'eau physiologique pendant 15 jours ;

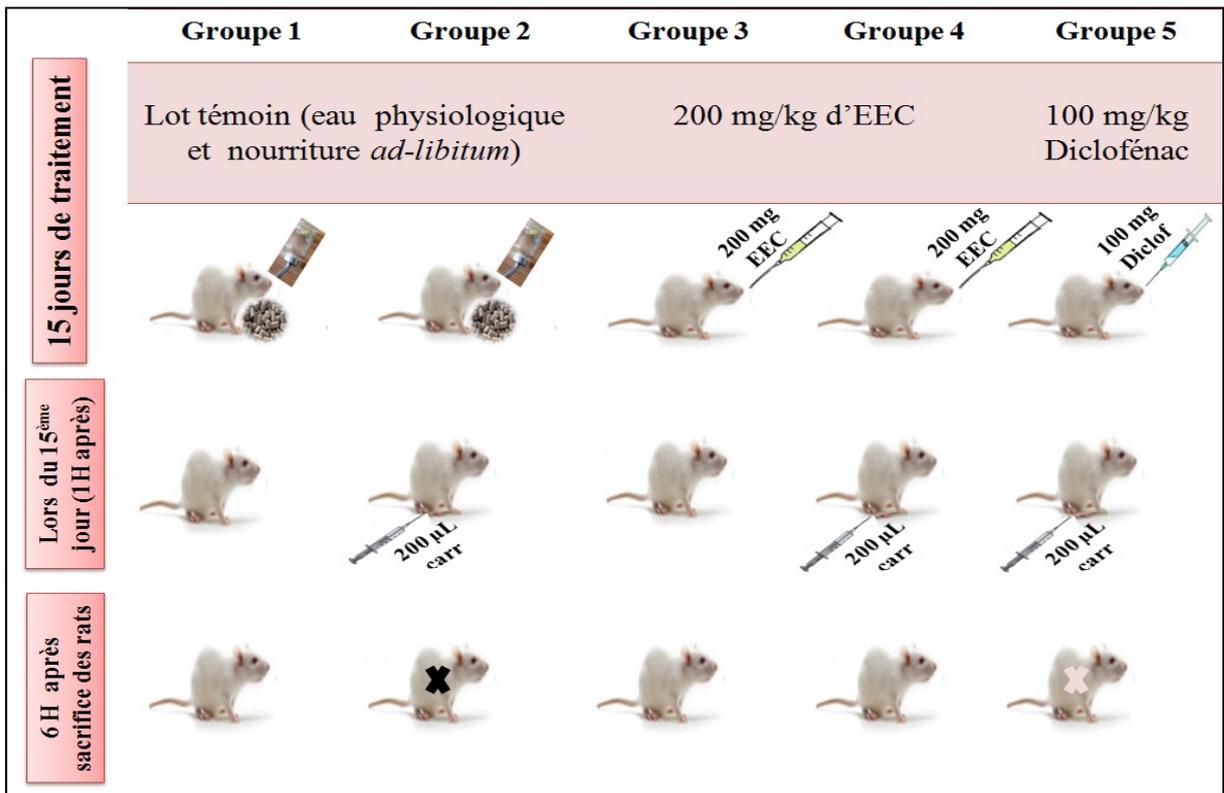
**G3** : 1 mL d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (200 mg/kg) pendant 15 jours ;

**G4** : 1 mL d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (200 mg/kg) pendant 15 jours ;

**G5** : 1 mL de diclofénac (100 mg/kg) pendant 15 jours.

Au 15<sup>ème</sup> jour de traitement, et 1h plus tard, les rats des groupes G2, G4 et G5 ont reçu une injection (intradermique) de 200 µL de carragénine à raison de 1% (dans l'eau physiologique stérile) sur la patte arrière droite. Le groupe témoin (G1) a reçu le même volume de véhicule (l'eau physiologique stérile) ([fig.12](#)) ([Vasudevan et al., 2006](#)).

Le diamètre de l'œdème de la patte a été mesuré avant et toutes les heures pendant 6 heures à l'aide d'un pléthysmomètre digital (DIGITAL CALIPER) pour déterminer l'effet anti-inflammatoire d'*Elettaria cardamomum* sur l'œdème.



**Figure 12:** Schéma illustratif du protocole expérimental de l'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur l'œdème de la patte

Après la dernière mesure de l'œdème de la patte (6h), les rats ont été mis en contact avec une légère anesthésie de chloroforme (afin d'éviter tout risque de changements de paramètres biochimiques) avant d'être sacrifiés.

Le sang est prélevé par ponction cardiaque dans des tubes secs et des tubes héparinés, afin de récupérer le sérum, le plasma et les érythrocytes.

Tandis que les pattes ont été récupérées ; découpées et conservées dans du formol à 10 % (annexe 1) à température ambiante pour l'étude histologique.

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du diamètre de la patte de rat suivant la formule (Nongoniermar et al., 2006) :

$$\%AUG = (D_n - D_0) \times 100 / D_0$$

$D_n$  : diamètre de la patte la  $n^{\text{ème}}$  heure après l'injection de la carragénine.

$D_0$  : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

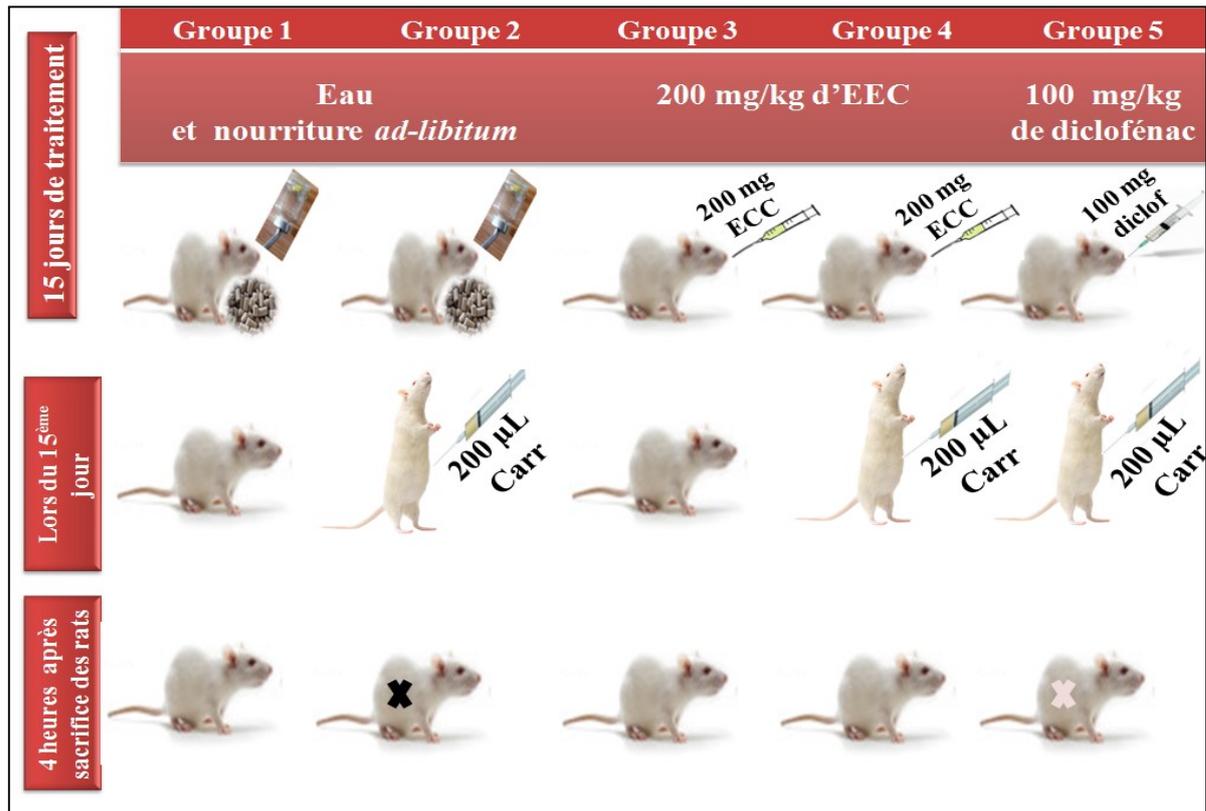
L'activité anti-inflammatoire d'extrait EEC a été exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème pour chaque groupe de rats selon la formule suivante (Nongoniermar et al., 2006) :

$$\%INH = (\%AUG_{\text{témoin}} - \%AUG_{\text{traité}}) \times 100 / \%AUG_{\text{témoin}}$$

## **II.7.2. L'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur la péritonite induite par la carragénine**

Après la période d'adaptation, les rats du G1 et G2 ont reçu 1 mL d'eau physiologique, ceux du G3 et G4 ont reçu 1mL d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (200 mg /kg), tandis que les rats du G5 ont reçu 1mL de diclofénac (100 mg/kg). Ce traitement a duré 15 jours (Vasudevan et al., 2006).

Au dernier jour de l'expérimentation (15<sup>ème</sup> jour), et 1h après la prise du traitement, les rats du groupe G2, G4 et G5 ont reçu une injection intra-péritonéale (*i.p*) de 200  $\mu$ L de carragénine à raison de 1% afin d'induire l'inflammation au niveau du péritoine (fig. 13) (Prekar et al., 2015).



**Figure 13:** Schéma descriptif du protocole expérimental de l'effet anti-inflammatoire de la cardamome sur la péritonite induite par la carragénine

4h après l'induction de l'inflammation par la carragénine, les rats ont été maintenus sous une légère anesthésie de chloroforme avant d'être sacrifiés. Le sang a été récupéré par ponction cardiaque dans des tubes secs, héparine, EDTA et citrate.

Le foie, les reins et la rate ont été récupérés, rincés avec l'eau physiologique et conservés dans le formol (10 %) à une température ambiante pour l'étude histologique.

### II.7.3. Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage de glucose et de l'albumine de ces deux modèles expérimentaux d'inflammation a été réalisé selon la méthode enzymatique (Hexokinase /G-6-PDH, Biomérieux, France) et la méthode colorimétrique (Kit Biolabo, France) respectivement. Ce sont les mêmes techniques utilisées dans l'étude de l'activité antioxydante *in-vivo*.

#### II.7.3.1. Dosage de protéines totales

Le dosage est réalisé selon la méthode colorimétrique (réaction de Biuret) en utilisant le réactif de Biuret et le réactif de Gornall.

Le composé de cuivre est ; (réactif de Gornall, composé de : sulfate de cuivre, qui donne la coloration bleu du réactif due aux ions cuivre, solution d'hydroxyde de sodium à 0,2 mM, qui rend le milieu basique, tartrate double de sodium et de potassium, qui chélate les ions  $\text{Cu}^{2+}$  et évite leur précipitation en milieu basique sous forme d'hydroxyde de cuivre  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  insoluble et l'iodure de potassium, pour éviter la réduction des ions cuivriques avant le dosage). En milieu alcalin, les ions cuivriques se lient par coordination aux atomes d'azote des liaisons peptidiques des peptides et protéines. Ce complexe est d'autant plus violet (ou mauve) que la concentration en protéines est élevée. La longueur d'onde d'absorption du complexe est 540 nm (Gornall et al., 1949). Un temps d'attente d'environ 30 min est nécessaire pour le développement de la couleur.

### **II.7.3.2. Dosage de fibrinogène**

Le dosage de fibrinogène repose sur une technique qui est basée sur les travaux de Von Clauss, (1957) et validée par Destaing et al. (1960).

La mesure est effectuée par méthode fonctionnelle chronométrique basée sur la mesure du temps de thrombine (TT). En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma contenant une faible concentration de fibrinogène est proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique. Le réactif est de la thrombine calcique titrée (100 unités NIH/ml) contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine (fibriprest Automate).

### **II.7.4. Détermination du statut antioxydant**

Les modes opératoires des différents dosages du malonaldéhyde (Yagi et al., 1997), l'activité enzymatique de la catalase (Lück, 1965), l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (Elstner et al., 1983) et l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (Paglia et Valentine, 1967) sont identiques à ceux présentés dans l'étude de l'activité antioxydante *in vivo*.

### **II.7.5. Dosage des bio-marqueurs inflammatoires**

#### **II.7.5.1. Dosage de la prostaglandine E2**

La concentration de la prostaglandine E2 (PGE2) est mesurée selon le protocole du Kit ELISA suivant une technique immuno-enzymatique d'inhibition compétitive.

Le dosage est basé sur la compétition entre PGE2 et le conjugué de PGE2 pour une quantité limitée d'anticorps monoclonal spécifique à PGE2 dirigés contre la PGE2 sur une microplaque. Comme la concentration de PGET est fixée et que la concentration de PGE2 est variable, le niveau de la peroxydase de raifort (HRP) qui peut se lier à l'anticorps PGE2 est inversement proportionnel à la concentration de PGE2 dans l'échantillon. Le complexe anticorps-PGE2 se lie à l'immunoglobuline G présente dans la plaque du kit ELISA. Ensuite, la microplaque est lavée et le réactif d'Ellman contenant le substrat pour que le conjugué sera ajouté. Le produit de la réaction enzymatique est nettement jaune et absorbe fortement la lumière à 412 nm. L'intensité de la couleur, est mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la quantité de PGET lié, et inversement proportionnelle à la concentration de PGE2 libre dans l'échantillon.

#### **II.7.5.2. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ )**

Le dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF-alpha) se fait sur l'homogénéat tissulaire hépatique selon le protocole du Kit ELIZA. Le TNF- $\alpha$  est une cytokine qui repose sur la mise en évidence des complexes antigènes-anticorps par un marqueur enzymatique lui-même relevable par la transformation d'un substrat en produit coloré.

Le dosage est basé sur l'utilisation de deux anticorps : un anticorps monoclonal anti-TNF- $\alpha$  et un anticorps conjugué à la biotine. Un revêtement d'anticorps monoclonal anti-TNF- $\alpha$  est appliqué dans les micropuits de la plaque ELISA afin que TNF- $\alpha$  animale présente dans l'échantillon où le standard, se lie aux anticorps adsorbés dans les micropuits. L'anticorps anti-TNF- $\alpha$  conjugué à la biotine est ajouté et se lie à TNF- $\alpha$  capturé par le premier anticorps. L'anti-TNF- $\alpha$  conjugué à la biotine non lié est éliminé durant l'étape de lavage. La Streptavidine -HRP est ajoutée et se lie à l'anti-TNF- $\alpha$  conjugué à la biotine. Pour l'incubation suivante, la Streptavidine-HRP non lié est supprimée pendant le lavage, et la solution de substrat réagissant avec le HRP est ajoutée aux puits. Proportionnellement à la quantité des TNF- $\alpha$  présents dans l'échantillon, un produit coloré est formé. La réaction est terminée par l'addition de l'acide phosphorique et l'absorbance est mesurée à 450 nm. La courbe d'étalonnage est préparée à partir du standard TNF- $\alpha$  fourni par le Kit dosage.

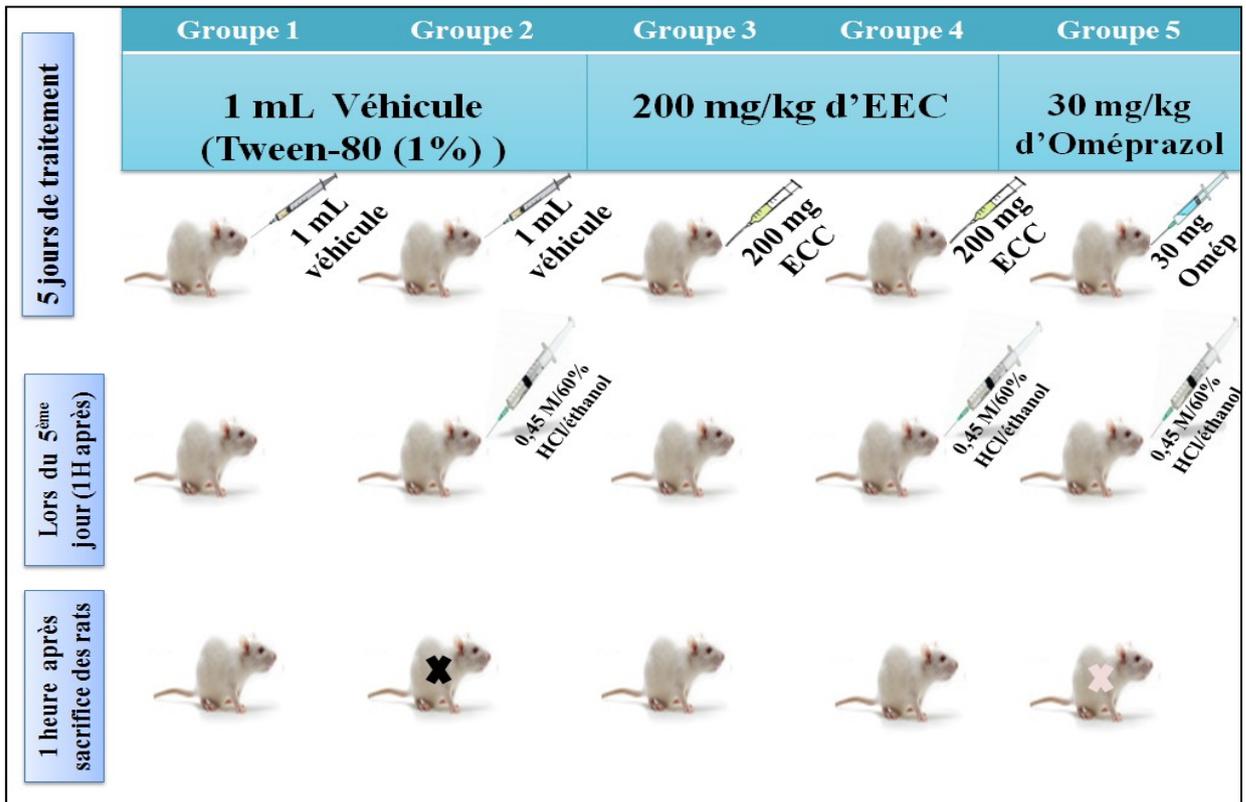
## **II.8. Activité anti-ulcère de la cardamome**

### **II.8.1. Protocole de traitement des animaux**

Après la période d'adaptation, quotidiennement et pendant 5 jours, les rats du premier et deuxième groupe (G1 et G2) reçoivent 1 mL de Tween-80 (1%) par voie orale; tandis que les animaux du groupe G3 et G4 ont reçu par voie orale 1 mL de 200 mg/kg d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et ceux du groupe G5 ont été administrés par 1 mL 30 mg/kg d'oméprazol.

Au 5<sup>ème</sup> jour, une heure après la dernière prise du traitement, les rats des groupes G2, G4 et G5 ont reçu par voie orale 10 mL d'une solution de HCl/éthanol (0,45M/60%) afin d'induire un ulcère gastrique (Martins *et al.*, 2014) (fig. 14).

1 h après l'administration de HCl/éthanol, les rats ont été sacrifiés avant la collecte du sang. L'estomac a été retiré et ouvert le long de la plus grande courbure, puis rincé doucement avec de l'eau physiologique pour éliminer le contenu gastrique et les caillots sanguins. Une partie de l'estomac a été mise dans le formol (10%) pour l'étude histologique, et la seconde partie a été conservée dans le PBS pour mesurer la lésion gastrique. La zone de lésion de la muqueuse gastrique chez chaque animal a été calculée et exprimée en pourcentage (%) par rapport à la surface totale de l'estomac à l'aide d'un microscope Morsy *et al.* (2012).



**Figure 14:** Schéma descriptif du protocole expérimental de l'activité anti-ulcère de la cardamome

Les échantillons de sang ont été recueillis dans des tubes secs, héparines et EDTA pour analyser les paramètres biochimiques. Les érythrocytes ont été récupérés afin d'analyser les enzymes antioxydantes.

### II.8.2. Détermination du malonaldéhyde

Le dosage érythrocytaire du malonaldéhyde (MDA) a été réalisé selon le protocoles cité préalablement au-dessus.

### II.9. L'étude histopathologique

L'étude histologique a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'EHU d'Oran suivant le protocole de [Drury et Wallington \(1980\)](#).

A la fin des expérimentations de chaque étude *in-vivo*, des organes ont été récupérés afin d'observer et d'examiner les organes atteints comparativement aux organes normaux

- (Cœur, poumons, foies et reins) suite à une toxicité induite par le chlorure d'aluminium ;

- (Pattes) suite d'un œdème induit par la carragénine, (foie, reins et rate) après une péritonite provoquée par voie intra-péritonéale ;
- (Estomac) après une ulcère gastrique induit par l'HCl/éthanol.

Les divers organes prélevés sont soumis préalablement aux différentes étapes qui sont :

### **II.9.1. Préparation des échantillons.**

L'étape de la décalcification précède l'opération de la mise en cassettes, exceptionnellement pour les pattes des rats à cause de leur dureté.

#### **- Fixation**

La fixation est immédiate après le prélèvement afin d'empêcher toute putréfaction (altération microbienne) du tissu ou par autolyse (destruction tissulaire par les enzymes qu'il contient en lui-même), ainsi garder les constituants cellulaires ou tissulaires dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant. Le volume du fixateur doit être 20 à 50 fois celui du prélèvement. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). Les organes séjournent 24 à 48 heures dans le fixateur et doivent être totalement immergés (Coujard, 1980).

Dans notre cas, les organes sont fixés dans du formol à 10%, ce dernier est l'un des meilleurs fixateurs des protéines Cette technique nous a permis de conserver nos pièces pendant plusieurs semaines.

#### **- Décalcification**

La dureté du tissu osseux nécessite un traitement à l'aide d'agents chimiques permettant de chélater le calcium. La décalcification facilite l'obtention de coupes fines exploitables d'un point de vue microscopique. Durant cette étape on introduit les pattes dans une solution décalcifiante (980 ml de l'eau distillée + 20 ml de l'acide nitrique), pendant trois heures.

#### **- Mise en cassette**

De préférence un échantillon par cassette, en particulier pour les gros organes. On plonge une heure au minimum jusqu'à plusieurs jours les cassettes dans un récipient fermé de formol 10%, 10 fois le volume des prélèvements.

### **- Déshydratation**

La déshydratation permet l'élimination d'eau d'organes en les plongeant dans l'alcool pendant un temps suffisant à degré croissant : alcool à 70° (acétone I) pendant 45 minutes , alcool 90° pendant 45 minutes et alcool absolu 100° pendant 45 minutes.

Toutes les réactions ont lieu dans des bacs fermés hermétiquement dans un lieu bien aéré ou sous haute aspirante à une température ambiante sauf le paraffinage à 56 C° ensuite les blocs sont refroidis au congélateur.

### **- Clarification**

Un solvant de la paraffine est destiné à chasser l'alcool par trois bains successifs de toluène ou de xylène à 40°C pendant 2 h. Cette opération s'effectue après la déshydratation.

### **- Inclusion**

A la sortie du dernier bain de paraffine, l'échantillon est déposé dans la paraffine fondue vierge que l'on coule dans des moules (cassettes d'inclusions ou moules d'inclusion) ; puis on laisse refroidir la paraffine dans le congélateur. Le refroidissement de cette paraffine amène sa solidification en un bloc prêt à être coupé. La durée totale de l'opération d'inclusion est de 24 à 48 heures.

### **- La microtomie**

Le microtome permet d'obtenir des coupes dont l'épaisseur est de 3 à 5µm. La coupe proprement dite s'obtient par passage régulier de la pièce à couper devant la lame du microtome. Les coupes obtenues sont déposés sur des lames en verre préalablement nettoyées.

### **- Etalement des coupes sur les lames**

L'étalement des coupes se fait sur une lame de verre qui est recouverte d'une solution d'étalement (un blanc d'œuf ou de l'albumine +100ml glycine+450ml d'eau distillé) qui maintient la coupe sur la lame. Sur chaque lame est enregistré un numéro d'identification du bloc à l'aide d'un crayon diamanté. Puis ces lames sont placées sur une plaque chauffante (37°) afin de faciliter l'étalement, ensuite elles sont placées dans une étuve à 56°C pendant deux heures.

### **- Déparaffinages et hydratation**

La paraffine est hydrophobe tandis que les colorants sont hydrophiles. C'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de l'hydratation. Cette étape est assurée par une succession de bains, d'abord dans deux bains d'un solvant permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) et ceci durant 10 minutes à chaque bain.

Puis dans des alcools (éthanol) de titre décroissant, de 96° jusqu'à 50° durant 1 à 5 minutes à chaque bain, enfin rinçage à l'eau courante (1 minute) assurant l'hydratation finale.

### **- Coloration des lames**

Après l'hydratation, la coupe est colorée, le but de la coloration est de renforcer le contraste et de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires ainsi que les substances extrinsèques. Les lames ont été colorées à la coloration tri chromique hématoxyline, c'est la plus simple des colorations. En trempant les lames dans des bains d'hématoxyline, carbonate de lithium en rinçant de temps à autre avec de l'eau de manière successive.

### **- Déshydratation**

Il faut alors procéder à la déshydratation, opération inverse de celle menée au début, avant de pouvoir faire le montage, la déshydratation (éclaircissement) est réalisée en plongeant successivement les lames dans deux bains d'alcool de xylène et éthylique pendant 15 minutes afin d'éliminer l'eau présente dans les coupes.

### **- Montage des lames**

Après coloration une goutte d'une colle EUKITT ou baume de Canada de montage est disposée sur les coupes, une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de la manipulation, aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la mamelle.

Après le montage, les lames sont rangées dans des boîtes spécifiques à l'abri de la poussière. L'observation des lames se fait au microscope optique

## **II.10. Activité antimicrobienne *in vitro* de la cardamome**

### **II.10.1. Souches microbiennes et préparations de culture**

Dans cette étude, dix souches microbiennes choisies et utilisées en raison de leur degré de pathogénicité et de virulence. Quatre souches bactériennes gram-positives (*Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 et *Carnobacterium maltoaromaticum* 20722) et quatre souches bactériennes gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter sp* et *Schigella ssp*), de plus deux souches fongiques (*Candida albicans* ATCC 10231 et *Aspergillus niger* ATCC 106404).

Les souches ont été maintenues sur les inclinaisons d'agar de Mueller Hinton. L'activité antimicrobienne a été évaluée *in vitro*, par deux méthodes ; la méthode de diffusion par disques pour la détermination des diamètres des zones d'inhibition et la méthode des séries de dilutions pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

### **II.10.2. Méthodes de diffusion par disques**

Des boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton ont étéensemencées de manière aseptique avec 100 µL de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 10<sup>8</sup> UFC/mL. Après un repos de 15 min, des disques filtres (CT0998B, Oxoid. France) contenant différentes concentrations d'extrait d'*E. cardamomum* (12.5, 25, 50 et 100 µg/mL) ont été déposées sur la gélose de chaque boîte de pétri. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h en aérobiose. Après 24h d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle (Andrews, 2001).

### **II.10.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait de cardamome (EEC) a été déterminée par la technique de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement en milieu solide ; décrite par (Boufadi et al. 2016).

Dans un tube à essai stériles, des volumes variables d'EEC ont été ajoutés, de sorte que les extraits de gradient de concentration suivent une géométrie de progression de 2 et de 0 à 30 mg/mL. Chaque tube de l'une des séries est ensuite inoculé avec 1 mL d'un inoculum de 10<sup>8</sup> UFC/mL. Ensuite, tous les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 h. Un millilitre du

contenu de chaque tube a ensuite été inoculé dans un milieu solide. La concentration la plus faible qui inhibe complètement le germe d'essai est considérée comme la CMI.

## **II.11. Détermination de la cytotoxicité de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum***

### **II.11.1. Les lignés cellulaires utilisées**

Six lignées de cellules cancéreuses humaines ont été sélectionnées et utilisées pour déterminer l'activité cytotoxique de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Cancer du poumon cellules A549 humain (NSCLC) (code DSMZ ACC107), glioblastome humain U373 (code ATCC HTB-17), oligodendrogliome anaplasique Hs683 humain (code ATCC HTB-138), cancer du sein MCF7 humain (code ATCC HTB - 22), mélanome humain SKMEL-28 (code ATCC HTB-72) et HCT116 colorectal humain (code ATCC CCL-24). Ces cellules ont été achetées auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, USA) et de la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig, Allemagne). Les cellules ont été cultivées dans un milieu RPMI 1640 supplémenté avec 10% de sérum bovin foetal inactivé par la chaleur (FBS), 4 mM de glutamine, 100 µg/mL de gentamicine et 0.05 mL de pénicilline-streptomycine (200 U/mL et 200 µg/mL). Les cellules ont été cultivées à 37 ° C dans un incubateur humidifié à 5% de CO<sub>2</sub>.

Les cellules mononucléaires humaines (PBMC) et la lignée cellulaire cancéreuse U937 (ATCC CRL 1593) ont été cultivées dans du milieu RPMI 1640 (Gibco-BRL, Life Technologies Italia s.r.l. Milan, Italy), additionné de 10 % de sérum de veau foetal (SVF) (Grand Island, USA) et de 1% (v/v) L-glutamine et 1% (v/v) d'antibiotiques (Penicillin/streptomycin). 1 % (v/v) d'antibiotiques-antimycotiques à 37 °C et avec 5 % de CO<sub>2</sub>.

### **II.11.2. Evaluation de la toxicité**

La toxicité des extraits de polyphénols, capsaïcinoïdes et caroténoïdes de cardamome sur les six lignés cellulaires a été évaluée selon le test d'exclusion du bleu Trypan. Les six lignées cellulaires étaient maintenues dans le milieu RPMI 1640 pendant 72h avant l'addition de différentes concentrations d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* testé (0, 25, 50, 100, 200, 500 et 1000 µg/mL). Le nombre initial des cellules avant chaque manipulation était de l'ordre de 5×10<sup>4</sup> cellules/puit.

La lecture a été effectuée 24h après en utilisant le bleu de trypan qui donne une couleur bleu aux cellules mortes (Dinicola et al., 2012). Le pourcentage de cellules viables est estimé selon la formule :

$$\% \text{ de viabilité} = (\text{nombre total de cellules} - \text{nombre de cellules colorées}) / \text{nombre total de cellules} * 100$$

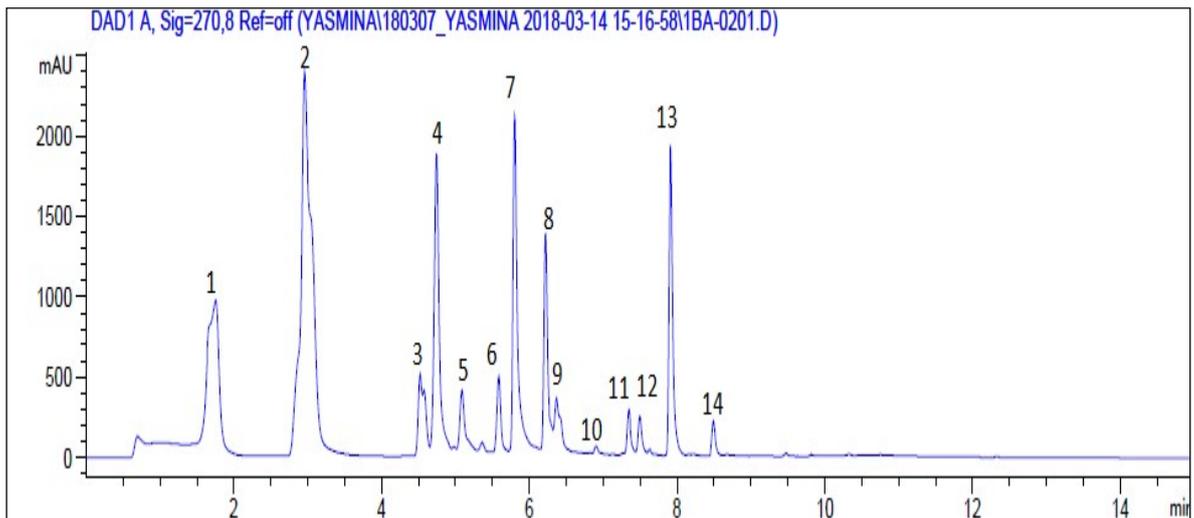
## **II.12. Analyse statistique**

Le logiciel SigmaStat (SPSS, 3.0, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) a été utilisé pour l'analyse statistique. Les données sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type et ont été évalués par ANOVA, avec le test post-hoc de Dunnett's. L'expérience portant sur l'étude *in Vivo* a été indépendamment répétée 6 fois dans un dispositif en randomisation totale. Les expériences *in vitro* ont été indépendamment répétées 3 fois dans un dispositif en randomisation totale. La différence est considérée significative à  $P < 0.05$

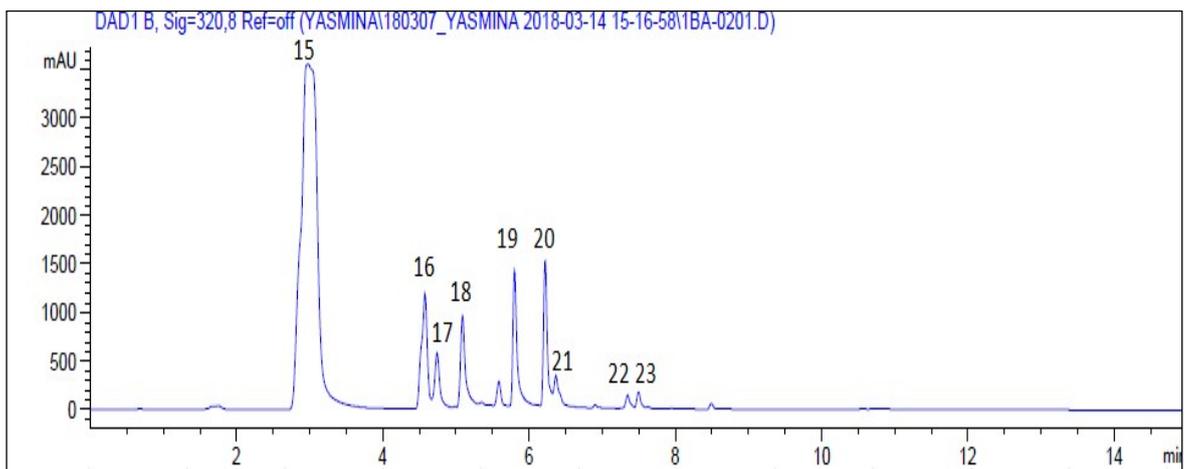
## Chapitre III : Résultats et discussion

### III.1. Identification de la composition chimique de la cardamome par HPLC/UV

L'analyse chromatographique par HPLC/UV a été réalisée sur deux longueurs d'ondes différentes à 270 et 320 nm dans le but d'identifier et quantifier les flavonoïdes et les acides phénoliques respectivement de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) (fig. 15 et 16).



**Figure 15:** Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* à une longueur d'onde de 270 nm.



**Figure 16:** Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* à une longueur d'onde de 320 nm.

La comparaison des temps de rétention de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* avec ceux des différents standards a révélé la présence de 23 composés phénoliques comme le [tableau 2](#) en illustre.

**Tableau 2:** Composition d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) par HPLC/UV (mg/ g).

Nombre du pic	Composé	Quantité (mg/g cardamome)	Temps de rétention (min)
1	Galangin	0.52	1.75
2	Catéchine	1.78	2.95
3	Bis quercentine méthylée	0.32	4.57
4	Quercétine	1.12	4.74
5	pinocembrine	0.22	5.08
6	Apigénine	0.31	5.58
7	Lutéoline	1.41	5.8
8	Kaempferol	0.79	6.21
9	Menthol	0.24	6.37
10	Acacétine	0.17	6.9
11	Chrysin	0.21	7.34
12	Vanilline	0.15	7.49
13	Myricétine	1.25	7.91
14	Thymol	0.12	8.49
15	Acide gallique	2.83	2.97
16	Acide rosmarinique	0.58	4.57
17	Acide ascorbique	0.22	4.74
18	Acide caféique	0.32	5.09
19	Acide férulique	0.80	5.8
20	Trans cinnamique	0.84	6.21
21	Acide tannique	0.13	6.39
22	Acide ellagique	0.10	7.34
23	Acide syringique	0.11	7.49

Selon les résultats obtenus, quatorze flavonoïdes ont été identifiés : galangin (1), catéchine (2), Bis quercentine méthylée (3), quercétine (4), pinocembrine (5), apigénine (6), lutéoline (7), kaempferol (8), menthol (9), acacétine (10), chrysin (11), vanilline (12), myricétine (13) et thymol (14) ; neuf acides phénoliques: acide gallique (15), acide rosmarinique (16), acide caféique (18), acide férulique (19), *trans*-cinnamique (20), acide tannique (21), acide ellagique (22) et acide syringique (23) et un acide organique : acide ascorbique (17).

La forte prédominance de la catéchine, la lutéoline et la myricétine est détectée comme étant les flavonoïdes majeurs de l'extrait de cardamome, avec une teneur de 1.78, 1.41 et 1.25 mg/g EEC, ils ont été apparus à un temps de rétention de ( $R_t=2.95$  min, 5.8 min et 7.91 min) respectivement. En outre, la teneur en acide phénolique la plus élevée était celle d'acide gallique (2.83 mg/g d'EEC) ( $R_t=2.97$  min). L'acide ellagique et l'acide syringique ont été trouvés à de faibles concentrations.

L'analyse phytochimique faite sur l'extrait aqueux des fruits d'*E. cardamomum*, a montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des sucres réducteurs, des stéroïdes et des phénols (Prabha et Anusha, 2015).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Masoumi-Ardakania *et al.* (2017), qui ont montré que l'extrait méthanolique des graines de cardamome contient des concentrations élevées en kaempferol, de rutine et de la quercétine.

D'après, Rahman *et al.* (2017), l'extrait éthanolique de cardamome se compose de : épicatechine, vanilline, acide *p*-coumarique, acide trans-férulique, acide ellagique. D'autres travaux de Hong *et al.* (2015) et Beltran-Ramirez *et al.* (2008) ont montré la présence de plusieurs composants phénoliques dans la graine de la cardamome comme ; l'acide gallique, l'acide caféique et 4,5-dicaffeoyl quinique.

Elguindy *et al.* (2016) ont dévoilé la présence des composés polyphénoliques dans l'extrait de cardamome analysé par HPLC/UV ; tels que, l'acide gallique, l'acide tannique, l'acide caféique et 4.5-dicaffeoyl quinique.

En outre, le 1,8-céine l'alphaterpinéol, le Protocatechualdéhyde et l'acide protocatechique présents dans les graines de cardamome ont montré une activité antioxydante et ont des avantages potentiels pour la santé en inhibant la peroxydation lipidique, rapporté par Kikuzaki *et al.* (2001) et Jessie *et al.* (2005).

## **III.2. Activité antioxydante *in vitro***

### **III.2.1. Teneur en polyphénols totaux d'EEC**

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* sont mentionnés dans le [tableau 3](#), indiquant que l'extrait possède une proportion très élevée en polyphénols totaux, qu'est de 245.92 mg EAG/g.

La teneur en polyphénols de notre étude reste nettement supérieure à celle trouvée par [Ninfali et al. \(2005\)](#) et [Souri et al. \(2008\)](#) sur des extraits méthanoliques de cardamome, qui atteignent des teneurs de 148 et 84.19 mg EAG/g, respectivement.

Une étude faite par [Bhatti et al. \(2010\)](#) a montré que les teneurs en polyphénols totaux d'extrait méthanolique d'*E. cardamomum* est, 1.66 mg EAG/100g. Ces teneurs apparaissent faibles voire nulles comparativement à nos résultats qui sont plus élevées.

Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi d'une plante à une autre, cela peut être expliqué par ; l'origine de la plante et la méthode d'extraction ([Djeridane et al., 2013](#)) ; la polarité des solvants d'extraction ([Gao et Liu, 2005](#)) ; dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage) ([Podsędek, 2007](#) ; [Falleh et al., 2008](#)).

En outre, Le dosage des polyphénols par le réactif de Folin Ciocalteu donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composées peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé ([Tawaha et al., 2007](#)) .

Ce test, basé sur une réaction d'oxydoréduction, peut être également considéré comme une méthode permettant d'évaluer l'activité antioxydante ([Prior et al., 2005](#)). De ce fait les extraits les plus riches en composées phénoliques peuvent être également considéré comme les plus antioxydants.

[Sharma et al. \(2004\)](#) ont rapporté que l'acide gallique est un polyphénol possède naturellement une forte activité antioxydante.

### **III.2.2. Teneur en flavonoïdes d'EEC**

Le dosage des flavonoïdes d'extrait EEC a permis d'obtenir les résultats qui sont présentés ci-dessous dans le [tableau 3](#).

Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* renferme une forte teneur en flavonoïdes de 167.37 mg EQ/g de cardamome.

Selon [Ho et al. \(2008\)](#) l'extrait méthanolique de Cardamome possède une teneur très élevée en flavonoïdes de l'ordre de 226 mg EQ/g.

Les résultats de retrouvés par [Bhatti et al. \(2010\)](#) ont montré que la teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique d'*E. cardamomum* est de 4.63 mg EQ/100g.

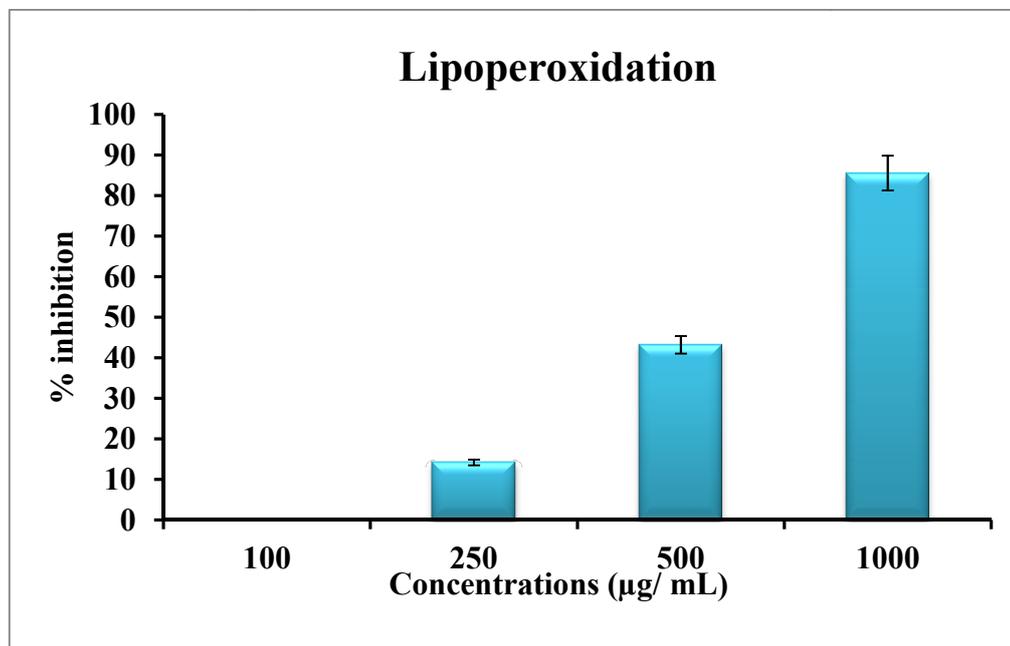
**Tableau 3:** Teneur en composés phénoliques et flavonoïques, et activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*.

Extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i>	Composés phénoliques		Activité antioxydante	
	Polyphenols (mg EAG/g de cardamome)	Flavonoïdes (mg EQ/g de cardamome)	CE <sub>50</sub> DPPH (µg/mL)	CE <sub>50</sub> lipoperoxydation (µg/mL)
	245.92 ± 3.39	167.37 ± 2.37	104.06 ± 6.64	492.89 ± 10.52

Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± écart type (n = 3).

### III.2.3. L'inhibition de la lipoperoxydation

Le pouvoir inhibiteur de la peroxydation lipidique de l'extrait éthanolique EEC est présenté dans la [figure 17](#).



**Figure 17:** Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± écart type (n = 3).

L'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*, présente des taux d'inhibition de la lipoperoxydation qui varie entre 0 à 85.53 %.

On remarque que les taux d'inhibition de l'extrait de cardamome sont de l'ordre de 43.18 et 85.53 %, respectivement, pour les concentrations 500 et 1000 µg/mL, tandis qu'à des concentrations de 100 et 250 µg/mL, l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* a montré un effet inhibiteur relativement inférieur de 0 et 14.17 % respectivement. Cette activité inhibitrice est significativement dépendante de la dose.

La CE<sub>50</sub> de l'inhibition de la peroxydation lipidique est de l'ordre de 492.89 ± 10.52 µg/mL.

La peroxydation lipidique est l'une des principales manifestations des dommages oxydatifs, de la toxicité et de la cancérogénicité [Yin et al. \(1998\)](#).

Les propriétés antioxydantes des plantes proviennent généralement de leurs composés phénoliques, qui peuvent inhiber l'oxydation en fournissant un atome d'hydrogène aux radicaux libres ([Erel et al., 2012](#); [Deba et al., 2008](#)). Des études antérieures ont montré que les composés monoterpènes contenant de l'oxygène possèdent des propriétés antioxydantes et antibactériennes.

D'après les résultats de [Dugas et al. \(2000\)](#) et [Spiridon et al., \(2011\)](#), les polyphénols peuvent piéger et neutraliser les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et être des chélateurs de certains ions métalliques.

L'activité antioxydante de polyphénols dépend généralement de leurs structures chimiques, du nombre et de la distribution des groupements hydroxyles cité par [Popovici et al. \(2009\)](#).

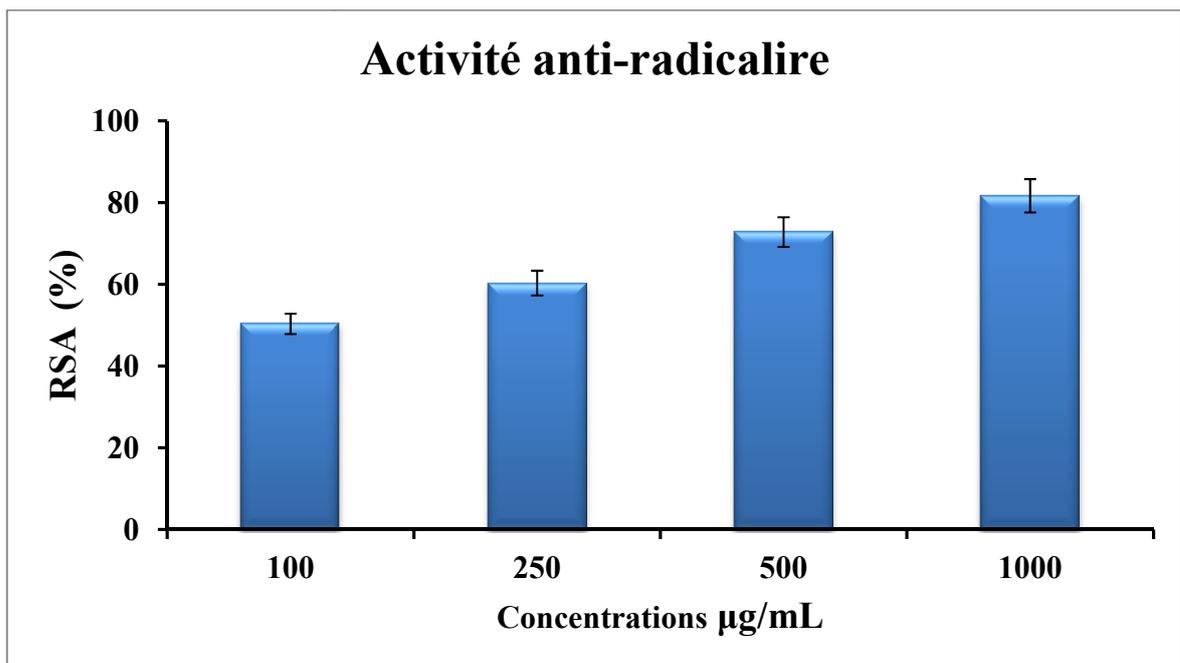
Les flavonoïdes et les polyphénols d'une manière générale ont la capacité de piéger les radicaux libres et par conséquent, retarder l'auto-oxydation des lipides ([Ayala et al., 2014](#)). Aussi, [Sandhar et al. \(2011\)](#), a cité que les flavonoïdes et les polyphénols inhibent la peroxydation lipidique en un stade précoce en scavengant les radicaux peroxydes, comme ils peuvent interrompre la chaîne de réactions radicalaires en donnant de l'hydrogène.

### III.2.4. Piégeage du radical DPPH•

L'activité anti-radicalaire de piégeage d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par le test de scavenging de ce radical. Le résultat a été exprimé en équivalent d'acide ascorbique (fig.18).

Les résultats montrent que l'extrait de cardamome a une activité anti-radicalaire très importante (fig. 18). L'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* avaient une  $CE_{50} = 104.06 \mu\text{g/mL}$  par rapport à l'acide ascorbique qui a une  $CE_{50} = 46.95 \mu\text{g/mL}$ .

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de cardamome et le standard l'acide ascorbique réduisent d'une manière dose-dépendante le radical DPPH, c'est-à-dire le pourcentage de réduction (ou inhibition) du DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations de l'acide ascorbique et l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*, jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration de l'extrait.



**Figure 18:** Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations (100, 250, 500, et 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$  écart type (n = 3).

D'après [Cuvelier et al. \(1992\)](#), la  $CE_{50}$  est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre.

L'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* procure d'une activité très influente. Les polyphénols renfermant dans l'extrait éthanolique de cardamome sont éventuellement garants de cette activité. Cependant, les plantes médicinales usitées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent des propriétés antioxydantes (Speroni et al., 2000).

Amessis-Ouchemoukh et al. (2014), ont rapporté que les polyphénols sont des donneurs efficaces d'atome d'hydrogène au radical DPPH en raison de leurs structures chimiques idéales. Des études de Zhang et Zhao. (2016) ont prouvé que les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont responsables de l'effet scavenger des radicaux libres.

Selon Sultana et al. (2010) ; le test du DPPH a permis de mettre en évidence un pouvoir antiradicalaire très éminent d'extrait méthanolique d'*E. cardamomum*, présentant une CE<sub>50</sub> de 217.4 µg/mL qui fait 2 fois plus que celle montrée dans notre étude.

En outre, des résultats rapportés par d'autres chercheurs ont montré également que ce paramètre est variable de l'activité anti-radicalaire d'extrait méthanolique d'*E. cardamomum*. Soury et al. (2008) ont trouvé une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 167,29 µg/mL.

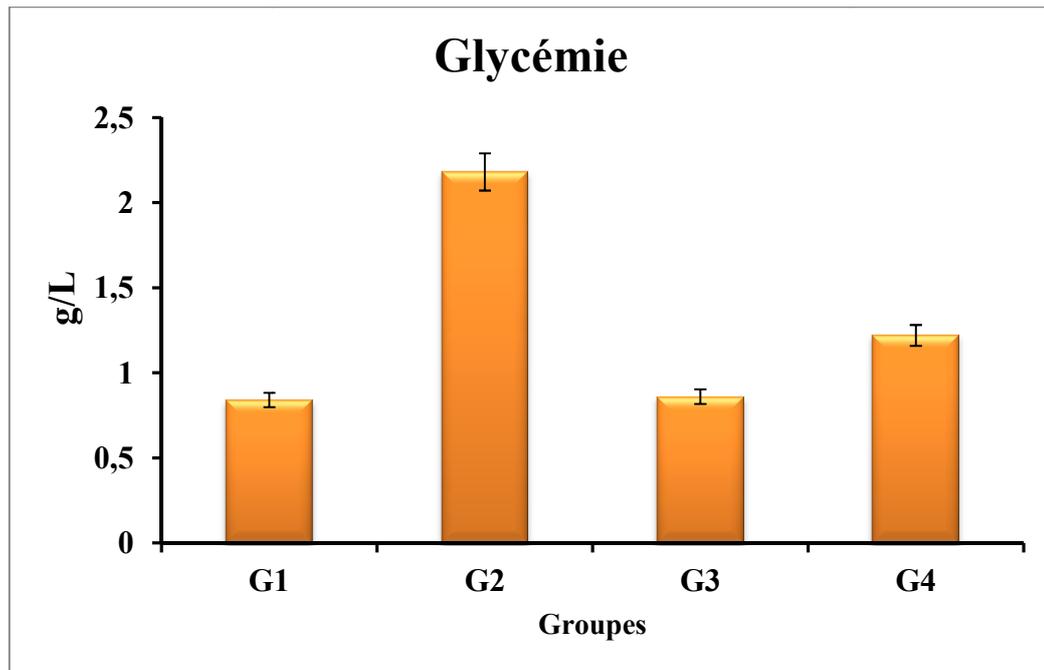
D'autres études faites par Khalaf et al. (2008) et Kandikattua et al. (2017) donnent des IC<sub>50</sub> égales 681.5 et 464 µg/mL, respectivement.

### **III.3. Activité antioxydante *in vivo* sur des rats Wistar**

#### **III.3.1. Stress oxydatif et paramètres sériques**

##### **III.3.1.1. Glycémie**

L'administration d'AlCl<sub>3</sub> aux rats du groupe G2 a provoqué une augmentation hautement significative (P<0.05) de la glycémie atteignant 2.18 g/L comparativement au groupe témoin G1 (0.84 g/L). En revanche, une diminution spectaculaire de l'ordre de 0.86 g/L est enregistrée chez les rats du groupe G3 qui ont reçu 200 mg/kg de l'EEC. Quoique, les rats du groupe G4 qui ont reçu 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> et 200 mg/kg d'EEC, ont montré une légère diminution de la glycémie par rapport au G2 à une concentration de 1.22 g/l (fig. 19).



**Figure 19:** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .

Nos résultats démontrent que l'extrait d'*Elettaria cardamomum* exerce un effet hypoglycémiant.

Les résultats d'[Azimi et al. \(2014\)](#) et [Nitasha Bhat et al. \(2015\)](#) ont prouvé également que la cardamome améliorait l'hyperglycémie, l'intolérance au glucose et la résistance à l'insuline chez le rat.

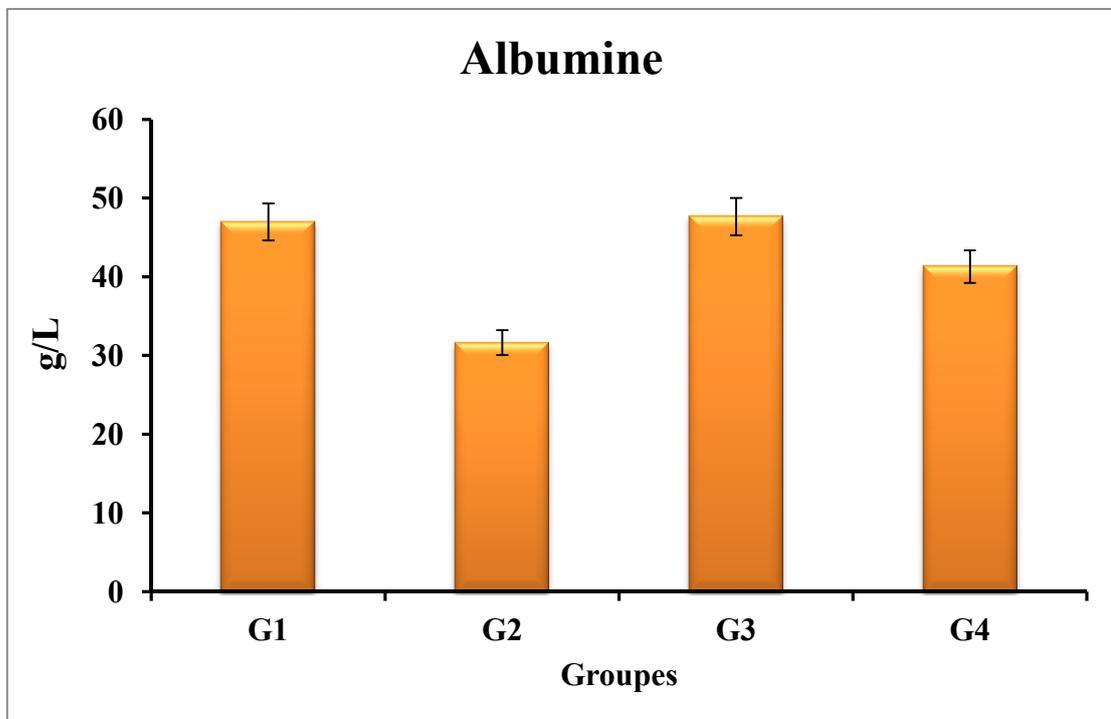
Dans notre étude, l'addition d'aluminium exerce un effet dépressif et stressant sur le taux de la glycémie dans le sang des rats. Une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) est observée au niveau du groupe ayant reçu l'aluminium.

Toutefois, l'ajout d'extrait EEC aux rats qui ont été ingérés par l'aluminium a rétabli la glycémie ceci est confirmé par [Winarsi et al. \(2014\)](#) qui ont montré que l'extrait éthanolique de la cardamome était capable de réduire la glycémie et également de réparer le poids corporel des rats diabétiques induits par l'alloxane.

### III.3.1.2. L'albumine

D'après les résultats obtenus illustrés dans la [figure 20](#), on constate qu'il y a une chute très significative ( $P < 0,05$ ) de l'albuminémie de (31.67 g/L) ; du taux d'albumine chez le G2 (témoin positif qui a été exposé à 34 mg/kg d' $AlCl_3$ ) comparativement au G1 (témoin négatif).

Par contre, l'administration de 200 mg /kg ; 34 mg/kg d' $AlCl_3$  et 200 mg/kg d'extrait d'EEC chez les rats du G3 et G4 a montré une augmentation de 47.67 g/L et 41.33 g/L respectivement, par rapport au G2 (Témoin positif).



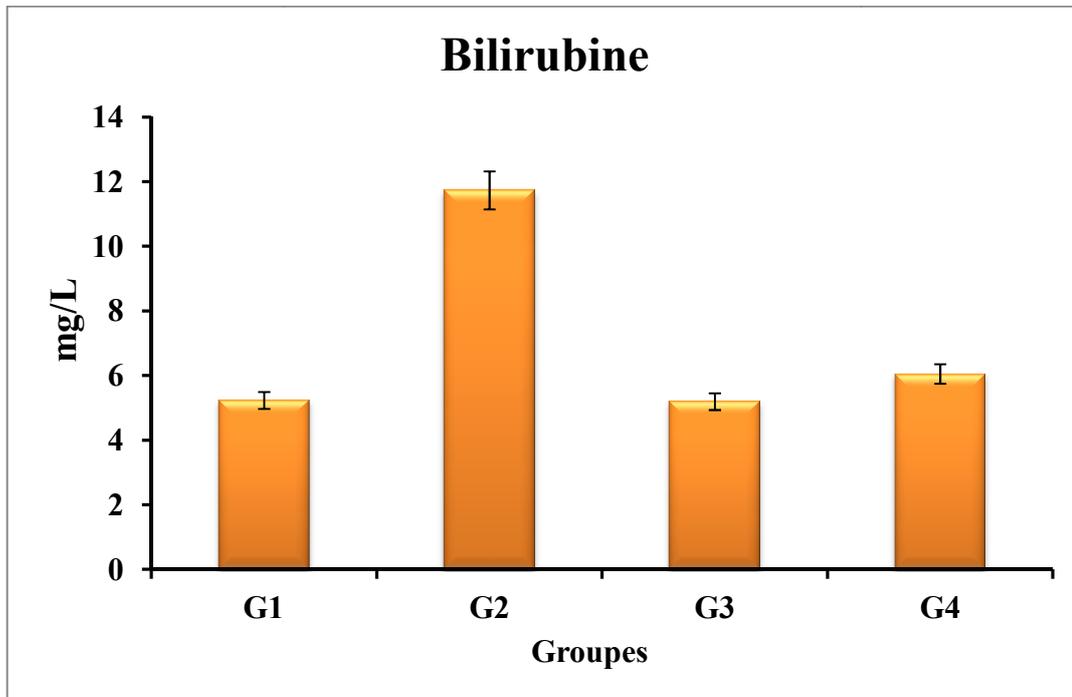
**Figure 20:** Albumine (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .

L'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* augmente le taux d'albumine chez les rats qui ont subis le stress oxydatif par l'aluminium ( $AlCl_3$ ); il a un effet hyper-albuminant.

### III.3.1.3. Bilirubine

Les résultats illustrés dans la [figure 21](#), manifeste une situation inverse du taux de la bilirubine totale, d'où on a enregistré une diminution au niveau des groupes ayant été administré avec l'EEC, particulièrement le groupe G3, avec une concentration de 11.73 mg/L (G2) contre 5.19 mg/L (G3).



**Figure 21:** Bilirubine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

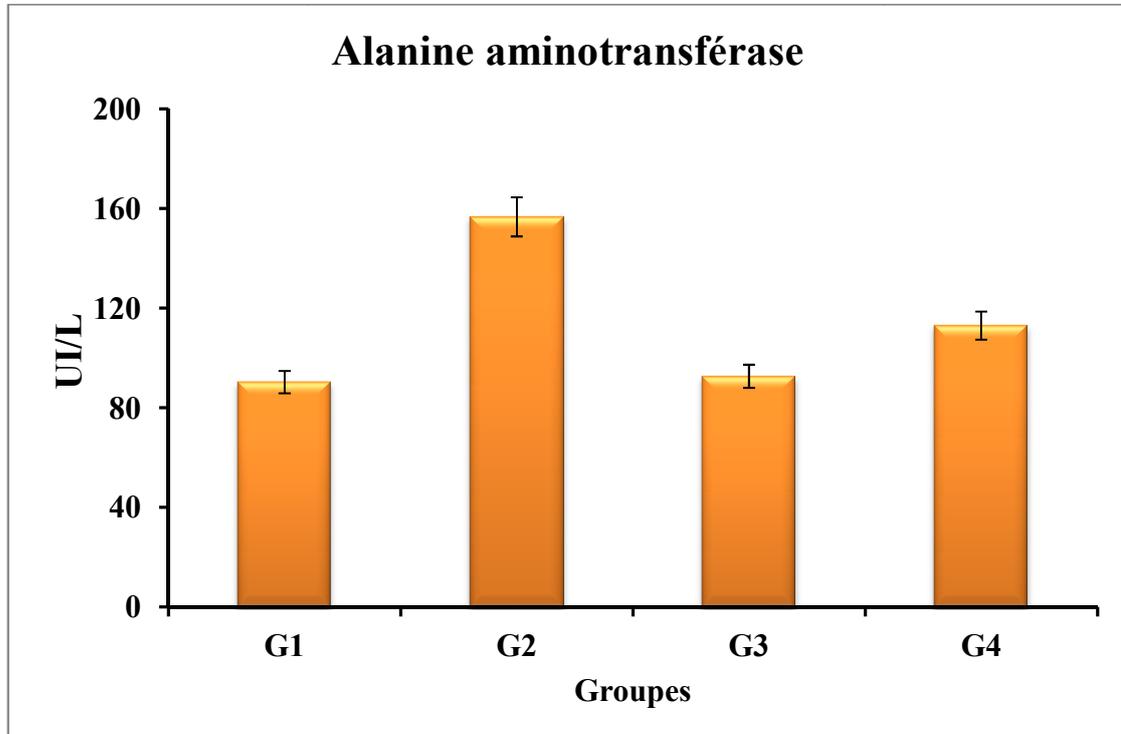
G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

Les taux élevés de la bilirubine chez les rats du groupe G2 (qui ont reçu uniquement 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ ), suggèrent que le stress oxydatif généré par  $\text{AlCl}_3$  incite à des lésions hépatocellulaires après avoir augmenté la fuite de ces taux dans la circulation sanguine.

### III.3.1.4. L'alanine aminotransférase (ALAT)

La [figure 22](#) illustre une diminution très significative ( $P < 0.05$ ) de 92.67 et 113 UI/L de l'enzyme d'ALAT chez les animaux qui ont été administré par l'extrait EEC du G3 et G4, d'ordre respectif.

L'administration de l'aluminium a provoqué une augmentation de l'ordre de 156.67 UI/L du taux sérique d'ALAT chez les rats de groupe 2 (qui ont reçu uniquement l'aluminium) par rapport au groupe témoin G1 (90.33 UI/L).



**Figure 22:** Les teneurs sériques de l'alanine aminotransférase ALAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

Ces résultats confirment que le traitement des rats pendant 30 jours avec l'extrait d'EEC protège les rats contre l'hépatotoxicité induite par  $\text{AlCl}_3$ .

Par conséquent, il y aura une décharge de cette enzyme des cellules vers le flux sanguin. L'augmentation de l'activité de ALAT est connue seulement dans l'empoisonnement par les métaux lourds, l'hépatose toxique et la dystrophie musculaire (Abdel Moneim et al., 2011).

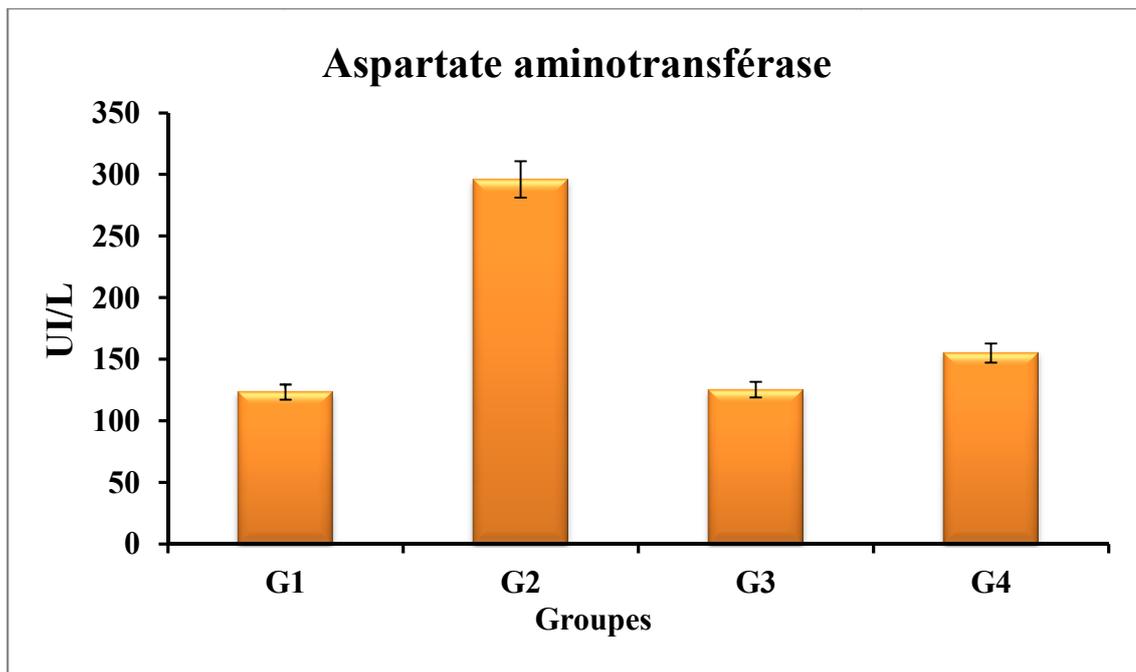
Il est également connu que le traitement par le diéthylnitrosamine a augmenté les marqueurs de la fonction hépatique ; transaminases sériques, qui sont des indicateurs de lésions

hépatiques. L'augmentation de l'activité ALAT est attribuée à plusieurs reprises à des lésions hépatocellulaires et est généralement accompagnée d'une augmentation de l'ASAT (Azri et al., 1992).

### III.3.1.5. L'aspartate aminotransférase (ASAT)

A la lumière de ces résultats, on remarque que le dosage des paramètres hépatiques d'ASAT a montré que l'oxydation par voie orale des rats par  $\text{AlCl}_3$  (G2), a induit une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) de l'activité des enzymes hépatiques de 296 UI/ L, par rapport au témoin (fig. 23). Ces résultats expriment les dommages hépatocellulaires accrus dans le foie.

En revanche, on a enregistré une diminution de 125 et 155 UI/ L du taux de l'ASAT chez les rats du G3 et G4 (qui ont reçu 200 d'EEC ; 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  et 200 mg/Kg de l'EEC) par rapport au groupe G2.



**Figure 23:** Les teneurs sériques de l'aspartate aminotransférase ASAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

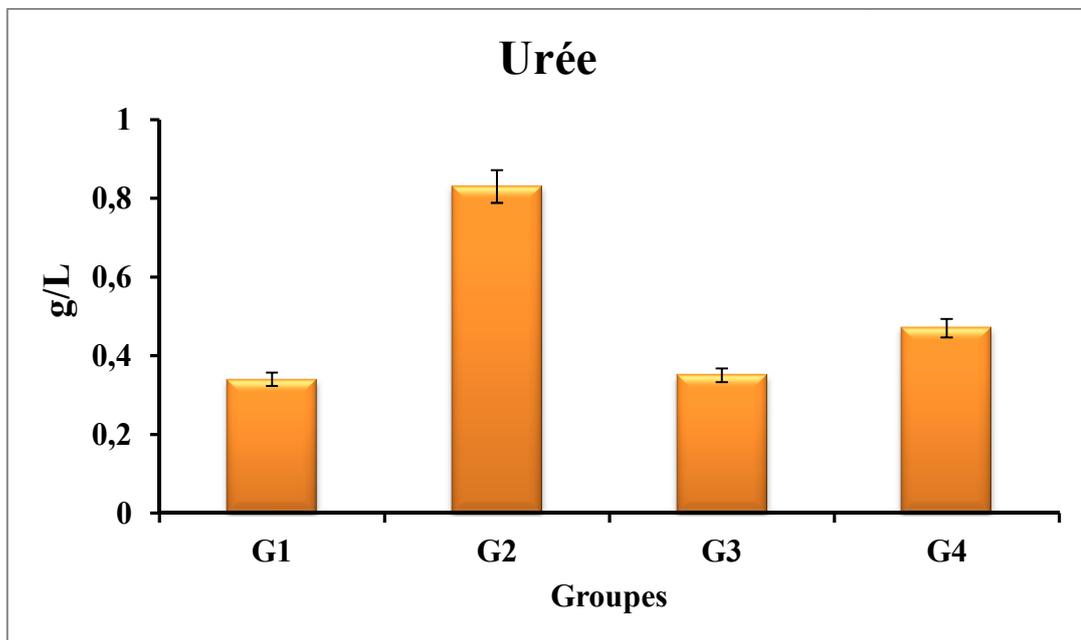
De ce fait, l'extrait d'EEC diminue le taux d'enzyme hépatique ; l'ASAT d'où il agit comme étant un hépato-protecteur contre les dommages oxydatifs causés par l'aluminium.

Shati et Alamri (2010) suggèrent que l' $AlCl_3$  exerce un effet hépatotoxique, car l'augmentation de l'ASAT conduit à des lésions hépatiques suite à une perturbation des membranes.

Les résultats de notre étude ont montré que l'EEC protège le foie et les reins contre les détriments hépatorénaux, comme il a été illustré chez les rats qui ont reçu l' $AlCl_3$  après avoir pris l'EEC (G4). Nos résultats sont similaires à ceux de Caceres et al. (2016) qui ont constaté que le traitement avec l'extrait de graines d'*Elettaria cardamomum* réduisaient significativement les taux sériques de l'ASAT et l'ALAT, indiquant leur activité hépatoprotectrice.

### III.3.1.6. L'urémie

La figure 24 présente la concentration plasmatique d'urée chez les rats Wistar oxydés ou non par l'aluminium. En comparaison avec les rats du groupe contrôle, l' $AlCl_3$  a augmenté le taux plasmatique de l'urée chez les rats du G2 (0.83 g/L).



**Figure 24:** Concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et / ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .

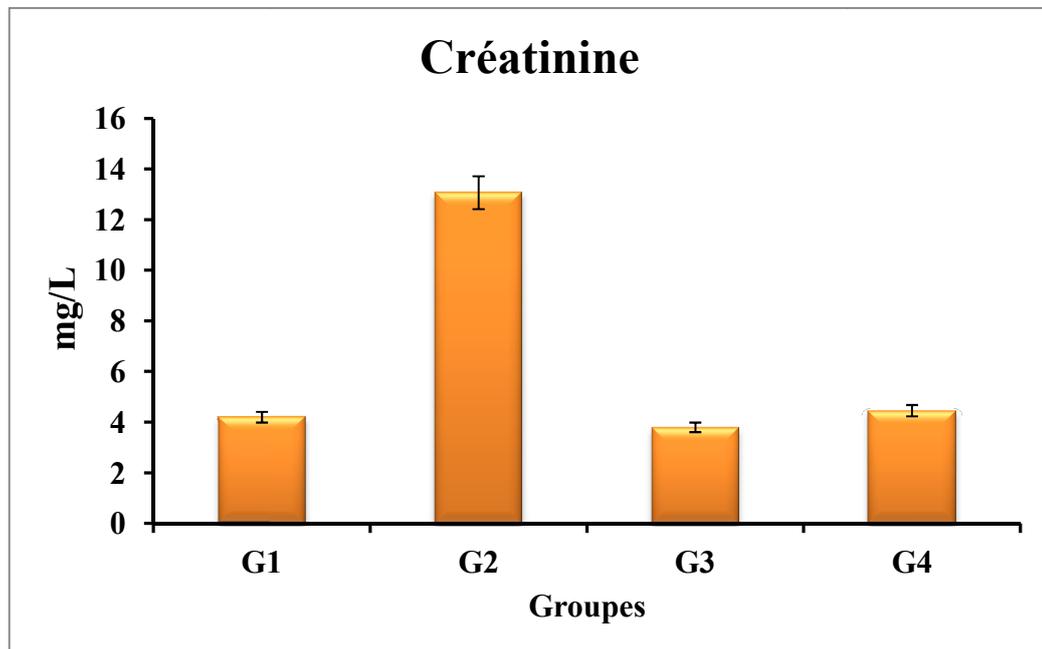
On remarque une diminution hautement significative ( $P < 0.05$ ) de ce paramètre chez les animaux du groupe G3 (0.35 g/L) et G4 (0.47 g/L), qui ont reçu, respectivement, 200 mg/kg d'EEC, et 34 mg/kg d' $AlCl_3$  et 200 mg/kg d'EEC durant 30 jours.

Nous avons observé que l'exposition des rats au trichlorure d'aluminium affecte la structure histologique des différents organes, avec l'apparition de lésions cellulaires et des foyers inflammatoires.

Dans notre étude, l'administration de l'aluminium modifie de manière significative la fonction rénale par l'augmentation accrue de l'urée et la créatinine sérique qui sont révélatrices de lésions rénales, comme précédemment rapporté par [Vargas-Olvera, et al. \(2012\)](#).

### III.3.1.7. Créatinémie

Dans la présente étude, on remarque des différences significatives ( $P < 0.05$ ) entre les groupes (fig. 25). En comparaison avec le groupe contrôle qui a montré une créatinémie allant jusqu'à 4.2 mg/L, le groupe G2 (qui a reçu seulement l' $AlCl_3$ ) a montré une augmentation importante de la créatinémie à 13.07 mg/L.



**Figure 25:** Concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n =6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .

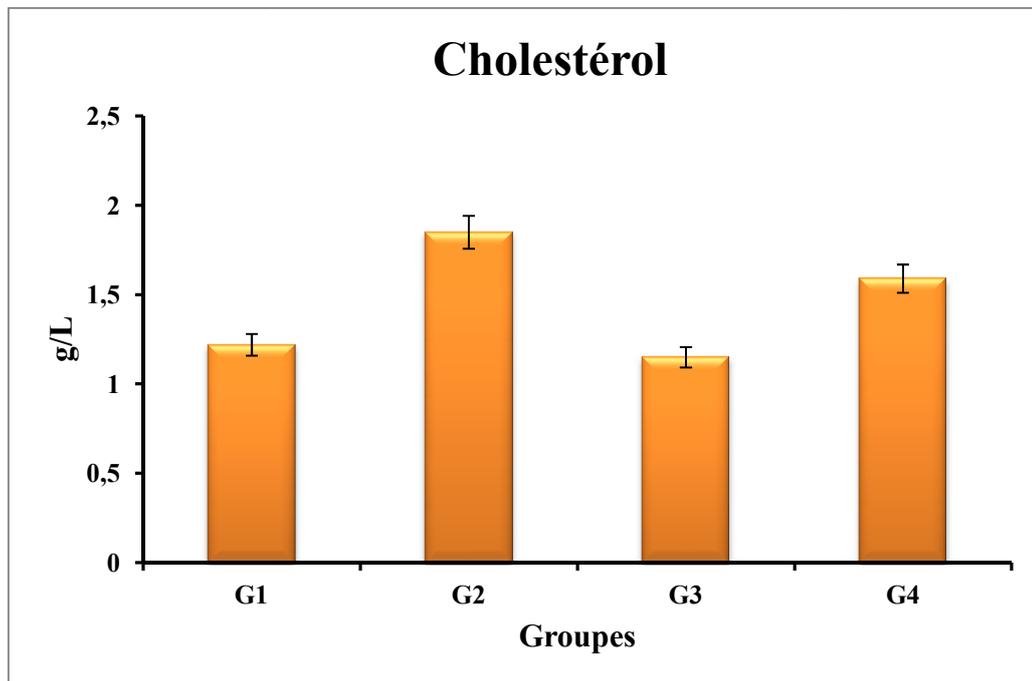
Par contre, les rats du groupe G3 et G4 (qui ont reçu 200 mg/kg d'EEC, et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> et 200 mg/kg d'EEC) ont montré, respectivement, une diminution significative (P< 0,01) de 3.8 et 4.46 mg/L du taux de la créatinine, par rapport aux rats du groupe G2 qui n'a reçu que l'AlCl<sub>3</sub>.

L'administration d'EEC avec l'AlCl<sub>3</sub> réduit la créatinine et les niveaux de la créatinine en suggérant les effets protecteurs de la cardamome.

Ce résultat était en accord avec [Verma et al. \(2015\)](#) qui ont observé une diminution significative de l'azote uréique sanguin et de la créatinine sérique après l'administration d'extrait de graines de cardamome chez le rat diabétique en raison de l'amélioration de la fonction glomérulaire rénale et du maintien du bilan azoté positif.

### III.3.1.8. Cholestérolémie

Le dosage du taux lipidique du cholestérol a montré une augmentation très significative (P<0.05) chez les rats qui ont reçu uniquement de l'aluminium (G2) de l'ordre de 1.85 g/L par rapport au groupe témoin G1 (1.22 g/L) ([fig.26](#)).



**Figure 26:** Cholestérolémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations ±SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub>.

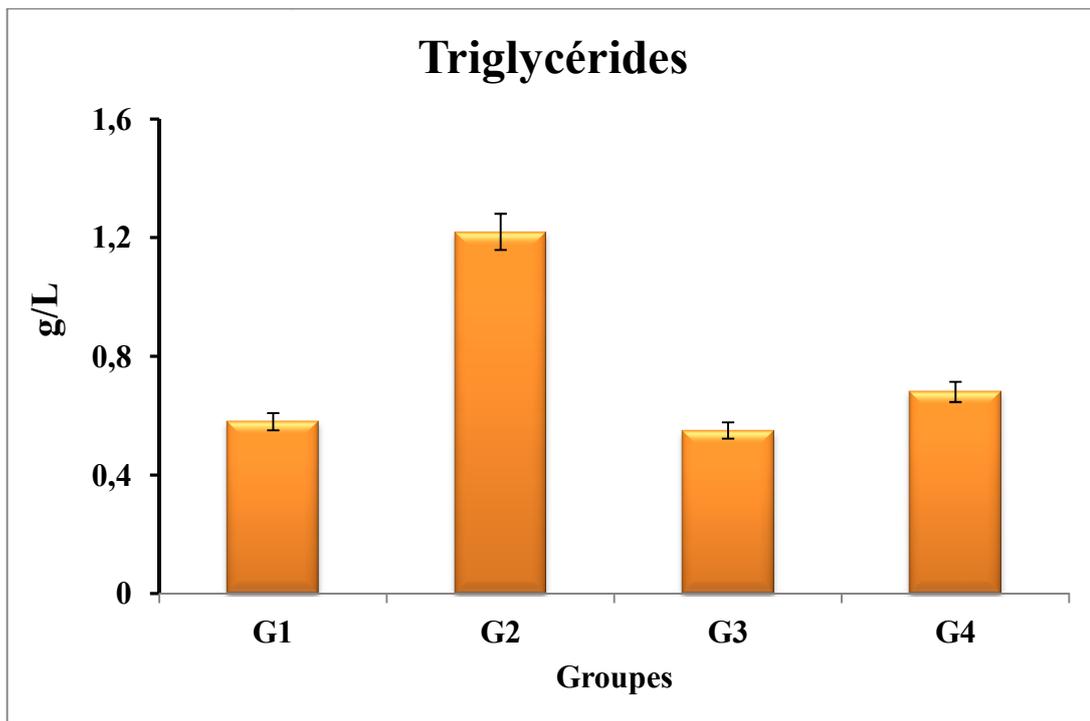
En outre, on remarque une réduction de cette concentration sérique d'ordre respectif de 1.15 et 1.59 g/L, chez les rats du groupe G3 et G4, comparativement aux rats du groupe G2.

Pareillement, [Rahman et al. \(2017\)](#) ont confirmé nos résultats ; la supplémentation en poudre de cardamome a considérablement réduit la concentration de cholestérol et de triglycérides chez les rats nourris au régime riche en sucre et en graisse.

### III.3.1.9. Triglycéridémie

Les rats recevant l' $\text{AlCl}_3$  (G2) ont enregistré une augmentation de la concentration sérique de triglycérides ( $P < 0,05$ ), de 1.22 g/L par rapport au groupe témoin (G1), alors que les concentrations de ce dernier chez les rats traités avec 200 mg/ Kg d'EEC était plus basse avec un taux de 0.55 g/ L.

De plus, comparé au groupe témoin (G1), une différence significative importante ( $P < 0,05$ ) ; 0.68 g/ L des concentrations de triglycérides a été observée dans les groupe G4 ([fig. 27](#)).



**Figure 27:** Triglycéridémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

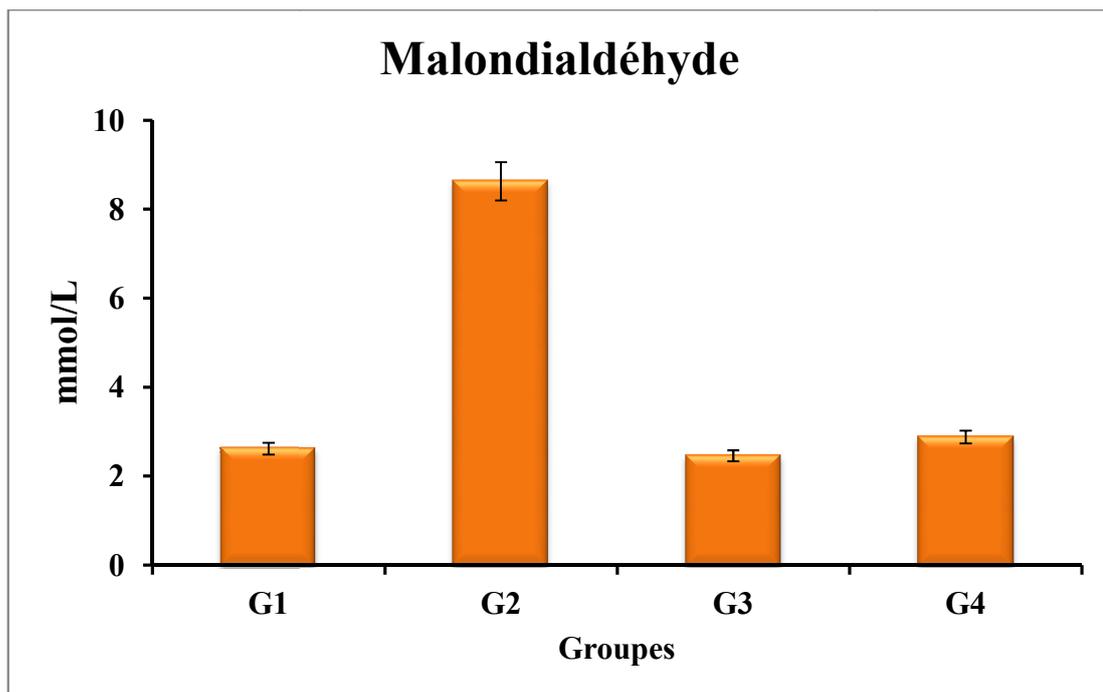
G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

L'étude menée par [Darwish et al. \(2013\)](#) a dévoilé une diminution significative du niveau de HDL dans le groupe des rats irradiés par rapport au groupe témoin, tandis que les rats exposés au rayonnement gamma 6 Gy développaient une modification du profil lipidique d'où les teneurs du cholestérol total, TG et LDL ont augmenté de manière significative. Le traitement prolongé de la cardamome avant l'exposition à l'irradiation gamma des rats a considérablement minimisé l'altération du profil lipidique sérique par rapport aux rats irradiés.

### III.3.2. Statut antioxydant

#### III.3.2.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Le traitement des rats par l' $\text{AlCl}_3$  pendant 30 jours entraîne une augmentation des taux plasmatiques du MDA avec une teneur de 8.63 mmol/L par rapport aux rats du (G1), 2.62 mmol/L ([fig.28](#)).



**Figure 28:** Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

A l'inverse, l'administration d'EEC dans l'alimentation des rats traités par le  $AlCl_3$  fait diminuer de façon significative ( $p < 0.05$ ) la peroxydation lipidique au niveau du foie. Par ailleurs, dans nos travaux, l'administration de l'extrait EEC (G3 et G4) agit directement sur la diminution de la teneur en MDA et par la suite l'inhibition de la peroxydation lipidique.

Selon nos résultats, la teneur en MDA est plus élevée chez les animaux du groupe ayant reçu uniquement le chlorure d'aluminium (G2) par rapport aux rats du groupe témoin, dont l'oxydation des lipides est induite avec l'ajout de l'aluminium.

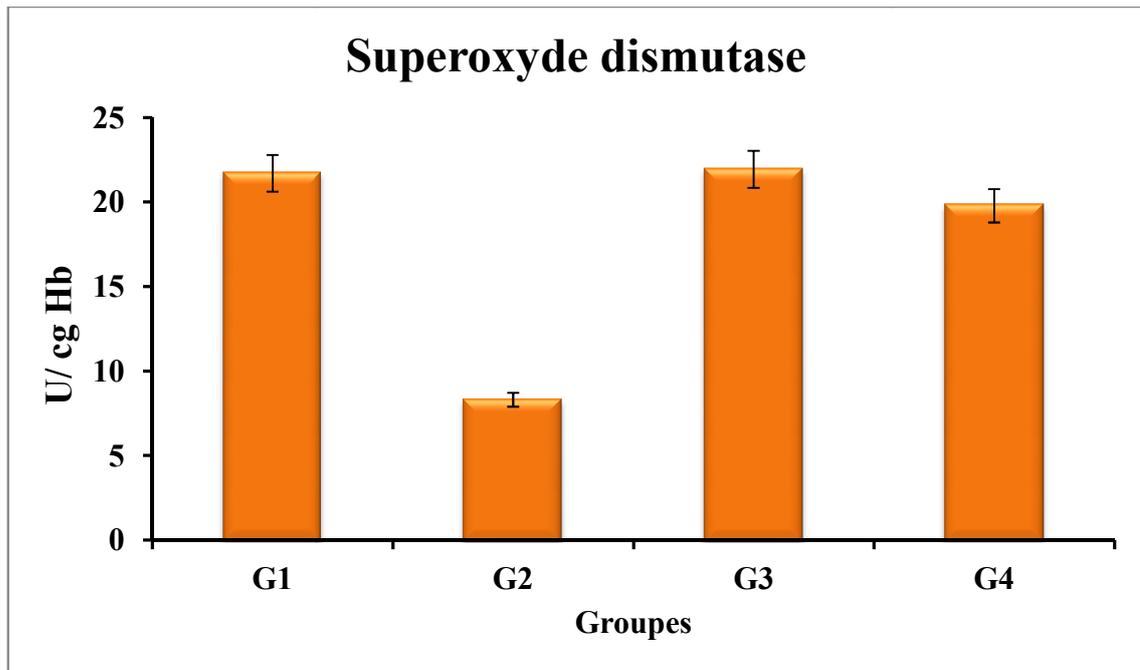
Nos résultats étaient cohérents avec les résultats de [Yadav et Bhatnagar \(2007\)](#) en ce que la cardamome inhibe la peroxydation lipidique grâce à sa forte activité réductrice et sa capacité d'élimination des radicaux superoxydes.

Nos résultats rejoignent ceux de [Singh et al. \(2009\)](#) ; [Sayed-Ahmed et al. \(2010\)](#) ; sur la formation du MDA, qui a induit la réduction des niveaux d'activités de différents antioxydants endogènes ; GPx, CAT et SOD des rats traités par le diéthylnitrosamine.

### **III.3.2.2. Taux du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)**

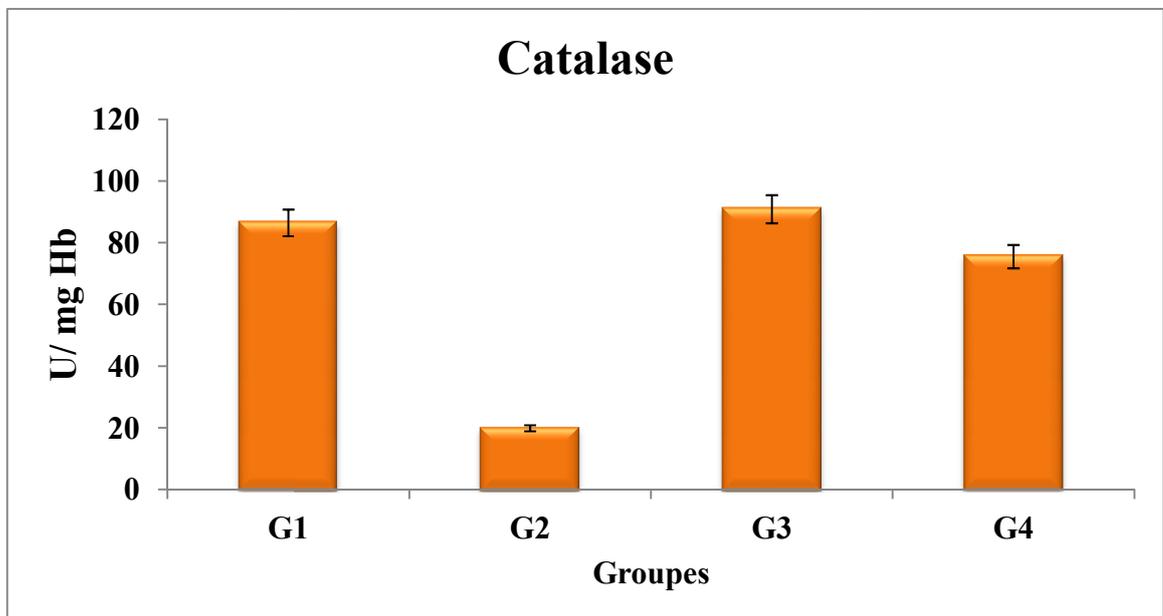
Les résultats indiquent également que l'administration d' $AlCl_3$  seul à raison de 34 mg/ Kg aux rats du groupe G2 a diminué significativement ( $P < 0.05$ ) les enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GSH-Px) avec des taux respectifs de 8.3, 19.9, 34.67 U/g, par rapport au rats du groupe témoin (G1) ([figures 29, 30 et 31](#)).

En revanche, aucun changement de ces activités n'a été observé chez les rats n'ayant reçu que l'EEC (G3). En effet, l'activité de ces enzymes antioxydantes hépatique a été améliorée significativement ( $P < 0.05$ ) chez les rats traités par l'EEC notamment les rats du G3 (traités par 200 mg/kg d'EEC), d'où on a enregistré une augmentation de la SOD (21.93 U/cg), de la catalase (90.9 U/mg) et de la GSH-Px (125.53 U/g) par rapport aux rats exposés à l'aluminium (G2).



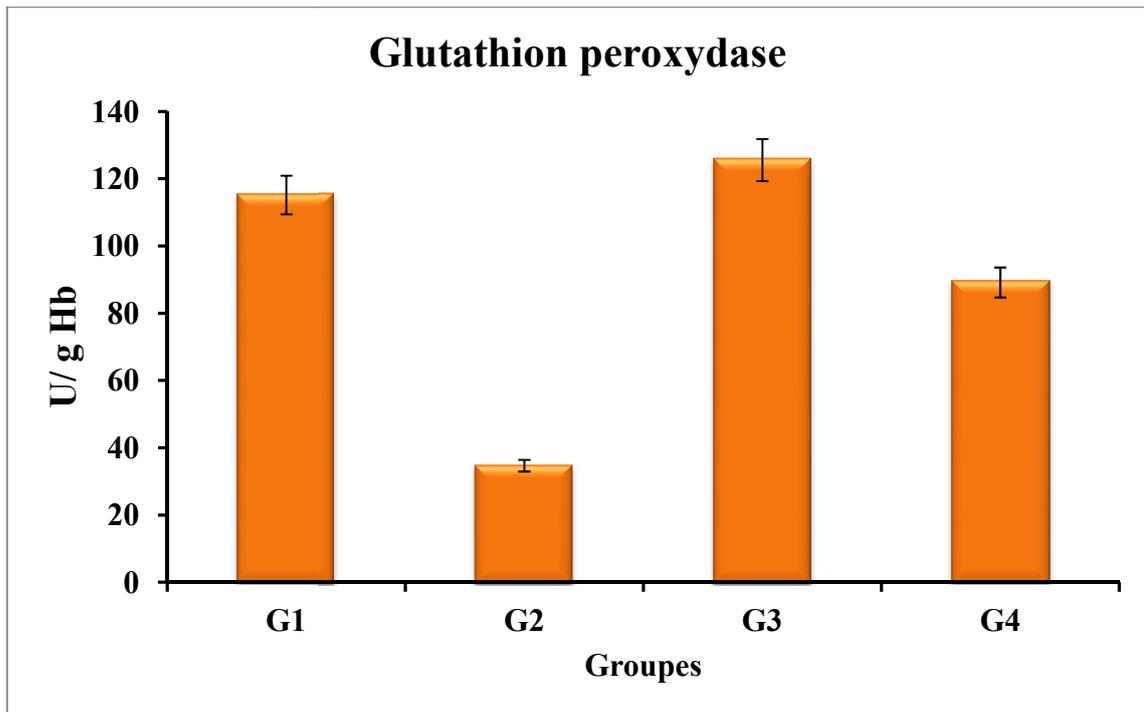
**Figure 29:** Les teneurs en Superoxyde dismutase (SOD) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .



**Figure 30:** Les teneurs en catalase (CAT) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $AlCl_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $AlCl_3$ .



**Figure 31:** Les teneurs en glutathion peroxydase (GSH-Px) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  ; G3 : 200 mg/kg d'EEC ; G4 : 200 mg/kg d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$ .

Conformément à l'observation selon laquelle les radicaux libres réduisaient l'activité de la SOD hépatique (Robak et Glyglewski, 1988), l'augmentation du MDA dans notre travail, était vraisemblablement associée à une augmentation des radicaux libres pendant le métabolisme de l'aluminium.

D'après El Malti et al. (2007), une thérapie antioxydante potentielle devrait donc inclure soit des enzymes antioxydantes naturelles piégeant les radicaux libres, soit des agents capables d'augmenter l'activité de ces enzymes, notamment la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

Des travaux menés par Deepak Sharma et al. (2009), ils ont montré que les rats exposés à l'aluminium ont manifesté une augmentation de la peroxydation lipidique, ainsi une diminution des activités de la SOD et du GPx au niveau du cerveau par rapport aux rats témoins.

En outre, la diminution significative de l'activité de la SOD et de la CAT pourrait également être attribuée à l'excès de radicaux libres, qui interagissent avec les molécules d'enzyme provoquant leur dénaturation et leur inactivation partielle (Krege *et al.*, 2007).

L'étude de Gomaa *et al.* (2019) a montré que le traitement par l'extrait de cardamome a réduit le marqueur de peroxydation lipidique hippocampique malondialdéhyde (MDA) et a augmenté le système défensif antioxydant, y compris le superoxyde dismutase (SOD) et le glutathion réduit (GSH).

De même, une augmentation du taux des enzymes antioxydantes cervicales (SOD et GPx) chez les rats qui ont reçu l'aluminium et de la curcumine, par rapport aux rats qui ont reçu uniquement l'aluminium. Cela indique que la curcumine empêche l'inhibition des activités de la SOD et la GPx dans le cerveau (Deepak Sharma *et al.*, 2009).

La SOD travaille avec CAT et GPx de manière précise pour éliminer les radicaux libres. La SOD active le changement de l'ion superoxyde en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, qui est un radical libre dangereux qui doit être rapidement converti en eau et en oxygène par CAT et GPx (Vasquez-Garzon *et al.*, 2009; Sayed-Ahmed *et al.*, 2010).

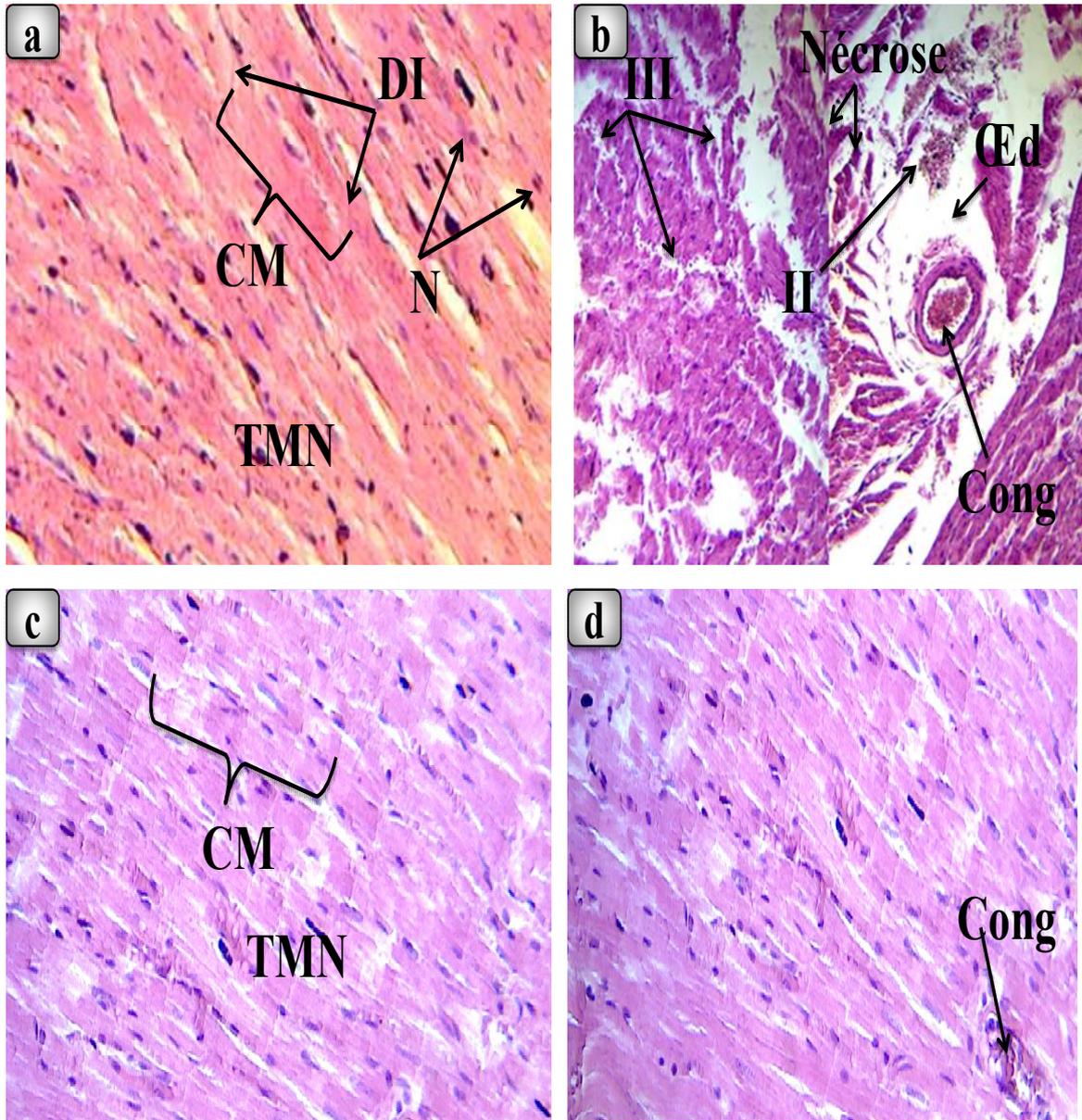
### **III.3.3. L'étude histologique**

#### **III.3.3.1. Histopathologie du cœur**

Les rats du groupe témoin (G1) présentent une structure histologique normale du tissu myocardique, il est formé de cellules myocardiques, les cardiomyocytes qui, se caractérisent par ; un noyau unique, allongé, localisé au centre de la cellule (Fig. 32 a).

La coupe histologique du G2 (rats traités uniquement par l'AlCl<sub>3</sub>) ; révèle des détriments myocardiques graves; myocardite caractérisée par une nécrose cellulaire avec dégénérescence des myocytes, formation d'œdème avec un infiltrat inflammatoire interstitiel lymphocytaire très dense et une congestion artérielle (Fig. 32 b).

Les rats traités avec 200 mg/kg d'EEC montrent une structure normale des cellules myocardiques semblable à celle du groupe témoin (Fig. 32 c). Le traitement bilatéral d'EEC et AlCl<sub>3</sub> a engendré une légère congestion (fig. 32 d) cela est dû à la présence d'AlCl<sub>3</sub> ce qui confirme les résultats du groupe



**Figure 32:** Coupes histologique du cœur du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j) ; c (G3) : 200 mg/kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d'AlCl<sub>3</sub> (30 j).

TMN : tissu myocardique normal, Cong : congestion, II : infiltrat inflammatoire, III : infiltrat inflammatoire interstitiel, N : noyau, DI : disques intercalaires, CM : cardiomyocyte.

La cardiotoxicité induite par l' $\text{AlCl}_3$  été également illustrée par une histopathologie montrant des atteintes de la morphologie histologique hépatique et myocardique après l'administration d' $\text{AlCl}_3$  (G2) (Fig. 32 b).

### **III.3.3.2. Histopathologie du poumon**

La biopsie histologique pulmonaire du groupe G2 (Fig. 33 b) qui a été traité avec 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  dévoile une bronchiolite ; dont la présence au niveau d'un seul foyer une lumière bronchiolaire comblée complètement par un infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire dense et de la paroi bronchique riche en polynucléaire neutrophile avec présence de nombreux polynucléaires altérés et par des cellules mononuclées.

En contre partie, les rats du groupe G3, présentent une structure alvéolaire normale, les bronchioles sont bordées par un épithélium respiratoire régulier (Fig. 33 c). L'association d'EEC avec l' $\text{AlCl}_3$ , a montré un infiltrat inflammatoire léger, hétérogène, péri-bronchiolaire (Fig. 33 d).

Dans notre étude, les résultats histopathologiques ont révélé que l'administration d' $\text{AlCl}_3$  entraîne la détérioration de l'histologie pulmonaire des rats, en provoquant une bronchiolite chez les rats ingérés par l'aluminium.

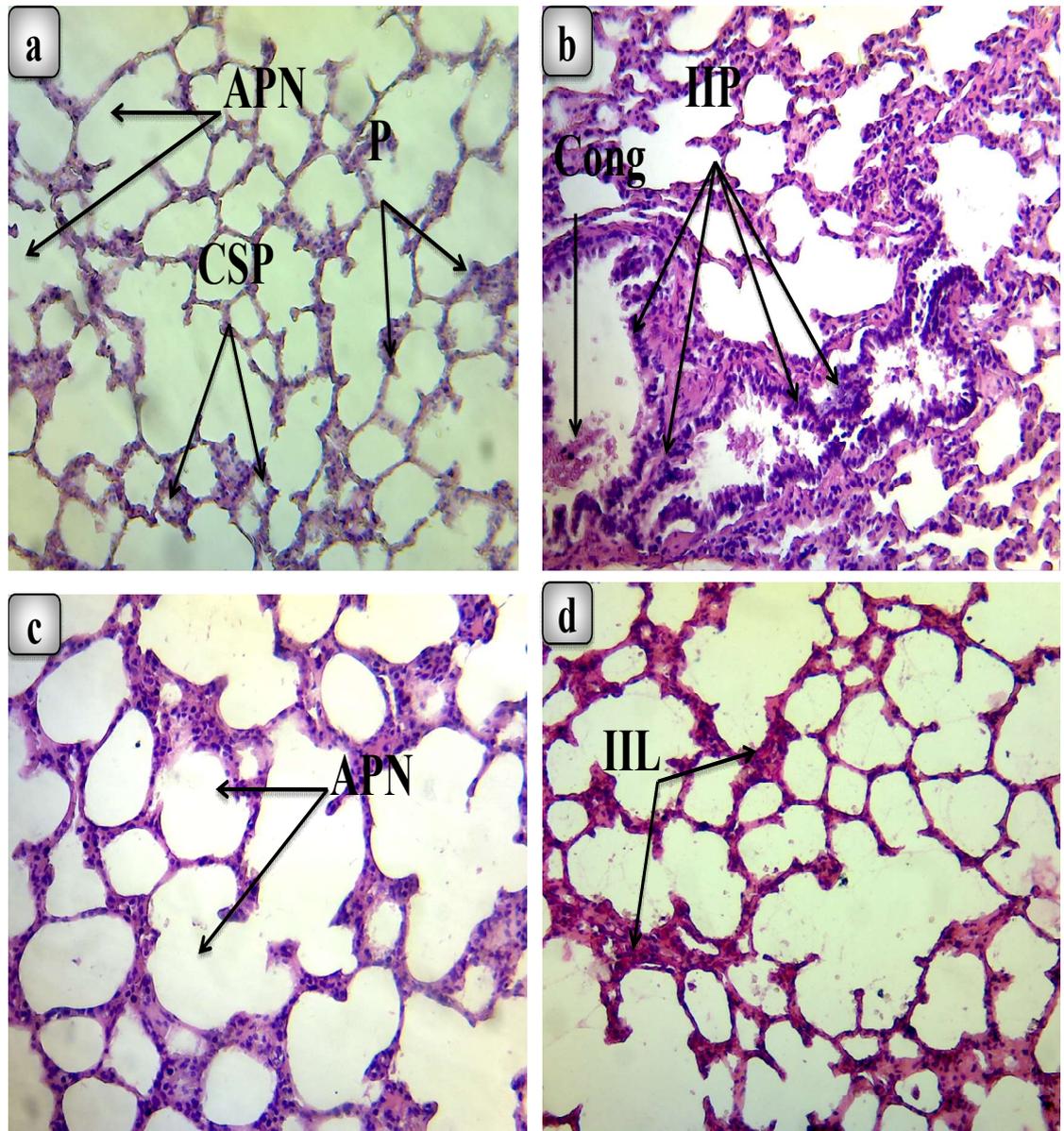
Dans ce contexte, Boufadi *et al.* (2017) ; ont montré que l'exposition des rats à l'aluminium engendre une bronchopneumonie chronique avec amas lymphoïdes autour et à l'intérieur des bronches.

L'administration d'aluminium aux rats a provoqué un stress oxydatif qui entraîne plusieurs modifications des fonctions des différents organes, telles que des lésions oxydatives du foie, du poumon et les reins (Boufadi *et al.*, 2017). De plus, des changements comportementaux, neuropathologiques et neurochimiques (Kumar *et Gill*, 2009).

### **III.3.3.3. Histopathologie du foie**

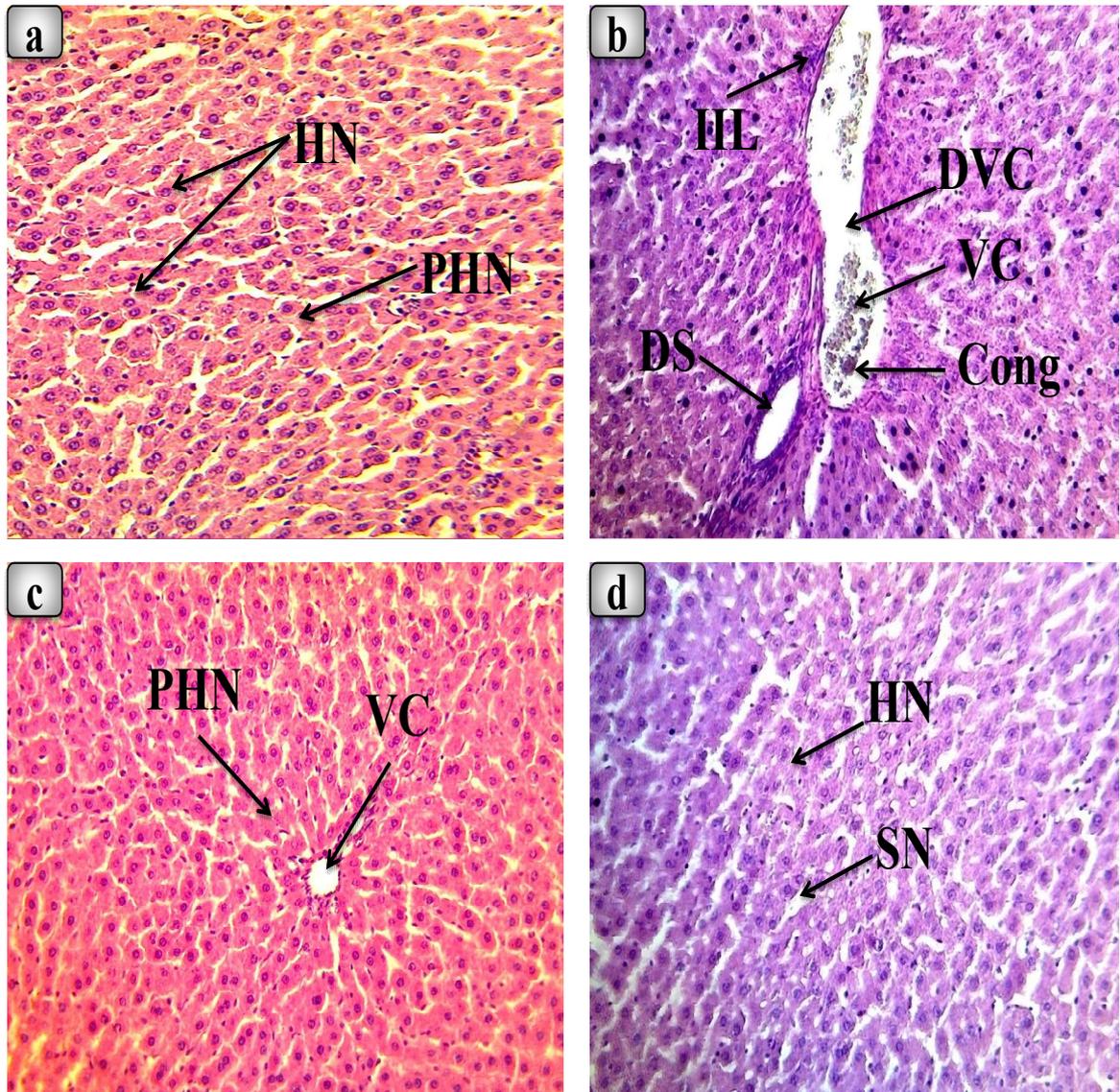
La coupe histologique des rats du groupe témoin a montré un aspect histologique normal du parenchyme hépatique, les veines centro-lobulaires et les hépatocytes (Fig. 34 a).

En revanche, la figure 34 b référant au G2 (traité que par  $\text{AlCl}_3$ ), a dévoilé une composition architecturale hépatique altérée présentant un infiltrat inflammatoire au niveau des espaces



**Figure 33:** Coupes histologique des poumons du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j) ; c (G3) : 200 mg/Kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j).

APN: alvéoles pulmonaire normale, CSP: capillaires sanguins pulmonaires, P: pneumocytes, IIP: infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire, IIL: infiltrat inflammatoire léger, Cong: congestion.



**Figure 34:** Coupes histologique du foie du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j) ; c (G3) : 200 mg/Kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j).

**PHN** : parenchyme hépatique normal, **HN** : hépatocytes normales, **DS** : dilatation sinusoidale, **VC** : veine centro-lobulaire, **DVC** : dilatation de la veine centrolobulaire, **IIL** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire, **Cong** : congestion, **SN** : sinusöide normale.

portes fait de lymphocytes associé à une congestion des veines centrolobulaires et un élargissement des sinusoides (présence d'un signe de souffrance hépatocytaire = cytolysse).

Le groupe de rats administrés de seulement d'EEC (Fig. 34 c) a montré sur la biopsie hépatique une morphologie similaire à celle observée chez le groupe témoin. De même ; le groupe (G4) (Fig. 34 d), montre un parenchyme normal constitué d'hépatocytes et de sinusoides normales.

L'histopathologie du tissu hépatique des rats traités par l'EEC a révélé une amélioration de la dégénérescence des hépatocytes par rapport aux rats traités par l'aluminium.

Cette amélioration peut être attribuée au fait que l'extrait de cardamome peut réduire efficacement les niveaux de radicaux intracellulaires des hépatocytes, empêchant ainsi les dommages cellulaires induits par le stress oxydatif (Khan *et al.*, 2013; Banu *et al.*, 2014).

Cela peut être accordé également, à la présence d'acide gallique dans l'extrait de cardamome en tant que composé phénolique le plus élevé.

#### **III.3.3.4. Histopathologie des reins**

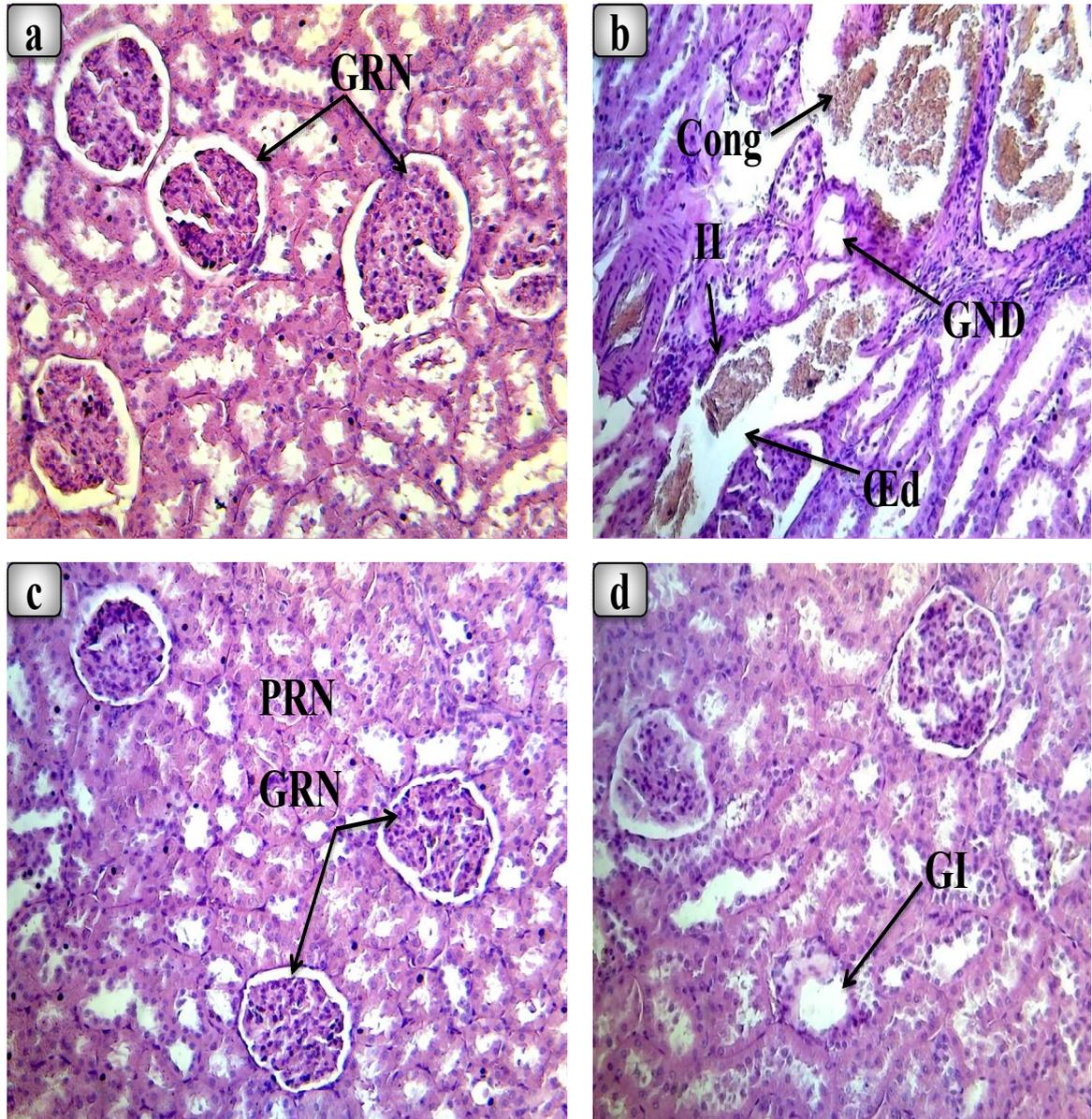
Les reins du groupe témoin (Fig. 35 a), ont présenté une capsule (parenchyme) comportant de glomérules rénaux normaux et une structure tubulaire normale.

On observe une néphropathie glomérulaire chez les rats du G2 (traité par  $AlCl_3$ ), la lésion glomérulonéphrétique proliférative diffuse avec hypercellularité endothéliale et surtout mésangiale ; augmentation de la matrice mésangiale (prolifération endocapillaire), des polynucléaires neutrophiles et des monocytes. La prolifération des cellules épithéliales entraîne la formation de croissants glomérulaires, se voit dans les formes sévères ; glomérulonéphrite rapidement progressive.

L'aspect du parenchyme rénal caractérisé normal ; du groupe G3 (Fig. 35 c) se ressemble à celui du groupe témoin.

La combinaison d'EEC avec l' $AlCl_3$  (Fig. 35 d) a montré la présence de glomérules immatures au niveau du parenchyme rénal.

Les reins de rats traités avec  $AlCl_3$  (Fig. 35 b) présentaient une néphropathie, une hyperplasie mésangiale et une lésion glomérulonéphrétique proliférative.



**Figure 35:** Coupes histologique des reins du groupe : a (G1) : témoin ; b (G2) : 34 mg/Kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j) ; c (G3) : 200 mg/Kg/j d'EEC (30 j) ; d (G4) : 200 mg/kg/j d'EEC et 34 mg/kg d' $\text{AlCl}_3$  (30 j).

**PRN** : parenchyme rénal normal, **G** : glomérules, **GND** : glomérule non défini, **GI** : glomérule immature, **II** : infiltrat inflammatoire, **Cong** : congestion.

Nous pouvons expliquer ce résultat par les actions néphrotoxiques de l'aluminium provenant de son accumulation dans les reins, avec la dégénérescence résultante des cellules tubulaires rénales et d'autre part, l' $\text{AlCl}_3$  génère des espèces réactives de l'oxygène qui provoquent la détérioration oxydative des lipides cellulaires, des protéines et de l'ADN (Kutlubay et al., 2007).

Le stress oxydatif incite à un large éventail de lésions rénales, allant de l'insuffisance rénale aiguë, de la néphropathie perturbatrice et des lésions glomérulaires à l'insuffisance rénale chronique (Small et al., 2012).

Des études antérieures ont révélé que, le traitement par le diéthylnitrosamine induit le stress oxydant et les radicaux libres attaquent les cellules mésangiales et endothéliales, ce qui peut entraîner une altération de la structure et de la fonction du glomérule (Begum et al., 2011).

L' $\text{AlCl}_3$  a également augmenté de manière significative le niveau d'oxydation des lipides dans les tissus rénaux du groupe G2, ce qui était cohérent avec d'autres résultats précédents Pracheta et al., (2011) diminution des marqueurs antioxydants au niveau rénal, peut être due à une diminution de leur expression lors d'une insuffisance rénale et/ou dus aux N-nitrosamines, qui sont considérées comme un facteur de risque de tumeurs cérébrales (Sheweita et Sheikh, 2011).

### **III.4. Activité anti-inflammatoire *in vivo* de la cardamome sur l'œdème de la patte et la péritonite**

#### **III.4.1. L'inflammation et paramètres sériques**

##### **III.4.1.1. Glycémie**

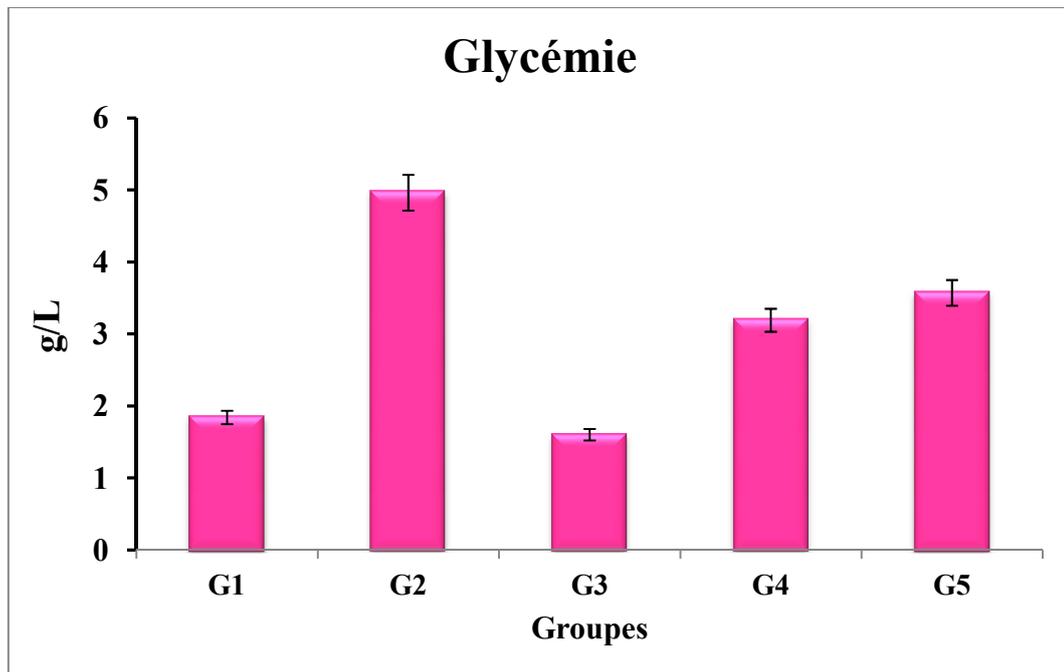
###### **\* Œdème de la patte**

A la lumière de nos résultats (fig. 36), on observe ; après l'injection intradermique (*i.d*) du 200  $\mu\text{L}$  de carragénine aux rats du groupe G2 ; une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) de la glycémie de 2.70 fois comparativement aux rats du groupe témoin (G1).

En revanche, les rats du G4 (qui ont été administrés par 200 mg/kg d'EEC puis injectés par 200 µL de carragénine au niveau de la patte), ont montré une diminution spectaculaire du taux de la glycémie de 35.69 % par rapport au G2.

Les rats du groupe G3 (qui ont reçu uniquement 200 mg/kg d'EEC), ont montré un taux de glycémie similaire à celui du G1.

En outre, les rats de G5 (qui ont été traités par 100 mg/kg de diclofénac et 200 µL de carragénine) ont montré une légère diminution du taux de la glycémie de 28.02 %, tout en comparant aux rats qui ont reçu exclusivement la carragénine (G2).



**Figure 36:** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*).

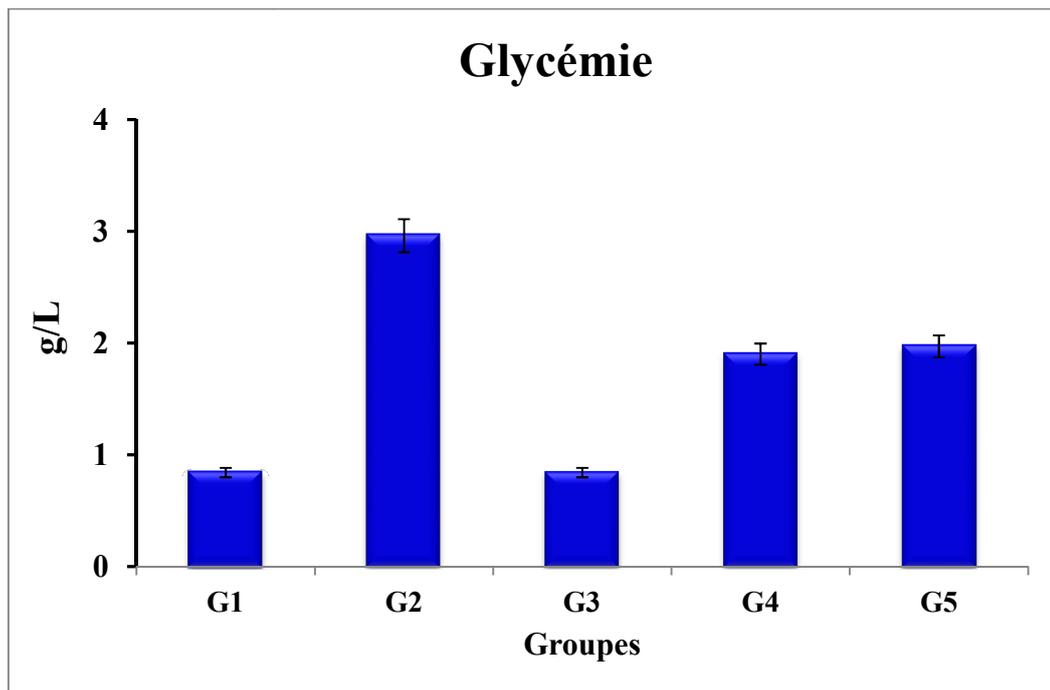
#### \* la péritonite

La [figure 37](#) illustre le taux de la glycémie chez les rats ayant subi une inflammation au niveau du péritoine par l'injection intrapéritonéale de la carragénine.

La teneur en glycémie chez les rats injectés (*i.p*) par la carragénine (G2), est significativement ( $P < 0.05$ ) plus élevée (+ 2.12 g/L) que celle mesurées chez les rats témoins. En effet, les rats témoins (G1) renferment une glycémie de 0.84 g/L.

Cependant, l'administration orale de l'EEC a engendré une diminution significative du taux de la glycémie chez les rats du G4, par rapport aux rats enflammés au niveau du péritoine (G2). De ce fait, comparé au groupe G2, cette diminution glycémique chez les animaux du G4 est de l'ordre de -35.81 %, alors que celle des rats prétraités par le diclofénac (G5) est de -33.45 %.

Par ailleurs, l'administration de l'extrait EEC chez les rats du (G3), n'a pas d'effet significatif sur le taux de la glycémie, et pour cela, celui-ci est similaire à celui du groupe témoin (G1) (0.84 g/L).



**Figure 37:** Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ l de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Le stress oxydatif joue un rôle clé dans la perpétuation de l'inflammation et contribue à l'œdème par la libération de cytokines et est observé dans diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives ainsi que le diabète (Ribezzo et al., 2016).

Le diabète est un groupe de troubles métaboliques dans lesquels, sur une période prolongée, il y a des taux élevés de sucre dans le sang qui résultent de l'incapacité des cellules à répondre correctement à l'insuline, qui est due à des anomalies de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (Alberti et al., 2007).

L'obésité et le diabète type 2 sont liés à un état inflammatoire de bas grade. Les marqueurs d'inflammation sont associés à un risque cardiovasculaire accru (Avogaro et al., 2011).

Selon l'étude de Zahedi et al. (2020) qui ont montré que la glycémie chez des patients en surpoids atteints de diabète sucré de type 2 a diminué considérablement dans l'essai de recevoir de la cardamome (3 g/jour, 6 gélules), suivi d'un placebo (poudre de biscotte, 6 gélules) pour une période de 10 semaines.

Notre étude a montré l'effet hypoglycémiant de l'extrait EEC sur les rats qui ont reçu de la carragénine après avoir été administrés par l'extrait éthanolique de la cardamome. Par contre aucun effet hypoglycémiant n'a été constaté pendant la supplémentation en cardamome verte sur la glycémie à jeun et le poids corporel par rapport au témoin, ceci corrobore les résultats trouvés par Asbaghi et al. (2020) qui n'enregistrent non plus aucune influence d'un régime additionné à la cardamome, mais qu'ils trouvent une réduction considérable des taux des triglycérides.

Cependant, le taux de la glycémie à jeun a été significativement diminué de 31.49% chez les rats traités avec de l'extrait de graines de Cardamome, comparable à la metformine (30.70%) et 31.81 % chez les rats traités avec le BGR-34 (un médicament commercial à base de plantes). Comme cela a été démontré par Paula et al. (2020).

#### **III.4.1.2. Protéines totales**

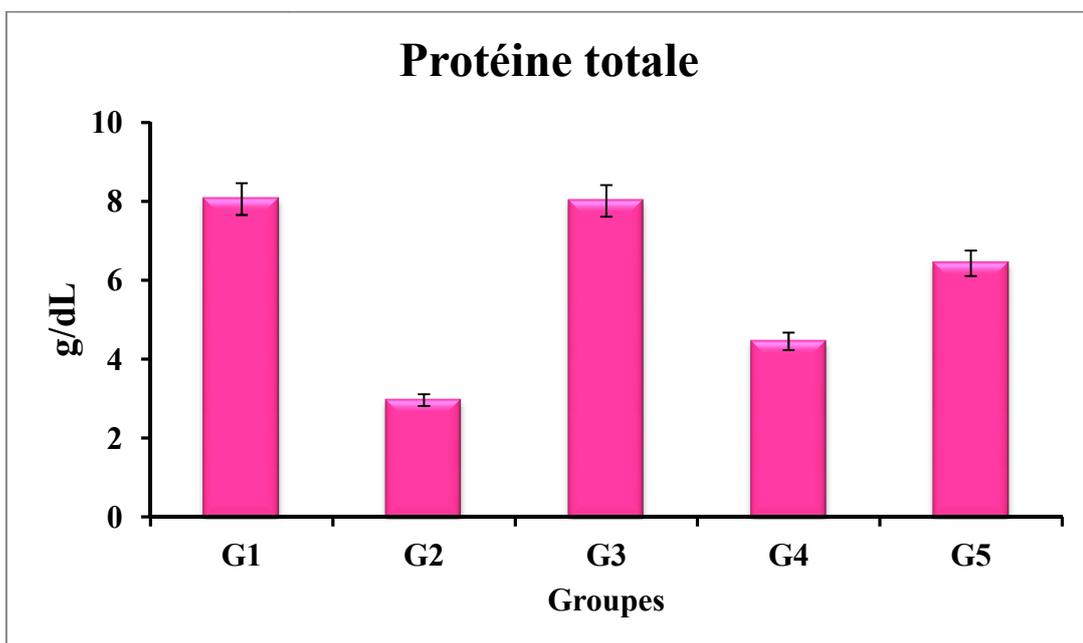
##### **\* Œdème de la patte**

Les teneurs en protéines totales obtenues sur du sérum des rats de chaque groupe sont illustrés dans la figure 38.

Il a été observé, une baisse de la concentration en protéines totales évaluée de 63.28 % dans le groupe injecté (*i.d*) par la carragénine (G2) contre le groupe témoin (G1).

Il ressort que les concentrations de protéines totales n'ont pas été affectées par la supplémentation de l'extrait de cardamome (G3).

Cependant, les rats intoxiqué par la carragénine et qui ont reçu, respectivement, l'extrait de cardamome (G4) et le diclofénac (G5) ont enregistré une augmentation de la concentration sérique de protéines totales ( $P<0.05$ ), de 1.50 et 2.17 fois par rapport au groupe G2.



**Figure 38:** Teneurs sériques en protéines totales (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

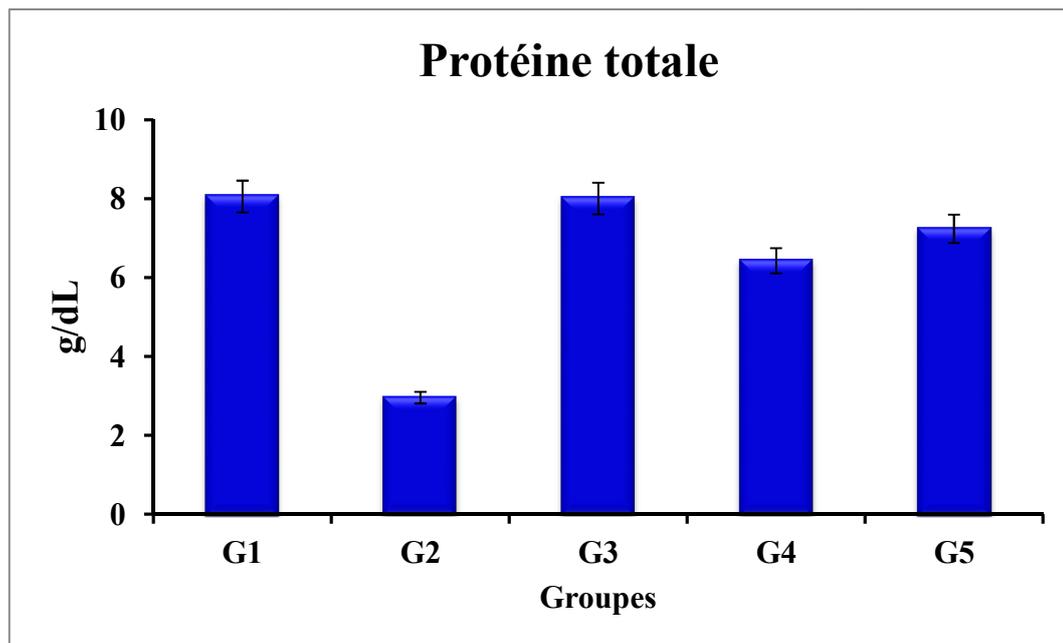
### \* La péritonite

Comparativement au groupe témoin (G1), la tendance est inversée avec les rats qui ont été injectés uniquement par la carragénine (G2), ce qui indique une diminution très significative ( $P < 0.05$ ) des concentrations de protéines totales avec un taux de -63.28 % (figure 39).

L'administration de l'extrait de cardamome aux animaux injectés par la carragénine (*i.p*) (G4), a engendré une augmentation hautement significative ( $P < 0.05$ ) des concentrations de protéines totales de +44.79 % en comparant avec le G2.

Quoique le diclofénac administré aux rats injectés par la carragénine (*i.p*) (G5), génère également une élévation accrue en protéines totales de 4.28 g/dL par rapport au G2.

De plus, la concentration en protéines totales chez les rats administrés seulement par l'extrait EEC est proche de celle du groupe témoin négatif (G1).



**Figure 39:** Teneurs sériques en protéines totales (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

[Kandikattu et al. \(2017\)](#), ont indiqué que l'inflammation induite par la carragénine a dérégulé la hausse de l'expression de la protéine inhibitrice de NOS, tandis que l'administration de 50 et 100 mg d'*Elettaria repens* dans la nourriture des rats a régulé la baisse de l'expression de la protéine i-NOS.

Cependant, l'extrait d'hexane d'*Elettaria Repens* additionné à une dose de 50 et 100 mg dans la nourriture des rats a montré une réduction significative de l'enzyme COX-2 et les activités protéiques enzymatiques rapporté par [Kandikattu et al. \(2017\)](#).

Une diminution de la concentration sérique des protéines totales peut être le signe d'une hépatopathie chronique mais aussi d'une carence nutritionnelle en protéine, d'une anorexie, d'une mal assimilation, d'une perte rénale, d'un épanchement, d'une hémorragie, d'une hyperhydratation, ou de brûlures indiqué par [Dietz et Wiesner \(1984\)](#). Nos résultats ont montré que la cardamome augmente le taux des protéines totales ce qui confirme qu'elle a un effet anti-inflammatoire.

Comme les recherches précédentes ont signalé que la dénaturation des protéines tissulaires est l'un des causes bien documentées de l'inflammatoire ([Williams et al., 2008](#)). Le mécanisme de dénaturation probablement implique une altération de la liaison électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure ([Gupta et al., 2013](#)). Il a été révélé que plusieurs médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'indométhacine, le diclofénac sodique, l'acide salicylique inhibe la dénaturation de l'Albumine de Sérum Bovin (ASB) au pH pathologique (6,2-6,5) ([Williams et al., 2008](#)).

Dans nos résultats, le taux protéique a été réduit sous l'effet de la carragénine, cela s'explique par un catabolisme accru des protéines et/ou un problème de sécrétion au niveau des hépatocytes ([De Andrade Belo et al., 2012](#) ; [Shakya et al., 2012](#)). En effet, [Saba et ses collaborateurs \(2010\)](#) ont démontré que la diminution du taux des protéines est due à l'activation du catabolisme des protéines au cours de l'hépatotoxicité.

### **III.4.1.3. Albumine**

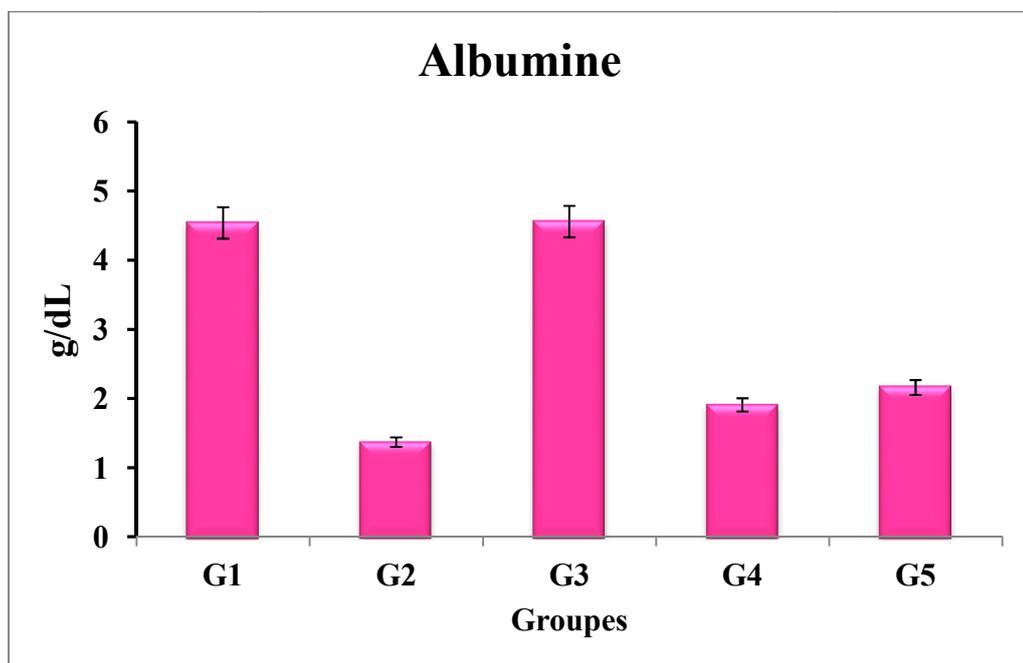
#### **\* Œdème de la patte**

Les concentrations sériques en albumine sont rapportées dans la [figure 40](#).

Par le biais des résultats obtenus, l'injection de la carragénine chez le G2 a entraîné une diminution significative ( $P < 0.05$ ) du taux d'albumine qui est de l'ordre de 1.37 g/dL par rapport au groupe témoin (G1).

En revanche, une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) a été observée chez les rats traités, respectivement, par l'extrait de cardamome (G4) et le diclofénac (G5), dont les niveaux d'albumine sont respectivement plus élevés de 2.31 et 2.44 fois que ceux enregistré chez les rats du groupe G2.

Alors que, le niveau d'albumine ne présente aucune différence significative chez les rats ayant reçu uniquement de la cardamome (G3) en comparant avec le groupe témoin (G1).



**Figure 40:** Teneur de l'albumine (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

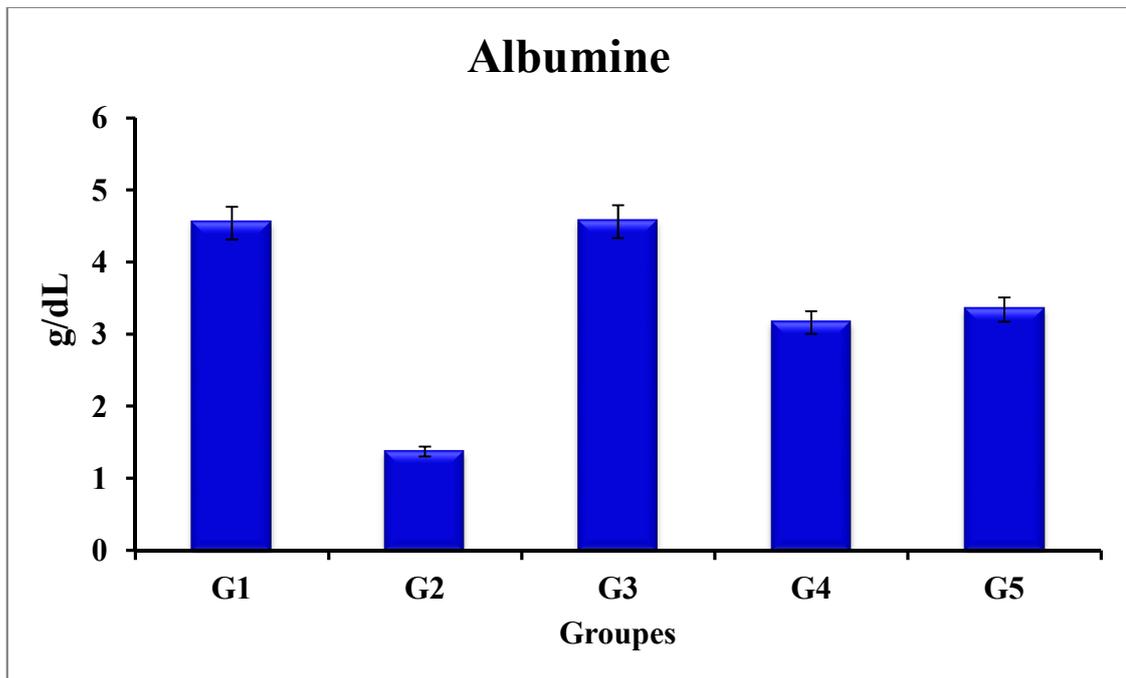
G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

#### \* La péritonite

Il en ressort que l'administration de l'extrait EEC n'affecte pas d'une manière significative les teneurs de l'albumine chez le groupe G3 (4.56 g/dL), celles-ci sont presque similaire pour le groupe G1 (4.54 g/dL) (fig. 41).

En revanche, l'injection intrapéritonéale de la carragénine a modifié significativement ( $P < 0.05$ ) les proportions de l'albumine chez les animaux du G2, en diminuant leurs teneurs avec un taux de 69.82 % en comparant avec le G1.

Cependant, une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) de la teneur en albumine chez les animaux traités par la cardamome (G4) et la diclofénac (G5) et ayant reçu une injection de la carragénine. L'augmentation estimée est de l'ordre respectif de +1.79 et +1.97 g/dL par rapport au G2.



**Figure 41:** Teneur de l'albumine (g/dL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Les protéines totales comprennent surtout l'albumine, les globulines (alpha 1, alpha 2, bêta, gamma) et le fibrinogène. L'albumine et le fibrinogène sont synthétisés par le foie, et les globulines par les plasmocytes (Belier et Michaux, 2007).

Pendant l'inflammation des tissus, il y a normalement une vasodilatation et recrutement de capillaires et au moins des augmentations transitoires de la perméabilité capillaire. Cela conduit à l'extravasation des protéines plasmatiques et à un œdème tissulaire. L'application de substances pro-inflammatoires peut également modifier la structure interstitielle, contribuant à cet œdème (Carlsson et Rippe, 1999).

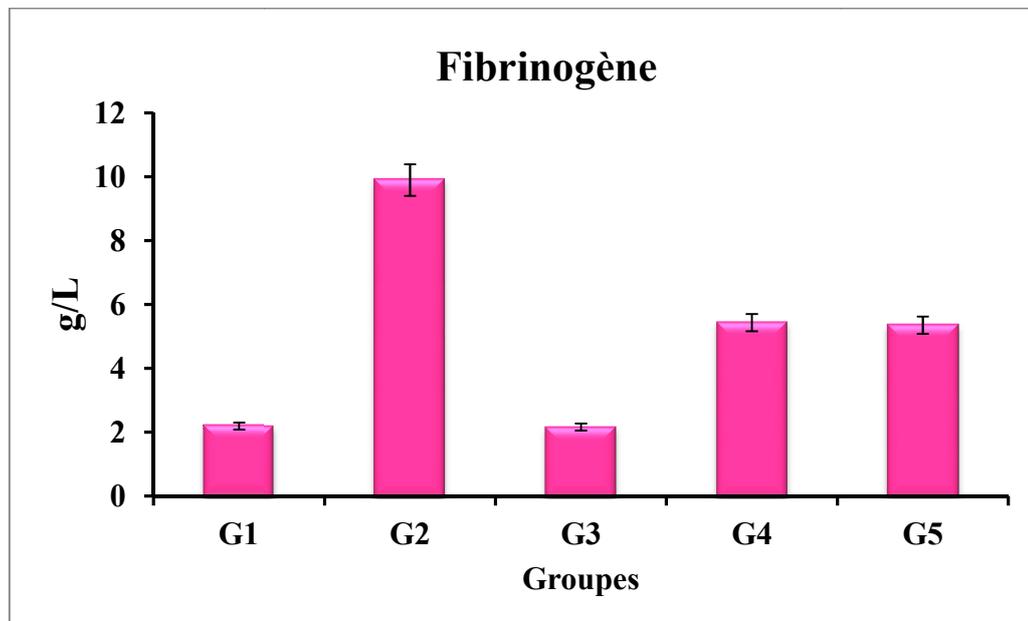
Kaur et al. (2008) ont rapporté que les composés phénoliques épigallocatechine-3-gallate obtenus à partir des graines de cardamome amélioreraient la protéine kinase C dans la membrane externe des régions de l'hippocampe de la souris.

Selon nos résultats, l'extrait d'*Elettaria cardamomum* augmente le taux d'albumine chez les rats qui ont subi une inflammation par la carragénine ; il a un effet hyper-albuminant.

#### III.4.1.4. Fibrinogène

##### \* Œdème de la patte

Les résultats de dosage du taux sérique de fibrinogène ont montré une augmentation hautement significative ( $P < 0.05$ ) de +7.7 g/L chez les rats qui ont été injecté uniquement par la carragénine (G2) par rapport aux rats du groupe G1 (fig. 42).



**Figure 42:** Taux sériques de fibrinogène (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*).

Lorsque les rats ont été traités avec de l'extrait EEC avant d'être injectés au niveau de la patte par la carragénine, le taux de fibrinogène a été bien amélioré avec une réduction de - 4.56 g/L.

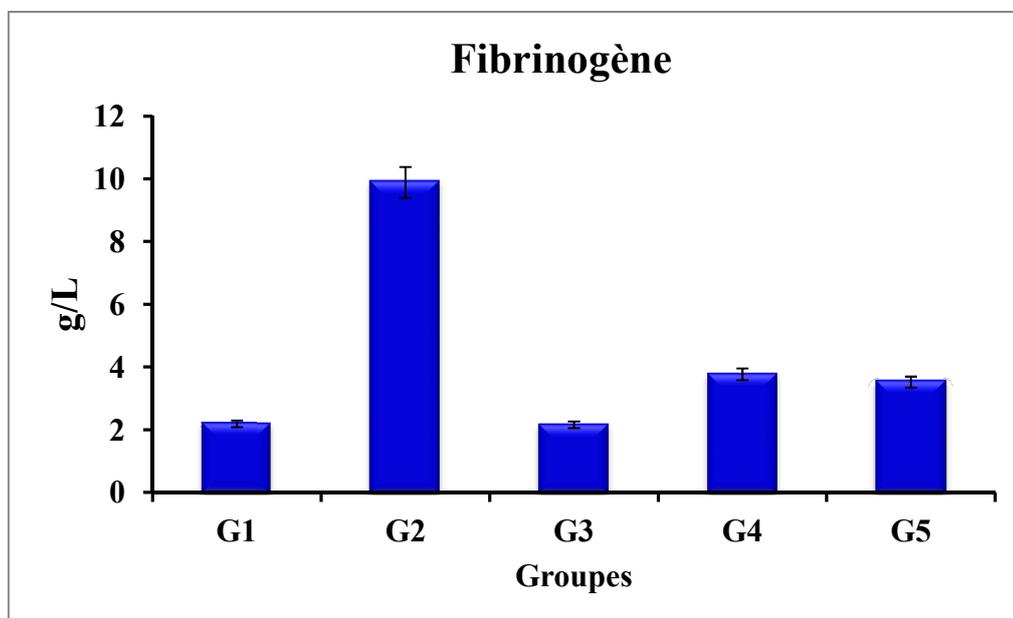
Les rats du groupe traité par le diclofénac réduisent efficacement le taux de fibrinogène (-4.54 g/L) comparativement au groupe G2.

### \* La péritonite

Les teneurs en fibrinogène ont augmenté d'une valeur de 2.19 g/L (G1) pour atteindre 9.89 g/L (G2) (fig. 43), en confirmant l'effet inflammatoire de la carragénine. Cette augmentation est de 4.52 fois le taux du G1.

Cependant, cette augmentation décroît rapidement de - 61.88% chez les rats qui ont été administré par 200 mg/kg d'EEC avant d'être enflammé (G4) par rapport au groupe G2.

En outre, le groupe administré uniquement par 200 mg/kg d'EEC (G3) a montré un taux de fibrinogène similaire à celui du groupe témoin (G1).



**Figure 43:** Taux sériques de fibrinogène (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Le fibrogène est une protéine soluble synthétisée par le foie. C'est un marqueur de l'inflammation (Louisot, 1983).

### III.4.2. Statut antioxydant

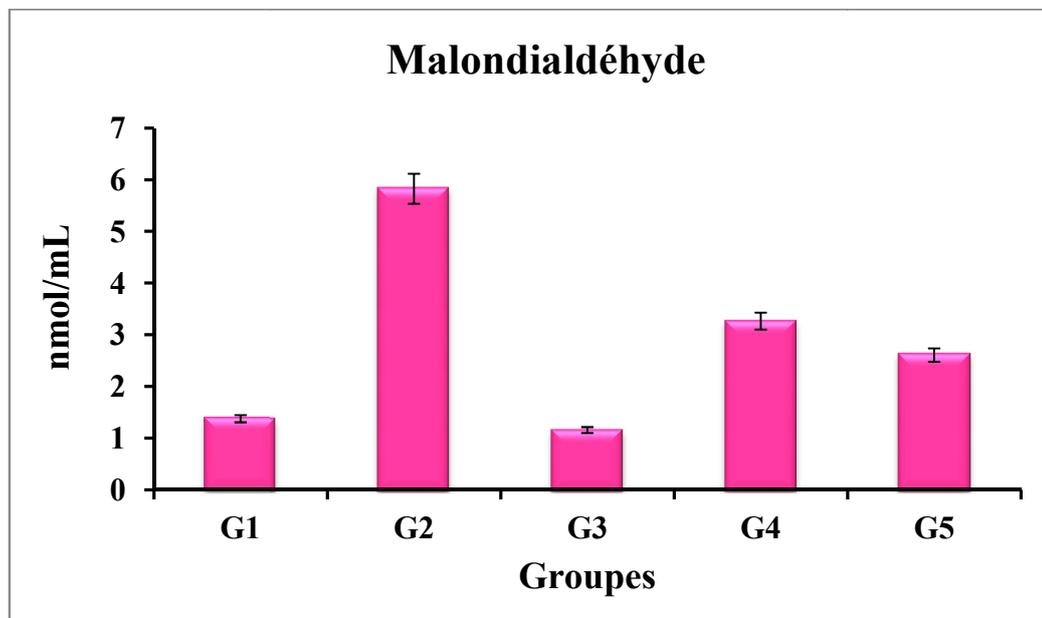
#### III.4.2.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

##### \* Œdème de la patte

Les concentrations du MDA plasmatique des rats exposés aux deux types de l'inflammation sont représentées dans la [figure 44](#).

Selon nos résultats, on remarque que la concentration du malondialdéhyde augmente significativement ( $P < 0.05$ ) de +4.45 nmol/mL chez les animaux ayant reçu uniquement une injection de carragénine au niveau de la patte (G2) en comparant au groupe témoin (G1).

En comparaison avec les rats du groupe G2, l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* EEC a diminué la concentration du MDA chez les rats des groupes G4 et G5, respectivement, de -44 et -55%.



**Figure 44:** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (nmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le

diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

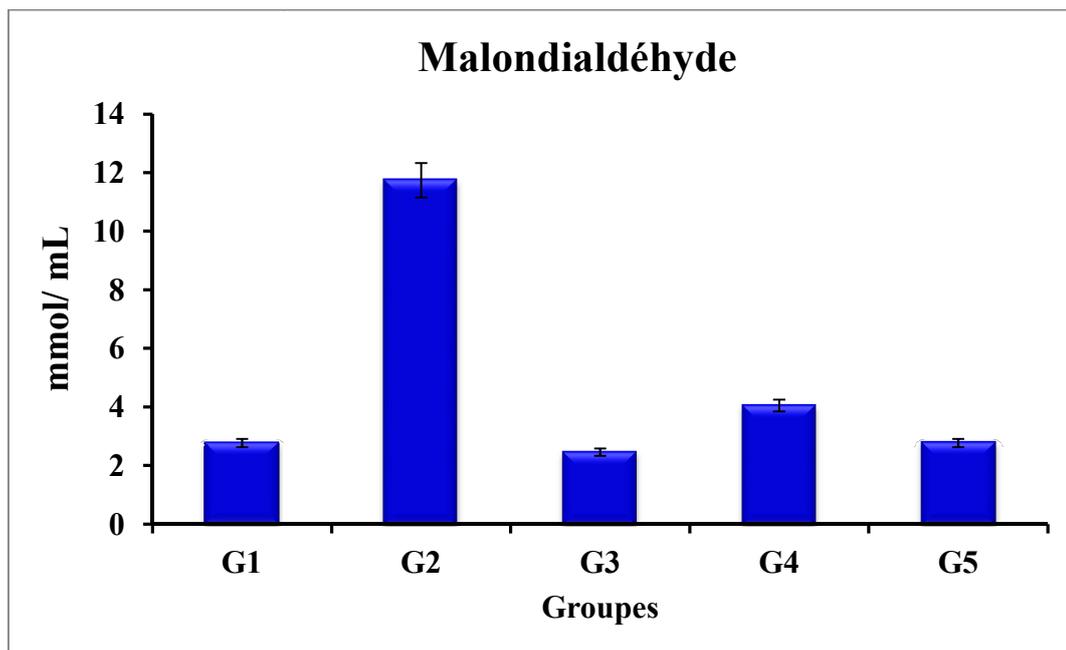
G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

#### \* La péritonite

Les rats du groupe G2 (traités uniquement avec carragénine) ont montré une augmentation très significative ( $P < 0.05$ ) du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le plasma (11.74 mmol/mL) par rapport au groupe témoin G1 (2.77 mmol/mL) (fig. 45).

Chez les groupes G4, l'administration de 200 mg/kg de cardamome, a engendré une diminution significative ( $P < 0.05$ ) du taux de MDA, qui est de 4.05 mmol/mL (+65%) par rapport au G2 (11.74 mmol/mL).

Pour les animaux du G5 qui ont été injectés par la carragénine, le taux du MDA est également diminué en présence du diclofénac (76.47 %).



**Figure 45:** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (mmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Des teneurs analogues ont été enregistrées par [Kandikattu et al. \(2017\)](#) chez des rats qui ont reçu une injection sous-plantaire de carragénine avec des taux élevés de malondialdéhyde dans les homogénats de patte de rats à 3,56 nmol/mg.

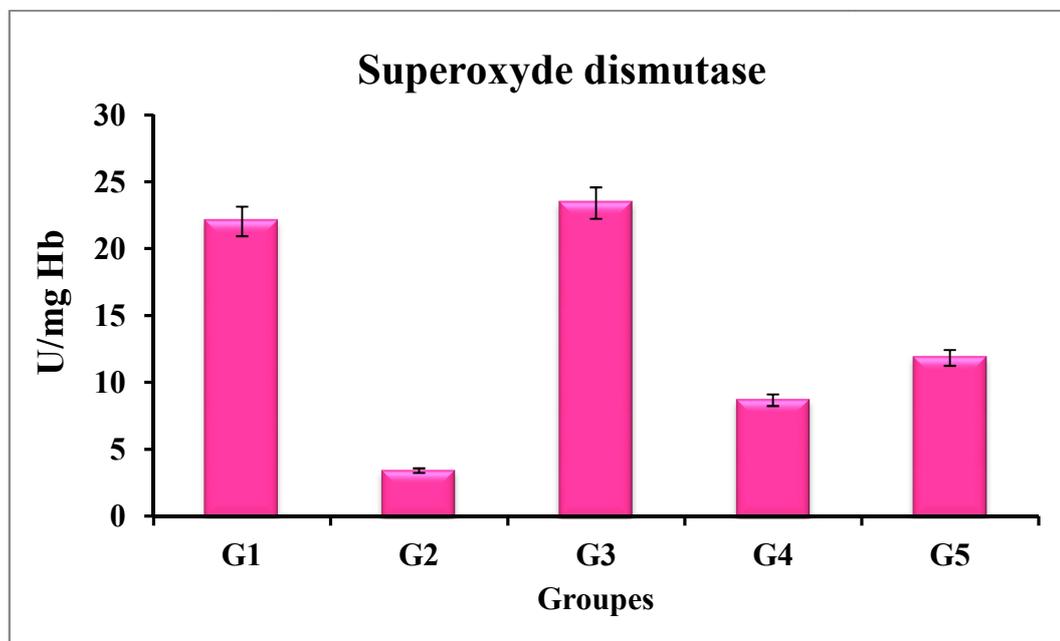
De même, l'effet inhibiteur de l'extrait d'*Elettaria repens* sur la peroxydation lipidique induite par le dichlorhydrate de 2,2-azobis-2-méthyl-propanimidamide (AAPH), a également inhibé les produits de malondialdéhyde dans les homogénats de la patte des rats de 1,68 et 1,52 nmol/mg à des doses de 50 et 100 mg d'*E.repens*, respectivement ([Kandikattu et al., 2017](#)).

Nos résultats ont montré des valeurs inférieures de Malondialdéhyde dans le groupe du diclofénac. Nos observations vont dans le sens de celles de [Kandikattu et al. \(2017\)](#) qui ont montré que les enzymes du complexe malondialdéhyde sont également considérablement réduites avec les rats traités par le diclofénac.

### III.4.2.2. Taux du superoxyde dismutase (SOD), de catalase (CAT) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)

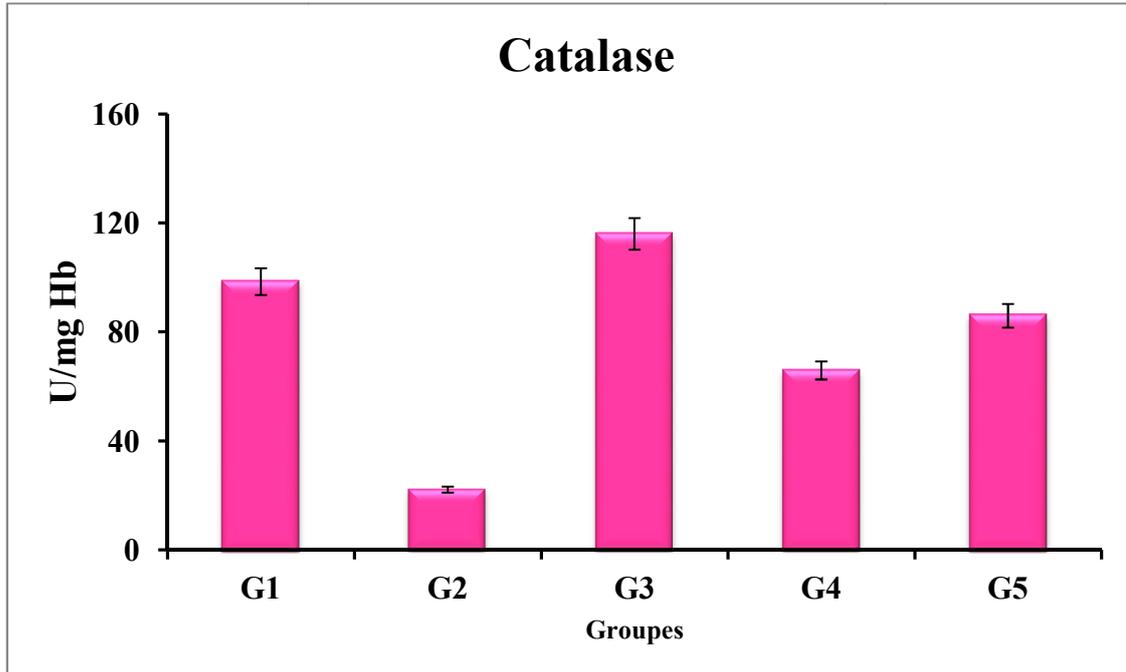
#### \* Œdème de la patte

Les concentrations des enzymes antioxydantes ; superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GSH-Px) sont consignées dans les [figures 46, 47 et 48](#).



**Figure 46:** Taux du superoxyde dismutase (SOD) (U/ mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*).



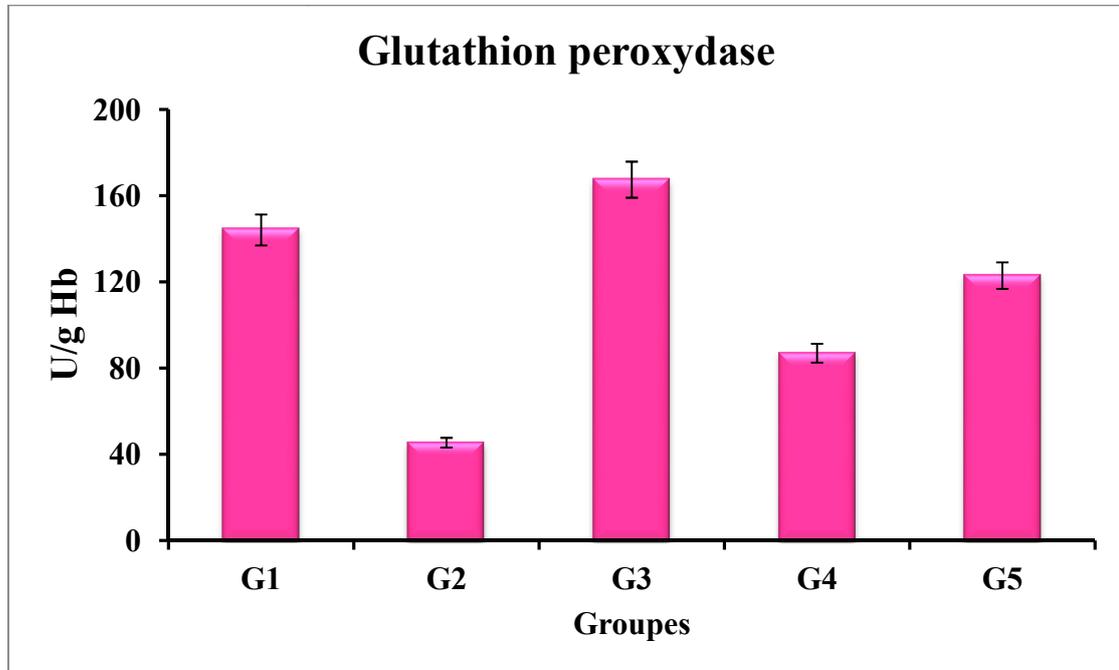
**Figure 47:** Taux du catalase (CAT) (U/ mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*) (1 j) ; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine (*i.d*).

Les résultats montrent que les concentrations en superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase sont significativement diminuées ( $P < 0.05$ ) chez les rats du G2 injectés par la carragénine dans la patte avec des taux respectifs de 3.42, 22.23 U/ mg Hb et 45.38 U/ g Hb, en comparaison avec le groupe G1.

Toutefois, une augmentation très accrue marquée de ces enzymes antioxydantes a été observée chez les animaux du groupe 3 (qui ont reçu uniquement 200 mg/kg/j d'EEC) avec une amélioration de l'ordre de -6.26 % (SOD), -17.77 % (CAT) et -16.01 % (GSH-Px) par rapport aux rats du G1.

L'activité enzymatique a été corrigée et restaurée d'une manière significative ( $P < 0.05$ ) chez les rats ayant subi le prétraitement avec l'extrait de cardamome puis l'injection de la carragénine sur la patte (G4) avec un écart d'augmentation estimé respectivement, de 2.53, 2.97 et 1.92 fois pour les enzymes ; SOD, CAT et GSH-Px.



**Figure 48:** Taux du glutathion peroxydase (GSH-Px) (U/ g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

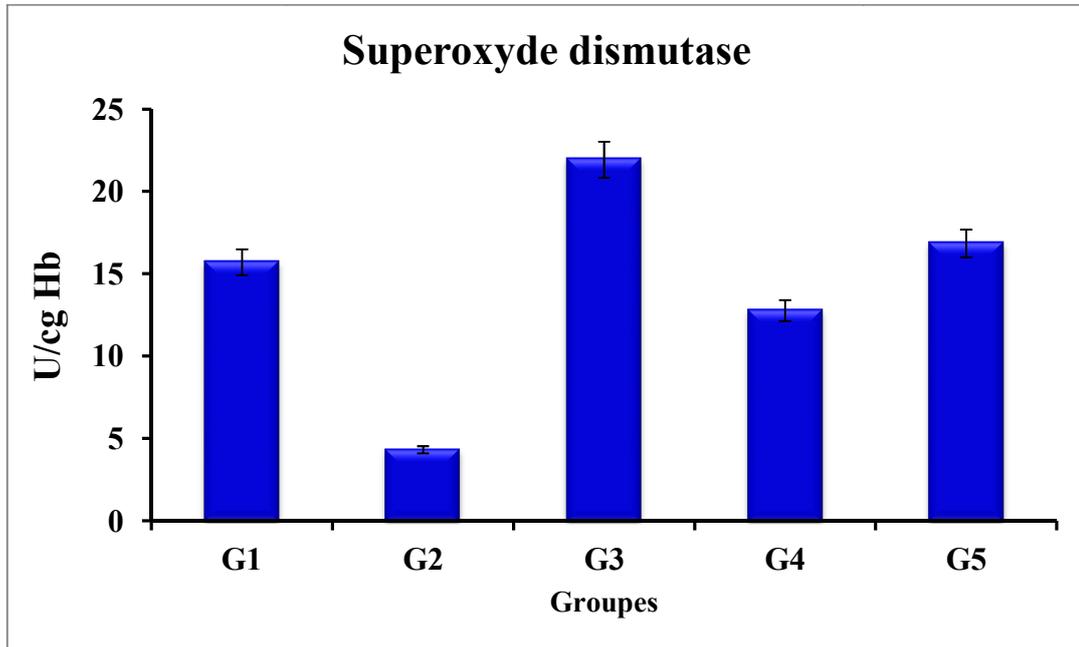
G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

Une amélioration modérée dans l'activité enzymatique de ces enzymes a été révélée chez les rats du G5 (reçu 100 mg/ kg de diclofénac), comparé au G1.

### \*La péritonite

Une réduction hautement significative ( $P < 0.05$ ) de l'activité enzymatique de la catalase, superoxyde dismutase et glutathion peroxydase à des taux respectifs de 72.48, 67.51 et 75.66

%, est due à l'injection intrapéritonéale de la carragénine qui a provoqué la péritonite chez les rats du G2 par rapport au groupe témoin (G1) (figures 49, 50 et 51).



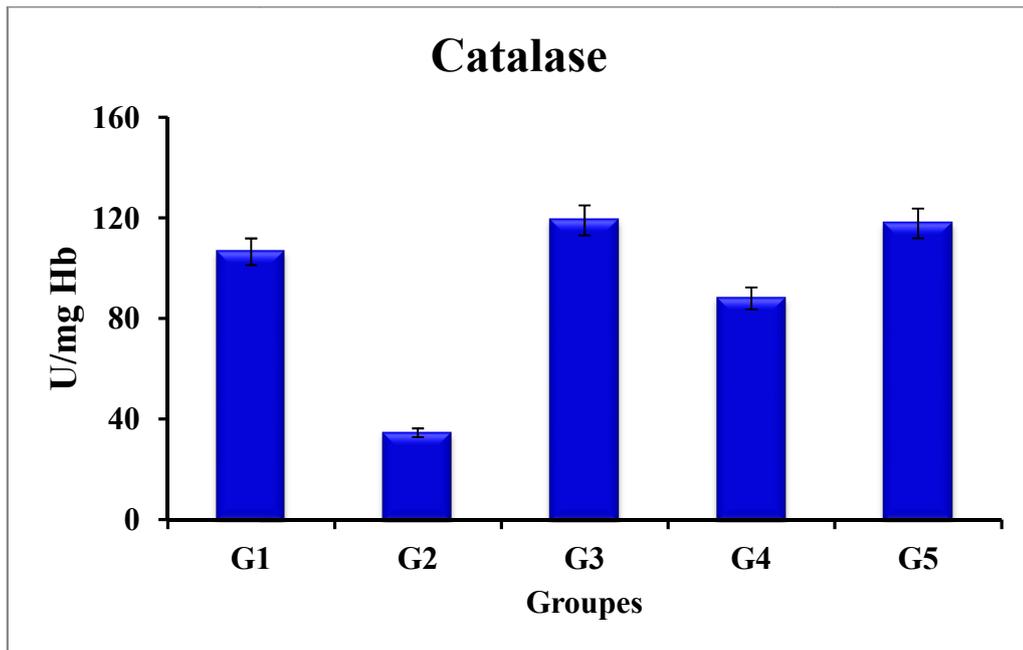
**Figure 49:** Taux du superoxyde dismutase (SOD) (U/ cg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

En revanche, le prétraitement avec l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* a atténué la péritonite induite par la carragénine (G4) à des écarts de concentrations estimés de 8.45 U/cg Hb, 53.39 U/mg Hb et 51.93 U/g Hb comme il est montré respectivement, dans les revenus de l'activité enzymatique du SOD, CAT et GSH-Px, comparativement au G2.

De même, les résultats ont montré que le prétraitement exclusif avec l'extrait éthanolique de cardamome a restauré considérablement l'activité enzymatique de la SOD, CAT et GSH-Px à des taux respectifs de l'ordre de -39.68, -11.73 et -36.30 %, comparé au G2.

Comparé au G2, il convient de noter également, que le prétraitement par le diclofénac a amélioré légèrement les concentrations de SOD, CAT et GSH-Px chez les rats injectés par la carragénine (G5).



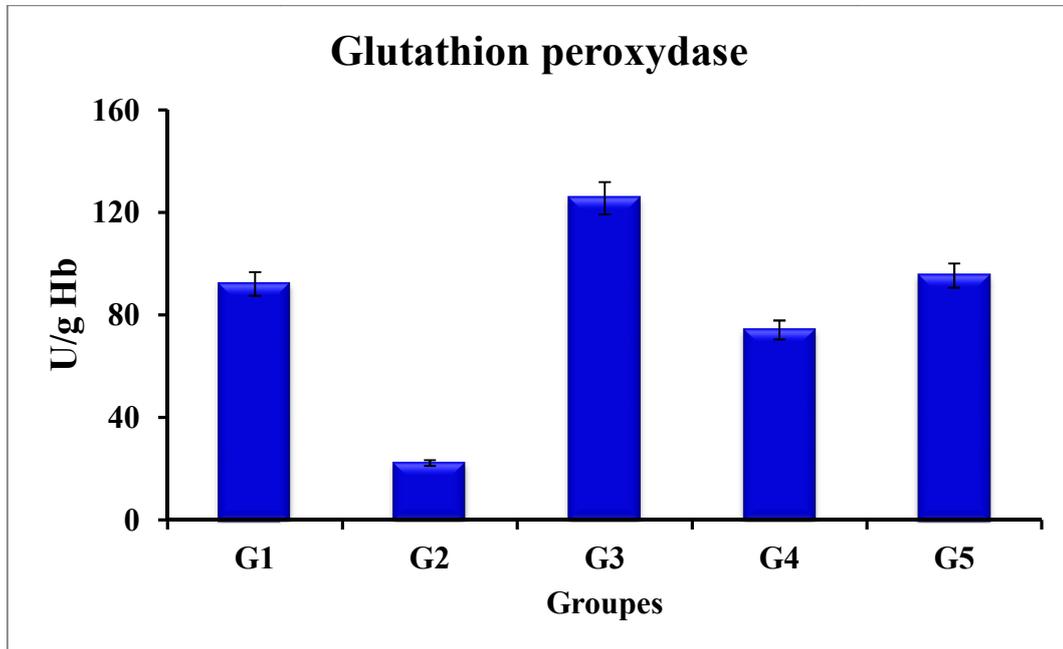
**Figure 50:** Taux du catalase (CAT) (U/ mg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 jours) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*);  
G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Le radical superoxyde ( $O_2^-$ ) produit au cours de la chaîne du transport d'électrons mitochondriale ou en tant que produit de la nitric oxydase synthase, NADPH et xanthine oxydase. L'oxyde nitrique est formé par la NO synthase à partir de la L-arginine et de l'oxygène moléculaire.  $O_2^-$  est la dismutation par la superoxyde dismutase SOD en  $H_2O_2$  qui est ensuite convertie en OH ou détoxifiée par la catalase en eau. En outre, NO et  $O_2^-$  réagissent spontanément et rapidement pour former du peroxynitrite (ONOO) (Kandikattu et al., 2015 ; Hausladen et al., 2017).

Nos résultats ont montré que l'administration de la carragénine aux rats a induit à une réaction inflammatoire d'où l'apparition de l'œdème et l'inhibition des niveaux d'enzymes antioxydantes. En revanche, les rats qui ont reçu de l'extrait EEC avant d'être injectés par la carragénine, ont présenté des taux élevés en enzymes antioxydantes telles que la SOD, ceci corrobore les résultats de Kandikattu et al. (2017) qui ont observé que l'administration d'*Elettaria Repens* restaure la baisse induite par la carragénine des niveaux d'enzymes

antioxydantes telles que la SOD, la catalase et le GSH et inhibe également les produits de peroxydation lipidique.



**Figure 51:** Taux du glutathion peroxydase (GSH-Px) (U/ g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

Toutefois dans l'étude de [Kaur et al. \(2008\)](#), la consommation du thé vert additionné à la cardamome diminue la conversion enzymatique de la glutathion peroxydase, du superoxyde dismutase et de la peroxidation lipidique et augmente la réaction enzymatique de la catalase et de la glutathion réductase.

[El Malti et al. \(2007\)](#) a signalé que le traitement des souris a montré que *E. cardamomum* induisait une augmentation significative du taux de l'activité de catalase (2,57 et 2,60 U/ mg) à 0,003 et 0,3 mg/g d'*E. cardamomum*, respectivement, par rapport au témoin (3.51 U/ mg).

Les antioxydants récupérés des plantes médicinales et les enzymes de différentes dérivées de diverses sources biologiques telles que la catalase, les peroxydases et la superoxyde dismutase

jouent un rôle important dans la minimisation de la vitesse d'oxydation d'autres composés (Angelo, 2009). Les rapports d'Abu-Taweel, (2017) ont confirmé que les composés phénoliques présents dans la cardamome ont révélé des activités antioxydantes.

L'étude de Abu-Taweel, (2017), a conclu que le niveau du GSH était significativement augmenté et que le niveau dépendait de la concentration de la supplémentation en cardamome dans le régime périnatal chez la souris, d'où elle avait une activité prometteuse sur l'amélioration des neurotransmetteurs et que la supplémentation avait également un effet positif sur l'amélioration de la mémoire et d'autres attitudes comportementales chez les souris femelles.

En outre, l'extrait d'hexane d'*Elettaria Repens* additionné à une dose de 50 et 100 mg dans la nourriture des rats a montré une réduction significative de l'enzyme COX-2 et les activités protéiques enzymatiques rapporté par Kandikattu *et al.* (2017).

### **III.4.3. Biomarqueurs de l'inflammation**

#### **III.4.3.1. Taux de prostaglandine E2 (PGE2)**

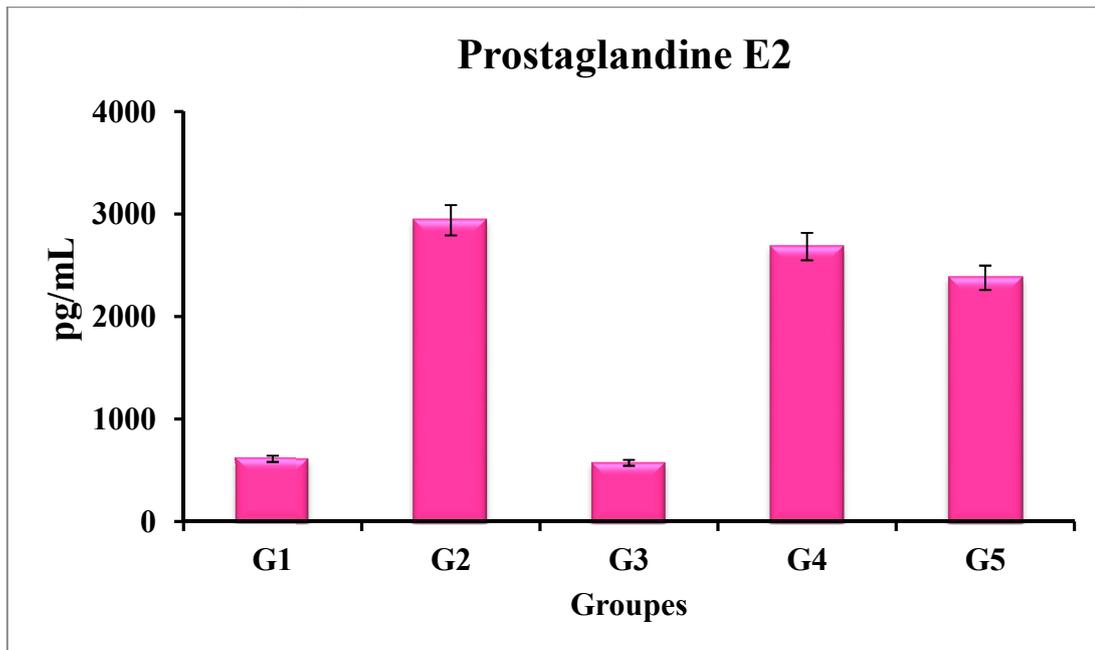
##### **\* Œdème de la patte**

D'après nos résultats rapportés dans la figure 52, l'inflammation au niveau de l'œdème de la patte induite par la carragénine est accompagnée par une augmentation hautement significative (2938.33 pg/mL) ( $P < 0,05$ ) du taux de prostaglandine E2 (PGE2) chez les animaux du groupe témoin négatif (G1) (611.33 pg/mL).

Bien que, le taux de PGE2 a été réduit significativement ( $P < 0,05$ ) de -9.54% chez les rats du groupe G4 (qui ont reçu le pré-traitement de 200 mg/kg d'EEC durant 15 jours puis une injection de carragénine) par rapport au G2.

Cependant, le groupe qui a reçu le diclofénac (G5) a marqué une diminution du taux de PGE2 de -19.09% en comparaison avec les rats du G2 qui ont reçu que la carragénine.

Quoique, les rats traités uniquement par 200 mg/kg d'EEC (G3), ont présenté un taux de PGE2 similaire à celui du groupe témoin G1.



**Figure 52:** Teneurs en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

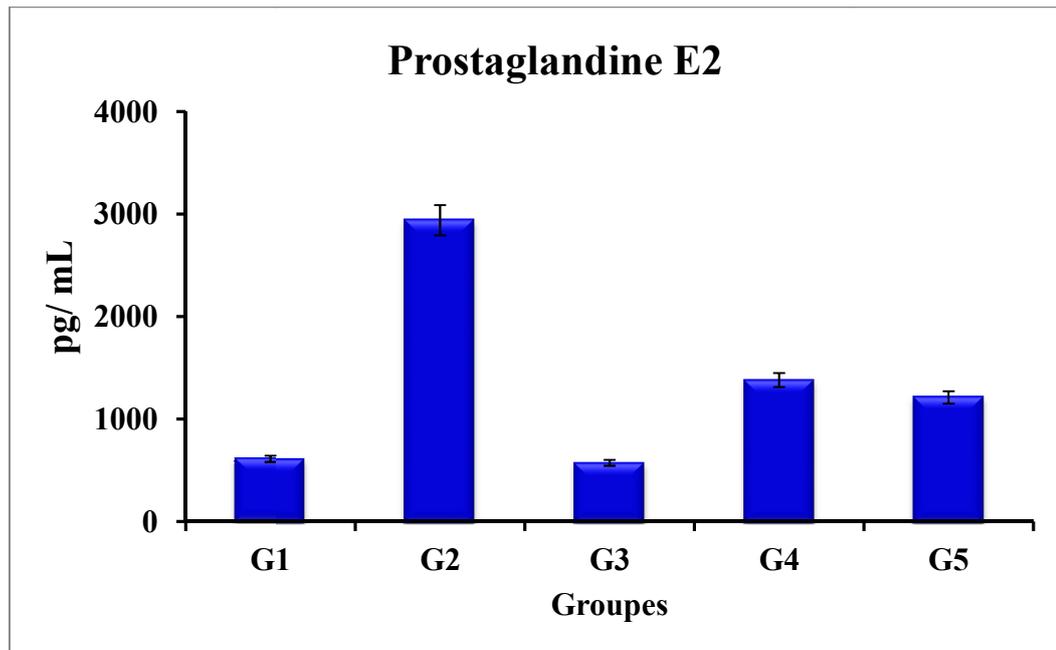
G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

### \* La péritonite

A l'image des résultats illustrés dans la [figure 53](#), on observe une augmentation hautement significative ( $P < 0,05$ ) du taux de PGE2 chez les rats injectés (*i.p*) par la carragénine (G2) d'environ 5 fois en comparant à celui du G1.

Cependant, les rats prétraités par 200 mg/kg/j d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) avant d'être injectés par la carragénine (G4) présentent une diminution de la concentration du PGE2, cette diminution observée est de l'ordre de 2.13 fois par rapport à celui du G2.

Également, une baisse très notable de 2.42 fois a été signalée du taux de PGE2 chez le G5 qui a été administré par le diclofénac et la carragénine en comparaison avec le G2.



**Figure 53:** Teneurs en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

L'inflammation est un processus biologique complexe qui agit comme un système de défense principal pour contrer les stimuli nuisibles contre les organismes étrangers tels que les bactéries et les virus. Cependant, dans certaines maladies auto-immunes telles que la sclérose en plaques et l'arthrite, le corps hôte répond également pour contrer l'aggravation réponse immunitaire pour protéger le système contre l'auto-immunité. Le mécanisme inflammatoire induit IKK et p-65 qui active les cytokines et libère des prostaglandines (PGE) et de l'oxyde nitrique (NO) et induit un œdème (Loram et al., 2007 ; Turner et al., 2014).

Dans notre étude, nous avons observé que l'injection intradermique de la carragénine au niveau des pattes des rats augmentait le taux du PGE2, alors que les rats administrés par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et exposés à la carragénine montraient une réduction du taux de PGE2.

Nos résultats corroborent avec ceux de [Lee et al. \(2008\)](#) ; [Kim et al. \(2015\)](#) qui ont démontré que divers composés de groupes terpénoïdes qui sont également présents dans *E. repens* tels que l' $\alpha$ -pinène, le citral, le sabinène diminuent l'interleukine-6 (IL-6), le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), l'oxyde nitrique (NO), l'oxyde nitrique synthase (i-NOS), la cyclooxygénase (COX-2), et la prostaglandine E2 (PGE2) induits par les lipopolysaccharides (LPS) et les expressions du facteur nucléaire-kappa B (kB) dans les macrophages stimulés par les lipopolysaccharides (LPS).

[Bahmani et al. \(2014\)](#) ont rapporté que les flavonoïdes ont des effets sur les récepteurs opioïdes et les récepteurs alpha-adrénergiques qui peuvent inhiber les enzymes impliquées dans l'inflammation et la douleur. En outre, les flavonoïdes dans les tissus enflammés inhibent la cyclooxygénase, de sorte qu'ils peuvent empêcher la formation de prostaglandines (PGE), ces derniers stimulent les récepteurs de la douleur dans le cerveau indiqué par [Pilehvarian et al. \(2010\)](#).

Des études de [Nijveldt et al. \(2001\)](#) ont montré que la quercétine peut inhiber l'activité de la lipoxigénase et de la cyclooxygénase. En outre, les flavonoïdes comme l'apigénine réduisent l'accumulation de lipides nécessaires au signal de la douleur. Par conséquent, les flavonoïdes réduisent les récepteurs de la douleur inflammatoire en inhibant l'accumulation de récepteurs, rapporté par [Ramezani et al. \(2010\)](#).

De plus, [Pilehvarian et al. \(2010\)](#) ont rapporté que les flavonoïdes ont un effet sur les tissus enflammés en inhibant la cyclooxygénase, afin qu'ils puissent empêcher la formation des prostaglandines. Les prostaglandines stimulent les récepteurs de la douleur dans le cerveau. De nombreuses plantes contenant des flavonoïdes présentent ces fonctions en inhibant la cyclooxygénase.

L'inhibition de la phospholipase A2 conduit à l'inhibition de la conversion de l'acide phosphatidique en acide arachidonique, donc inhibition de la synthèse des prostaglandines ([Lopes et al., 2009](#)) et inhibition de l'inflammation ([Dashti-Rahmatabadi et al., 2009](#)).

De plus, dans notre étude le traitement par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* a réduit la production de prostaglandine E2 pendant l'inflammation péritonéale et œdémateuse. Cet effet peut, au moins en partie, expliquer les anti-œdémogènes et effets anti-

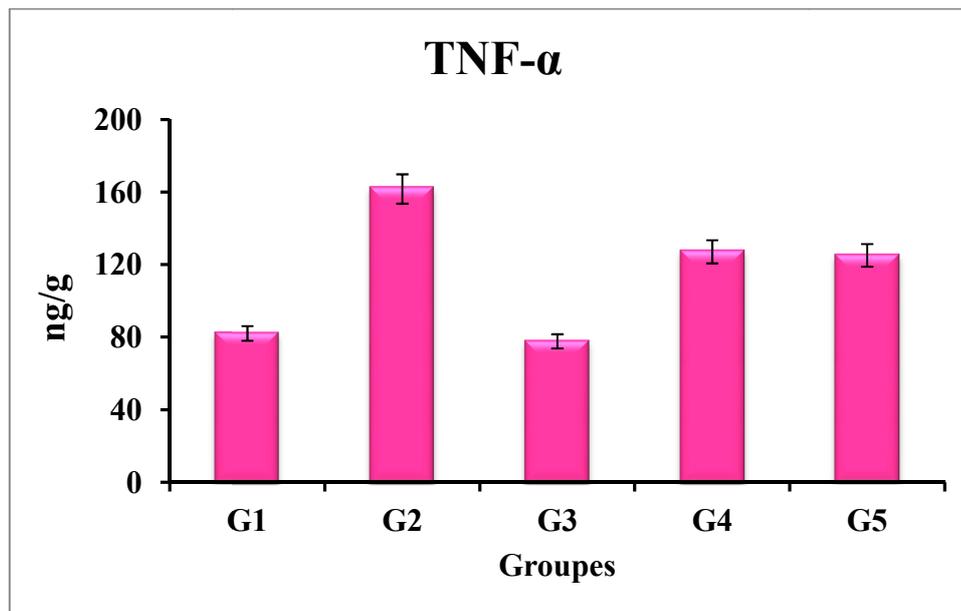
inflammatoires de l'*Elettaria cardamomum* sur l'œdème de la patte et la péritonite, respectivement, induits par la carragénine chez les rats.

Selon Krediet *et al.* (1987) ; Morris (1953), pendant la péritonite, il y a une augmentation du transport des petits et grands solutés entre le plasma et la production d'une migration cellulaire parallèle. Ces observations confirment celles de Woo *et al.* (1986), ou ces changements peuvent être expliqués par la vasodilatation des capillaires dans la membrane péritonéale et l'ouverture aiguë de grands pores dans les micro-vaisseaux causés par des cellules et des médiateurs inflammatoires, tels que la prostaglandine E2.

### III.4.3.2. Détermination du Facteur de nécrose tumorale TNF- $\alpha$

#### \* Œdème de la patte

Les résultats présentés dans la figure 54 dévoilent une teneur très élevée en TNF- $\alpha$  à raison de 97.16 % chez les animaux du G2, ayant subi une injection intradermique de carragénine dans la patte (*i.d*) par rapport au groupe témoin (G1).



**Figure 54:** Teneurs en Facteur de nécrose tumorale TNF- $\alpha$  dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

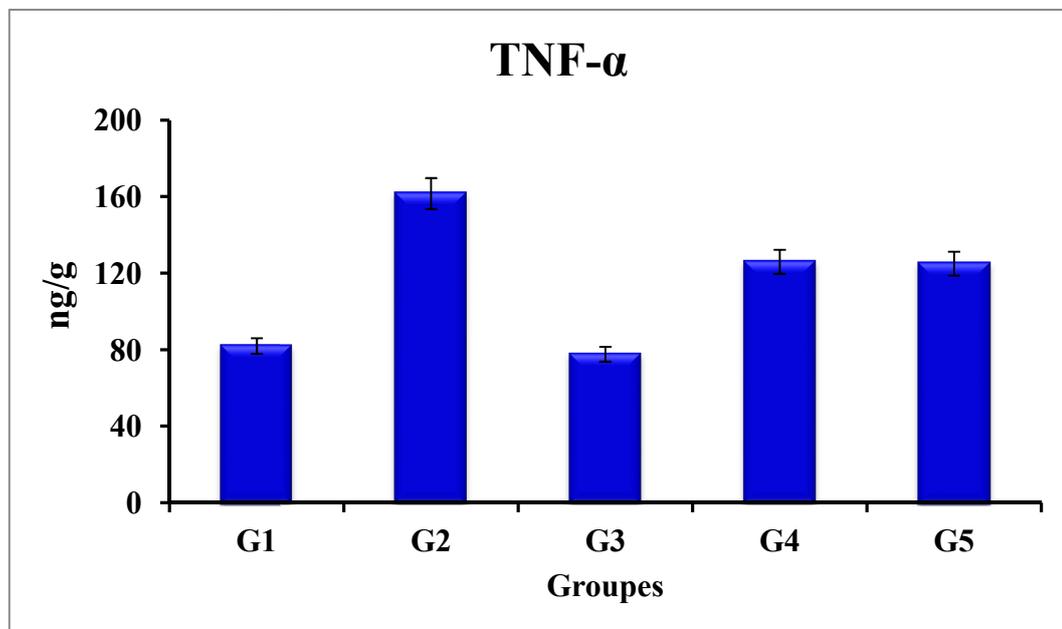
G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.d*).

De plus, comparé au groupe (G2), une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de 22 et 23 % du taux de TNF- $\alpha$  a été observée chez les rats des groupes G4 (qui ont reçu 200 mg/kg EEC puis 200  $\mu$ L de carragénine) et G5 (qui ont reçu 100 mg/kg diclofénac et 200  $\mu$ L de carragénine).

En outre, la proportion en TNF- $\alpha$  du G3 (les rats traités uniquement avec 200 mg/kg/j) (77.67 ng/g) demeure similaire à celle du groupe témoin G1 (82 ng/g).

### \* La péritonite

Une forte production du TNF- $\alpha$  est observée dans les homogénats hépatiques des rats non traités par l'extrait de cardamome et injectés par la carragénine au niveau du péritoine (*i.p*) (G2), avec une moyenne de 161.66 ng/g par rapport au G1 (82 ng/g) (fig. 55).



**Figure 55:** Teneurs en TNF- $\alpha$  dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou la carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 jours) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*); G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine (*i.p*).

La cardamome diminue de manière significative ( $P < 0,05$ ) la production du TNF- $\alpha$  chez le groupe des rats prétraités par l'extrait éthanolique de cardamome et injectés par la carragénine

(G4), cette diminution atteint -22.06 % par rapport aux rats du groupe inflammé (G2). De même, une baisse du taux de TNF- $\alpha$  est enregistrée environ 22.68 % chez le groupe administré par le diclofénac et la carragénine (G5).

L'inflammation aiguë au niveau des pattes induite par la carragénine a été caractérisée comme un événement biphasique et un certain nombre de médiateurs sont impliqués dans cette réaction inflammatoire. L'injection de carragénine dans la zone sous-plantaire de la patte de rat stimule la sécrétion d'un certain nombre de médiateurs inflammatoires comme les cytokines et les prostaglandines rapporté par [Sadeghi et al. \(2013\)](#).

La réponse inflammatoire est associée à la libération de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines et à un déséquilibre nitroso-rédox induit par le stress oxydatif. Parmi ces générations ; le COX-2, IL-6 et TNF- $\alpha$  induisent l'expression de molécules d'adhésion et la séquestration des leucocytes de la circulation sanguine vers le site d'inflammation causant des lésions tissulaires rapporté par [McGettigan et al. \(2013\)](#).

Les protéines IL-6 et TNF- $\alpha$  ont été élevées suite à l'injection sous-plantaire de la carragénine aux rats. Cependant, l'extrait d'hexane d'*Elettaria Repens* à des doses de 50 et 100 mg inclus dans le régime alimentaire des rats a montré une réduction significative des niveaux de protéines de l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) comme mis en évidence par l'analyse Western blot ([Kandikattu et al., 2017](#)).

L' $\alpha$ -phellandène a empêché l'accumulation des neutrophiles induite par la carragénine, a inhibé le roulement et l'adhérence des leucocytes, ainsi que considérablement a inhibé la production des cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$  et IL-6 chez la souris ([Siqueira et al., 2017](#)).

De même, [Kennedy-Feitosa et al. \(2015\)](#) ont signalé que l'eucalyptol de la cardamome a également réduit l'inflammation et le stress oxydatif sur les poumons de souris exposés à la fumée de cigarette à long et à court terme en régulant les niveaux du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine-1 bêta (IL-1b) et l'interleukine-6 (IL-6).

Le terpinen-4-ol d'*Elettaria cardamomum* a pareillement présenté des effets anti-inflammatoires dans le modèle de candidose orale murine en régulant l'activité de la

myéloperoxydase et le taux de protéine inflammatoire des macrophages 2 et a également diminué la sécrétion de cytokines des macrophages indiqué par [Ninomiya et al. \(2013\)](#).

Le traitement à l'eucalyptol de la cardamome a diminué l'infiltration leucocytaire, l'activité myéloperoxydase et la production du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine-1 bêta (IL-1 $\beta$ ), l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) et l'interleukine-6 (IL-6) chez les souris déficientes de canal cationique potentiel du récepteur transitoire mélastatine (TRPM8) qui est un modèle d'inflammation pulmonaire et aussi chez les souris avec administration intra-nasale de lipopolysaccharide ([Caceres et al., 2016](#)).

Cependant, nos résultats sont en accord avec ceux de [Souissi et al. \(2019\)](#) qui ont remarqué qu'à une concentration testée de 0,03% d'extrait du fruit d'*Elettaria cardamomum* sur des cellules de monocytes et de macrophages incubées dans une solution de l'aggregatibacter actinomycetemcomitans lipopolysaccharide (AAL), a eu une réduction de la sécrétion du TNF- $\alpha$  et d'IL-8 de 98.7% et 90.3%, respectivement.

Une étude de [Zhao et al. \(2014\)](#) chez des souris a montré que l'eucalyptol supprimait la production de cytokines pro-inflammatoires induite par les lipopolysaccharides (LPS) par l'action du facteur nucléaire-kappa B (NF- $\kappa$ B), du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), de l'interleukine-1 bêta (IL-1 $\beta$ ) et de l'interleukine-6 (IL-6).

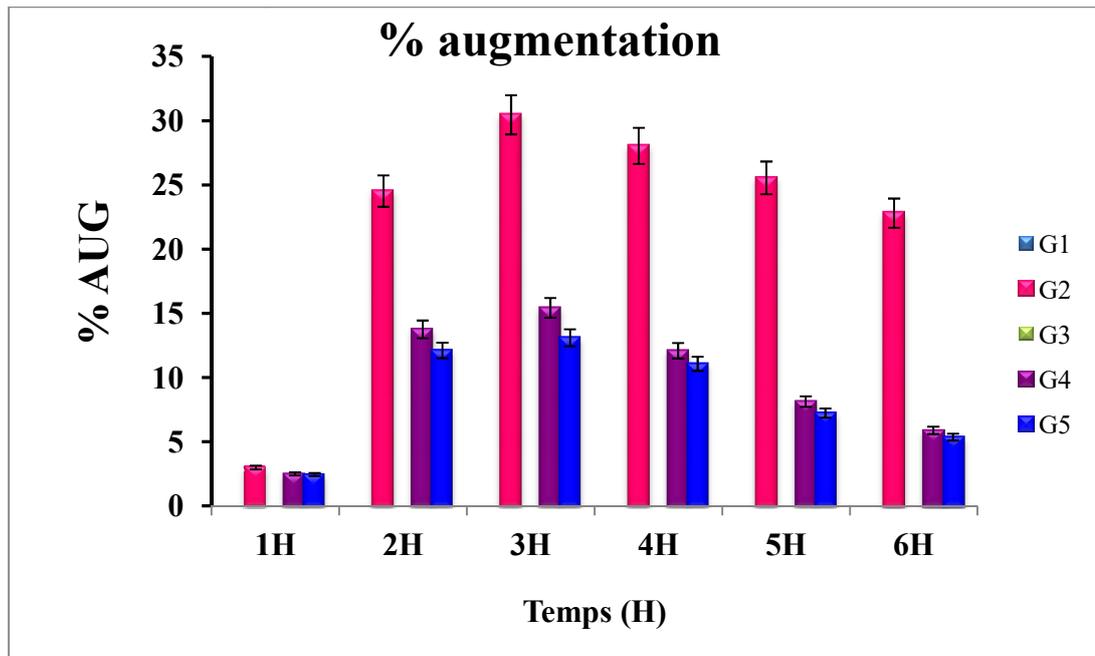
#### **III.4.4. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG)**

Les pourcentages de l'augmentation du volume de la patte sont présentés dans la [figure 56](#).

Les données illustrées dans la figure indiquent une augmentation progressive du volume de l'œdème de la patte suite à l'injection de la carragénine, atteignant à 3 heures un seuil optimal de 30.46 % chez les animaux du groupe témoin (G2).

A partir de la troisième heure, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des rats de chaque groupe commence à se réduire progressivement.

Après six heures d'expérimentation, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des rats de tous les groupes est significativement diminué ( $P < 0.05$ ) comparé à celui de la première, deuxième et troisième heure.



**Figure 56:** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (% AUG) des rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou ma carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ l de carragénine; G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ l de carragénine; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ l de carragénine.

L'administration de 200 mg/kg/j d'extrait de cardamome aux rats du G3 montre une meilleure prévention (0 % d'augmentation) de l'œdème de la patte. Cependant, les pourcentages d'augmentation de l'œdème inflammatoire de pattes des rats du groupe 4 (qui ont reçu l'EEC puis la carragénine) sont moins importants ; par rapport au groupe G2 ; ils sont de l'ordre de 2.50, 13.76 et 15.42%, respectivement, aux temps de la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> heure après injection de la carragénine.

De plus, à partir de la 4<sup>ème</sup> heure jusqu'à la 6<sup>ème</sup> heure, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des rats traitées par l'extrait EEC montrent des valeurs significativement réduites ( $P < 0.05$ ) comparées aux valeurs des trois premières heures, respectivement, 12.09, 8.13 et 5.89 %.

Les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire qui est le diclofénac à raison de 100 mg/kg/j provoque une diminution du volume de la patte des rats pendant les six heures de l'expérimentation. En effet, cette réduction significative est

observée à partir de la 3<sup>ème</sup> heure et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation. A la fin de l'expérimentation (6<sup>ème</sup> heure), le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des rats est de 2.93 fois moins important que celui de la 1<sup>ère</sup> heure.

La carragénine est un groupe complexe de polysaccharides constitués de répétition de monomères liés au galactose. La forme lambda du carragénine est utilisée pour induire une réponse inflammatoire, qui est observé sur l'œdème par une libération d'agents pro-inflammatoires, l'oxygène réactif et les espèces azotées, afin d'étudier les activités anti-inflammatoires des composés végétaux/pharmaceutiques (Morris, 2003).

Le choix de l'animal a été jugé comme étant très important pour la performance de ce test d'inflammation. Les rats Wistar-Albinos se sont révélés très appropriés en contraste à d'autres (Woode et al., 2009).

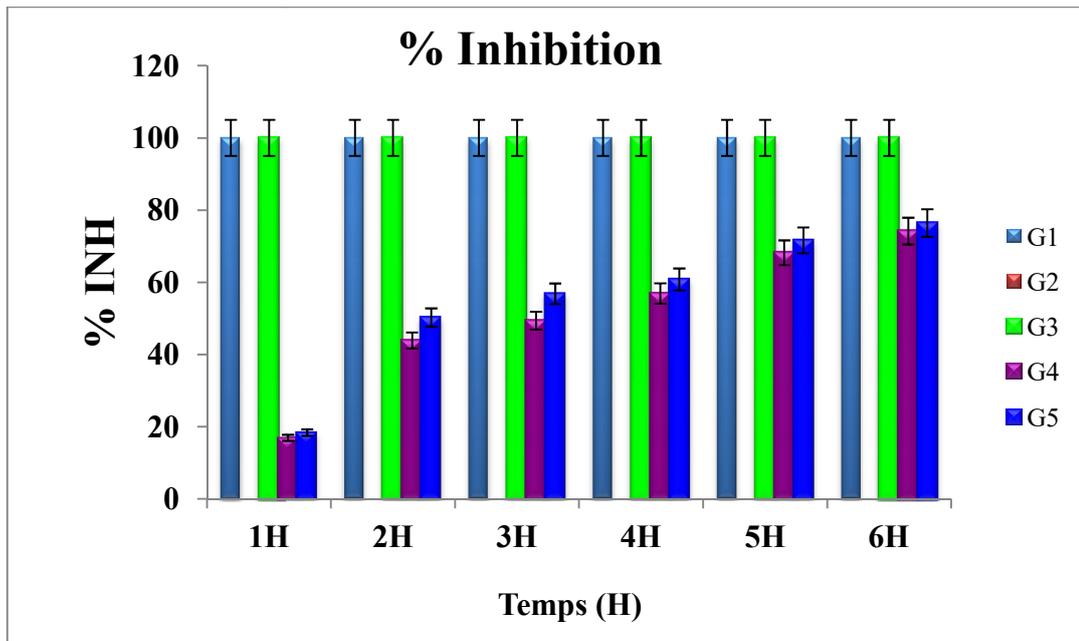
L'inflammation est une augmentation de la surface du tissu vasculaire due à une irritation locale causée par des agents pathogènes ou des cellules endommagées (Elinav et al., 2013).

La provocation à la carragénine a augmenté en fonction du temps l'œdème de la patte des rats. La pré-alimentation des rats par l'extrait d'hexane d'*Elettaria Repens* à une dose de 50 et 100 mg a diminué efficacement l'œdème sous-plantaire de la patte induit par la carragénine d'une manière dose-dépendante similaire à celle des rats traités au diclofénac, rapporté par (Kandikattu et al., 2017).

Quoique, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et stéroïdiens sont couramment utilisés pour inhiber les conditions cliniques associées à l'inflammation. Cependant, il existe des complications secondaires associées à la sur-utilisation de ces médicaments en entraînant également une réduction de la résistance aux infections (Shebl et al., 2014).

#### **III.4.5. Le pourcentage d'inhibition du volume de la patte (% INH)**

La figure 57 montre le potentiel inhibiteur de l'extrait éthanolique d'*E. cardamomum* et le diclofénac sur l'évolution de l'œdème de la patte des rats des différents groupes.



**Figure 57:** Pourcentage de l'inhibition du volume de la patte (% INH) des rats traités ou/non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou ma carragénine et/ou le diclofénac. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$  SEM (n = 6).

G1 : témoin ; G2 : eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine; G3 : 200 mg/kg d'EEC (15 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine; G5 : 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine.

Il ressort que l'administration du diclofénac à une dose de 100 mg/kg/j présente une inhibition hautement significative ( $p < 0,05$ ) de l'œdème de la patte des rats de la première à la sixième heure. En effet, cette inhibition atteint 76.42 % à la sixième heure de l'expérimentation.

Il importe de signaler que l'administration de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* aux rats suivie d'une injection par la carragénine, exerce une activité inhibitrice sur l'œdème de la patte des rats, cette activité augmente progressivement jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation, à ce stade sa valeur est 4.39 fois plus élevée que celle notée à la première heure.

De plus, une différence significative est notée entre les valeurs du pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume des pattes de 43.88, 49.38, 56.87 et 68.2 %, respectivement, pendant la deuxième, troisième, quatrième et cinquième heure.

Cependant, l'extrait EEC (G4) procure d'une efficacité de l'inhibition de l'inflammation (74.18 %) proche à celle aperçue par le diclofénac G5 (76.42 %). D'après [Majdalawieh et al. \(2010\)](#), l'extrait de graines d'*Elettaria cardamomum* a également montré une activité anti-inflammatoire *in vitro*.

[Huang et al. \(2015\)](#) a montré que le l'eugénol a présenté un mécanisme de protection dans les lésions pulmonaires aiguës induites par l'aggregatibacter actinomycetemcomitans lipopolysaccharide (AAL) en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires et en régulant également l'inflammation et le statut redox.

Le D-Limonène démontre des effets anti-inflammatoires à la fois *in vivo* et *in vitro* ([Alessio et al., 2013](#)). Le farnesol a un potentiel d'immuno-modulation contre l'inflammation allergique asthmatique en régulant les médiateurs inflammatoires chez les souris sensibilisées et stimulées à l'ovalbumine ([Ku et al., 2015](#)).

Le sabinène d'*Elettaria cardamomum* possède une activité anti-inflammatoire contre la provocation par les lipopolysaccharides qui induisent la génération de NO médiée par les radicaux libres dans les macrophages indiqué par [Valente et al. \(2013\)](#).

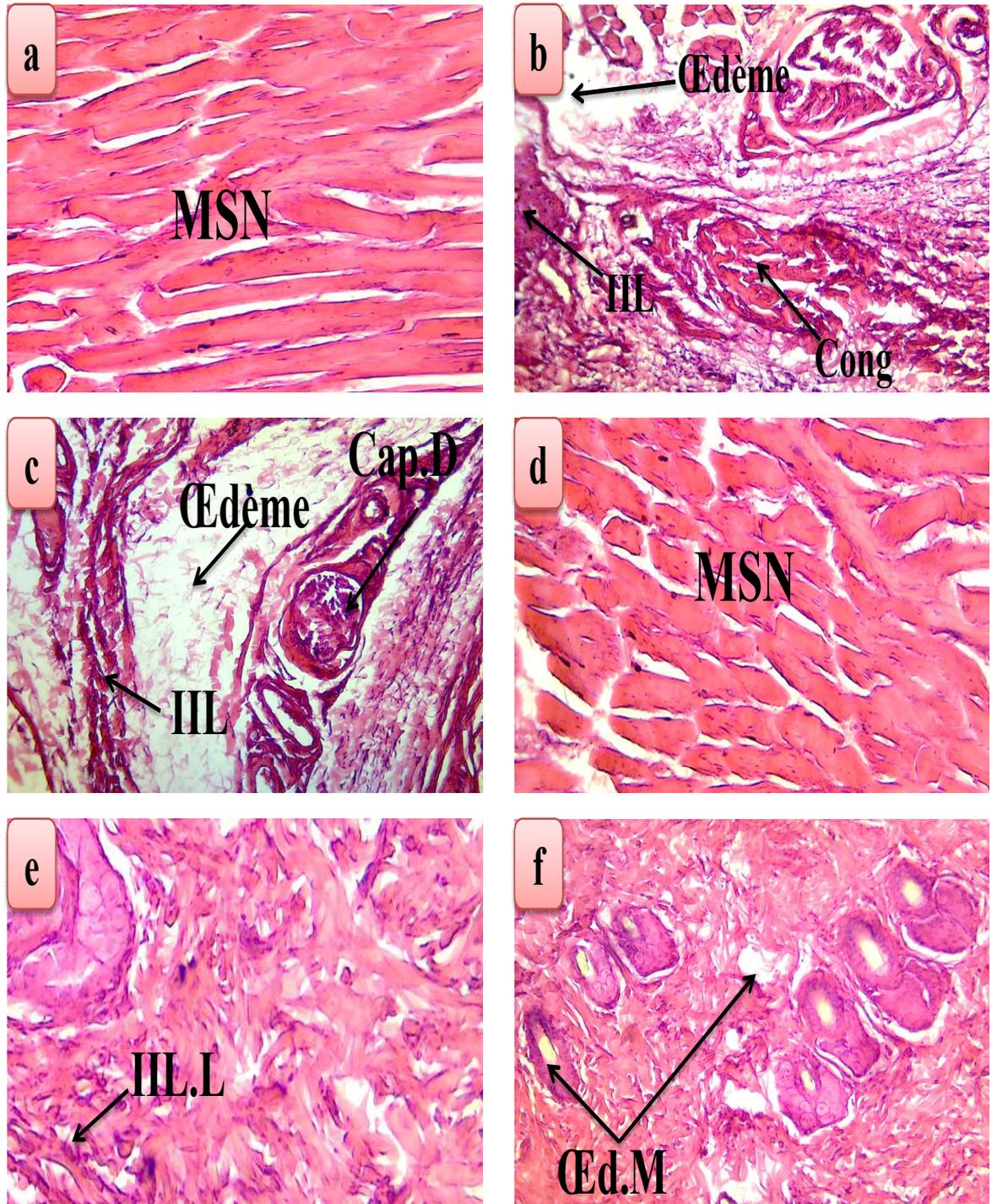
En ce qui concerne le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte, nos résultats confirment les tendances constatées par [Arpith et al. \(2019\)](#), d'où ont signalé que l'acétate d' $\alpha$ -terpényle de la cardamome administré en une seule dose orale n'a pas montré toute inhibition significative de l'œdème de la patte jusqu'à la 5ème heure après l'administration de carragénine.

### **III.4.6. L'étude histologique**

#### **III.4.6.1. Histopathologie des pattes**

L'observation microscopique réalisée sur une coloration topographique des coupes histologiques de pattes révèle l'action inflammatoire due à l'injection de 200  $\mu$ L de carragénine par voie intradermique (G2) au niveau de la patte des rats ([fig. 58 b,c](#)).

Cette inflammation aigue ce traduit au niveau d'architecture tissulaire par la présence des infiltrats inflammatoires surtout au niveau des lymphocytes, intenses pseudo-folliculaires polymorphes associés à l'œdème entre les faisceaux musculaires au niveau du derme profond accompagné d'une destruction osseuse très intense au niveau du foyer lésionnel. On a observé également une atteinte très marquée avec une dilatation et congestion des capillaires.



**Figure 58:** Coupes histologique de pattes du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 jours) puis 200  $\mu$ L de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; (e) : G4 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine.

**MSN** : muscle strié normal, **Cong** : congestion, **IIL** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire, **Cap.D**: capillaire dilatée, **IIL.L** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire léger, **Œd.M** : œdème modéré.

Par ailleurs, un aspect architectural présentant un muscle strié plus ou moins régulier des pattes des rats du groupe G3 (qui ont reçu uniquement la cardamome) (fig. 58 d) comme quasiment celui du groupe témoin (G1) (fig. 58 a).

De plus, chez le G4 on a remarqué un aspect microscopique d'une apparence cohérente du tissu conjonctif, détériorée subtilement au niveau du derme profond. Cette irritation modérée est accompagnée par un infiltrat pré-vasculaire avec une dilatation très atténuée des capillaires (fig. 58 e). Toutefois, les rats du G4 ont répondu positivement et efficacement au pré-traitement par l'extrait EEC d'où leurs structures semblent être restaurées par rapport à celle retrouvée chez le G2 (fig. 58 e).

Dans le même contexte, les rats traités par une dose de 100 mg/kg/j de diclofénac (G5) montre un œdème modéré au niveau du revêtement cutané autour des structures vasculaires (fig. 58 f).

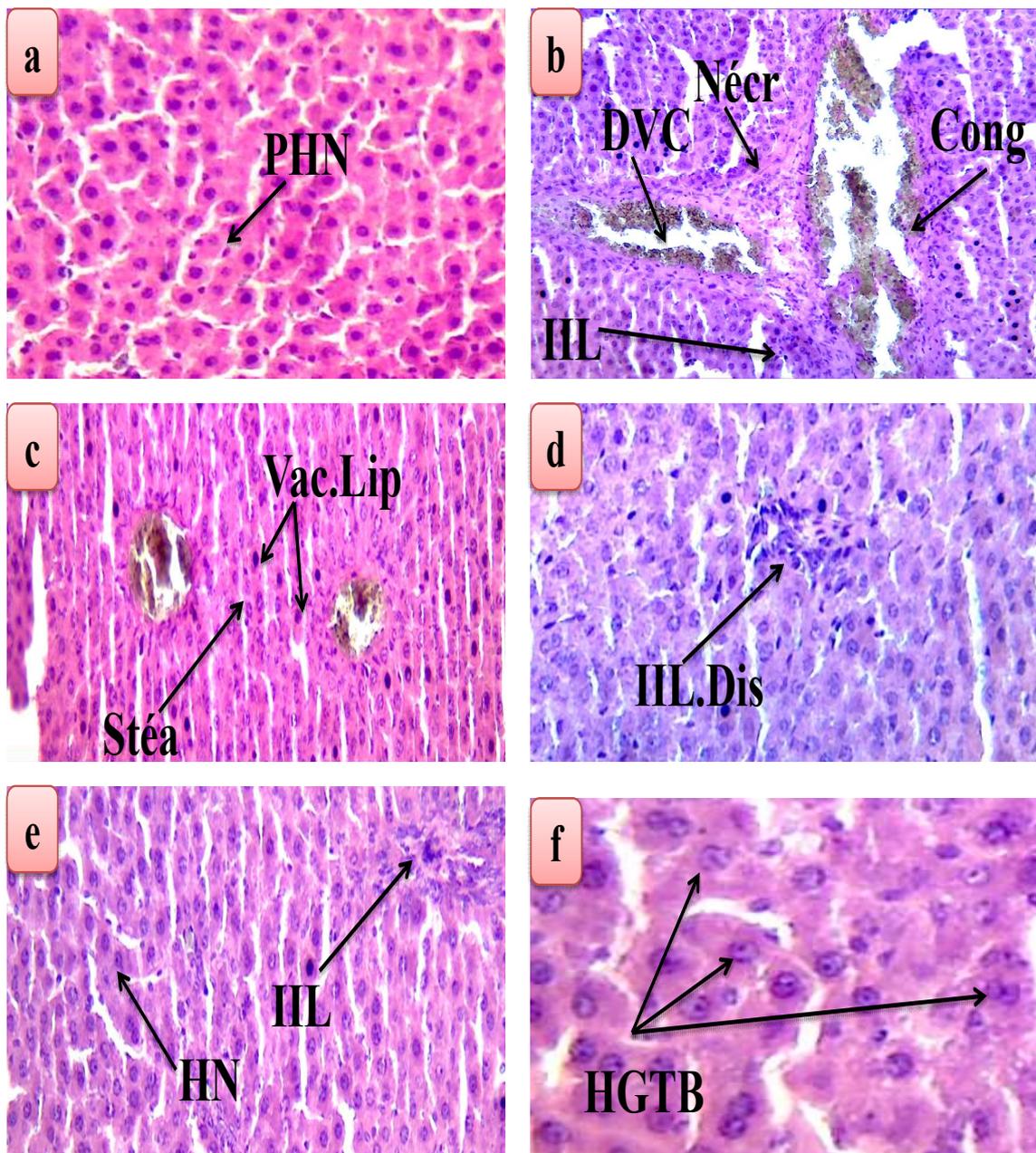
#### **III.4.6.2. Histopathologie du foie**

L'étude histologique des rats du groupe témoin (G1) révèle une structure histologique normale du parenchyme hépatique, les veines centro-lobulaires ainsi que les hépatocytes (figure. 59 a). De même, les rats administrés uniquement de 200 mg/kg de cardamome (G3) (fig. 59 d) ont montré sur le tissu hépatique une anatomie similaire à celle observée chez le groupe témoin.

A contrario, la coupe histologique des cellules hépatiques des rats exposés à l'inflammation par la carragénine (au niveau du péritoine) (G2), dévoile un parenchyme hépatique siégé d'un gonflement très accentué, des infiltrats inflammatoires lymphocytaires autour des espaces portes, des vacuoles lipidiques au sein des hépatocytes formant des foyers de stéatose ainsi que la présence d'une nécrose bien étendue (fig. 59 b,c).

En revanche, le prétraitement avec l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* chez les rats exposés à une inflammation du péritoine, a révélé des hépatocytes avec une dégénérescence hydropique, considérée comme un aspect microscopique normal, avec un cytoplasme bien préservé et un noyau très important ainsi qu'un infiltrat inflammatoire discret. De même, aucune nécrose ni de lésions ne sont observées (figure 59 e).

La (figure 59 f) nous a permis d'observer qu'au niveau des cellules hépatiques des rats qui ont reçu le diclofénac, une architecture cellulaire bien préservée, ainsi que des hépatocytes



**Figure 59:** Coupes histologique de foie du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 jours) puis 200 µL de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; (e) : G4 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200 µL de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200 µL de carragénine.

**PHN** : parenchyme hépatique normal, **Cong** : congestion, **Nécr** : nécrose, **IIL** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire, **DVC**: dilatation de la veine centro-lobulaire, **IIL.L** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire léger, **Vac.Lip** : vacuoles lipidiques, **Stéa** : stéatose, **IIL.D** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire discret, **HN** : hépatocyte normale, **HGTB** : hépatocyte grande taille binucléée.

subissant des signes de régénération voire ; hépatocytes de grande de taille binucléées au cytoplasme granuleux. Pareillement, il n'a été observé aucune lésion tissulaire ni de foyers inflammatoires.

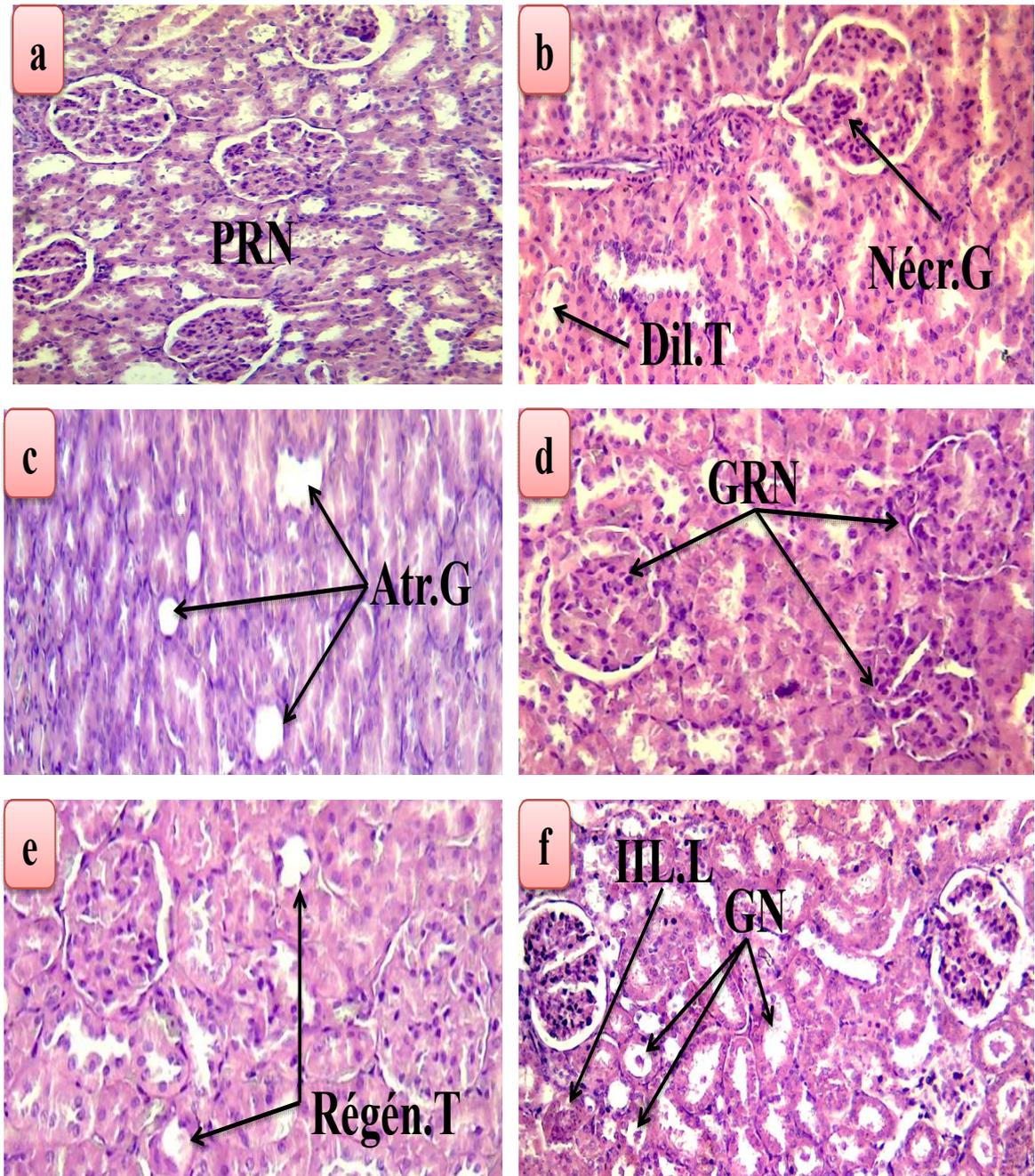
#### **III.4.6.2. Histopathologie des reins**

Le parenchyme rénal des rats du groupe témoin (fig. 60 a) et les rats traités exclusivement par l'extrait de cardamome (fig. 60 d), présentent une morphologie (parenchyme) comportant de glomérules rénaux normaux et une structure tubulaire normale.

La biopsie des tissus rénaux des rats enflammés par la carragénine au niveau du péritoine (G2) montrent une nécrose des glomérules et une atrophie glomérulaire apparents à leur architecture, avec une dilatation tubulaire, vacuolisation tubulaire et une altération des tubules (fig. 60 b,c).

Néanmoins, l'association de l'EEC avec la carragénine (fig. 60 e), montre une correction et restauration totales des lésions glomérulaires et une régénération tubulaire avec réobtention du calibre tubulaire.

Cependant, l'examen microscopique des tissus rénaux des rats pré-traités par le diclofénac a révélé une structure normale des tubules rénaux et les glomérules (figure 60 f).



**Figure 60:** Coupes histologique des reins du groupe : (a) G1: témoin ; (b,c) : G2 ; eau physiologique (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine; (d) :G3 ; 200 mg/kg d'EEC (15 j) ; (e): G4; 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine; (d) :G5; 100 mg/kg diclofénac (15 j) puis 200  $\mu$ L de carragénine.

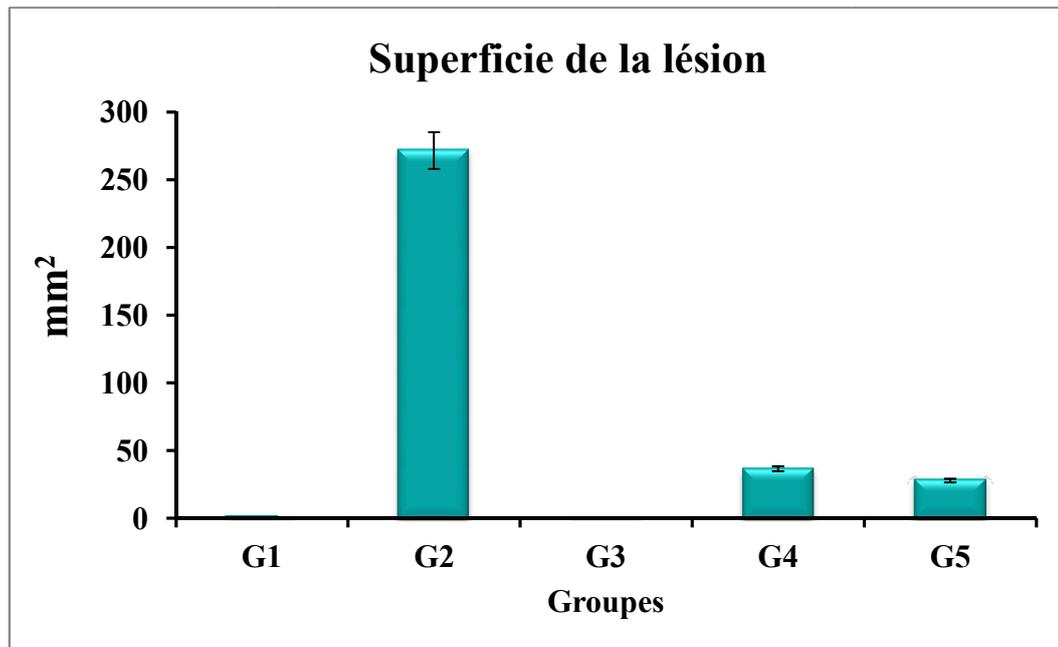
**PRN** : parenchyme rénal normal, **Dil.T** : dilatation tubulaire, **Nécr.G** : nécrose glomérulaire, **Atr.G** : atrophie glomérulaire, **GRN**: glomérule rénal normal, **IIL.L** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire léger, **Régén.T** : régénération tubulaire, **GN** : glomérule normal.

### III.5. Activité anti-ulcère *in vivo* de la cardamome sur l'ulcère gastrique

#### III.5.1. L'ulcère et la muqueuse gastrique

##### III.5.1.1. Superficie de lésion de la muqueuse gastrique (mm<sup>2</sup>)

La superficie de la zone lésée de la muqueuse d'estomac des rats qui ont subi l'ulcère gastrique est rapportée dans la [figure 61](#).



**Figure 61:** Superficie de lésion de la muqueuse gastrique (mm<sup>2</sup>) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j) ; G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

L'examen microscopique histologique a révélé que l'administration de la solution d'HCl/éthanol, présentait des lésions gastriques étendues dans la muqueuse de l'estomac. D'une manière générale, ces observations sont caractéristiques d'un ulcère gastrique.

En effet, 1h après l'administration d'HCl/éthanol (0.45M/60%), le groupe des rats ulcérés a exhibé une superficie d'ulcération maximale, correspondante à une valeur de 271.70 mm<sup>2</sup>

Toutefois, les rats du groupe qui a été prétraité avec 200 mg/Kg d'EEC pendant cinq jours puis administré par la solution d'HCl/éthanol (1 jour), l'observation microscopique a dévoilé des effets perceptibles de la cardamome sur l'aspect histologique de la muqueuse gastrique d'où, on a enregistré une lésion d'une surface équivalent 36.60 mm<sup>2</sup> qui reste d'une manière significative (P<0.05), hautement restreinte de 86.53 % par rapport à celle du groupe 2.

Comparé au groupe témoin (G1), l'extrait de la cardamome a maintenu la muqueuse gastrique des rats prétraités exclusivement d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (G3), d'où une amélioration spectaculaire très significative (P<0.05) d'environ 24.29 %.

En outre, la muqueuse gastrique des rats ayant subi préalablement, 30 mg/kg d'oméprazol puis la solution d'HCl/éthanol, a développé une ulcération d'une superficie (27.84 mm<sup>2</sup>) qui reste inférieure de -89.75 % à celle du groupe 2.

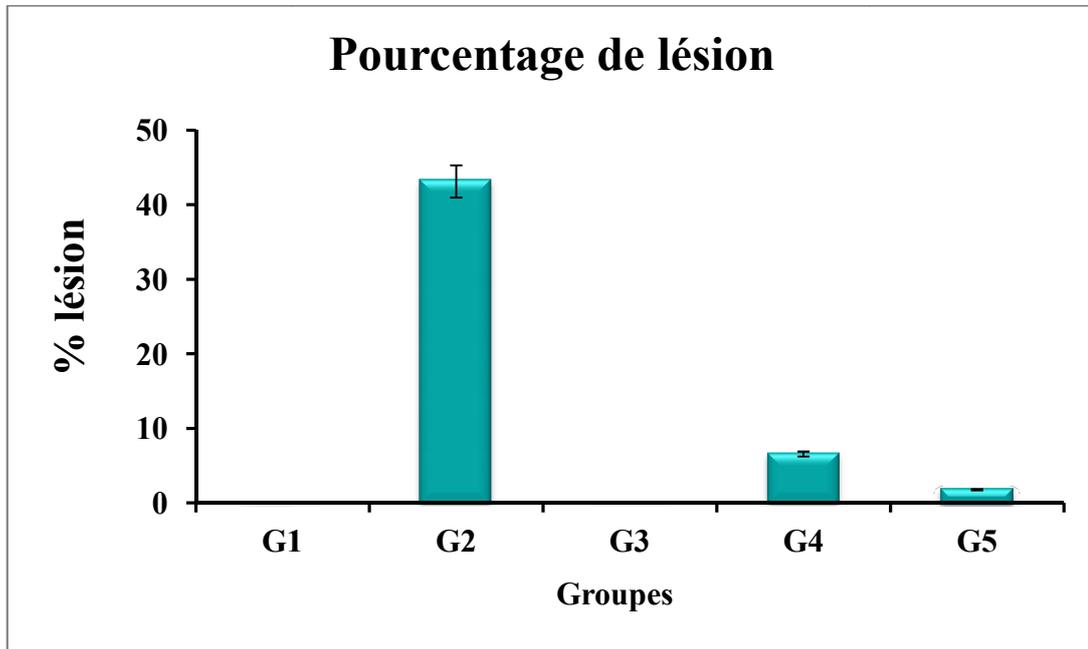
Une observation analogue a été observée par [Rainsford \(1987\)](#) sur le modèle de lésions gastriques induites par l'aspirine, en considérant les différents mécanismes par lesquels on induit une ulcération gastrique. La raison étant principalement attribuée à l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines cytoprotectrices (par exemple ; PGE et PGI<sub>2</sub>), à l'inhibition de la voie cycloxygénase du métabolisme de l'acide arachidonique entraînant une surproduction de leucotriène et d'autres produits de la voie de la 5-lipoxygénase.

Une diminution de la lésion est observée (36.60 mm<sup>2</sup>) chez les rats prétraités avec la cardamome. Il convient de signaler que nos résultats sont en adéquation avec ceux de [Jamal et al. \(2006\)](#) qui ont trouvé que l'indice d'ulcère (mm) chez les rats témoins et traités par cette fraction soluble d'extrait de cardamome était de 1,06 mm et de 0,30 mm, respectivement.

### **III.5.1.2. Le pourcentage de lésion de la muqueuse gastrique (%)**

Les observations microscopiques ont révélés une production massive des lésions gastriques caractéristiques dans la muqueuse d'estomac chez les groupes de rats ayant subi un ulcère gastrique induit par la solution d'HCl/éthanol, plus particulièrement ceux du groupe témoin positif (G2).

La plupart des lésions chez le G2, étaient étendues, saignantes, et dilatées présentant des zones altérées avec 43.17 % de lésion dans la muqueuse d'estomac (fig. 62) en comparaison avec le groupe qui était seulement sous diète du véhicule (Tween-80) (0.02 %).



**Figure 62:** Pourcentage de lésion de la muqueuse gastrique (%) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

Cependant, l'analyse microscopique d'estomacs des rats prétraités par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (G4) (200 mg/kg) ont montré une réduction significative ( $P < 0.05$ ) des lésions gastriques produites par l'agent ulcérogène (HCl/éthanol). Cette amélioration apparaît avec une altération modérée à faible de 6.60 % de la muqueuse gastrique, par rapport au groupe des rats ulcérés (G2) (43.17 %).

De plus, comparé au groupe ulcéré (G2), une différence significative importante ( $P < 0.05$ ) a été observée chez le groupe de rats prétraités avec l'oméprazol, enregistrant une réduction efficace estimée de 95.83 %.

D'autre part, les estomacs des rats du groupe traité qu'avec l'EEC (G3) ne présentent aucune des lésions décrites précédemment, voire nulle. Selon Lange et al. (1985), les produits de la voie de la 5-lipoxygénase peuvent jouer un rôle clé dans le développement de l'ulcère, induit par des agents irritants tels que l'éthanol. Marhuenda et Martin (1993), ont rapporté également que l'éthanol produit des lésions nécrotiques dans la muqueuse gastrique par son effet toxique direct, en réduisant la sécrétion de bicarbonates et la production de mucus.

Une lésion trop restreinte a été observée chez les rats qui ont été prétraités avec de l'EEC. Nos résultats corroborent ceux de Jamal et al. (2006) qui ont démontré que le prétraitement avec l'extrait méthanolique brute de la cardamome (100, 300 et 500 mg/kg) a montré une réduction dose-dépendante de la gravité des lésions dans un modèle expérimental d'ulcère aigu induit par l'éthanol chez le rat.

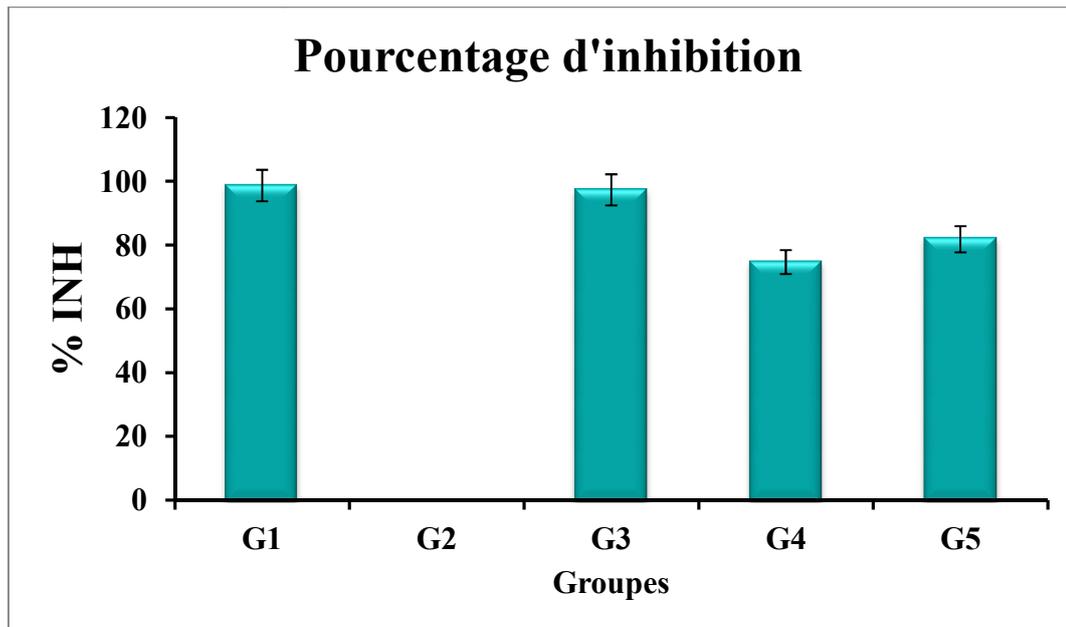
### **III.5.1.3. Pourcentage d'inhibition de lésion de la muqueuse gastrique (% INH)**

Les résultats microscopiques présentés dans la figure 63, nous ont permis de constater l'efficacité et l'action gastroprotectrice de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* de chaque groupe de rats ulcérés dans la cicatrisation des ulcères gastriques.

Il est à remarquer que, l'administration préventive de l'extrait EEC à une dose de 200 mg/Kg, chez les rats qui ont subi un ulcère gastrique (G4), a inhibé significativement le taux d'ulcération ( $P < 0.05$ ) de 74.68 %, contre le groupe de rats ulcérés (0 %).

En outre, il importe de signaler que le prétraitement des rats ulcérés avec le médicament standard (G5), connu pour son effet gastroprotecteur ; l'oméprazol, à une dose de 30 mg/Kg, a inhibé efficacement les ulcérations de façon à restaurer l'aspect normal et sain de l'estomac. Cette réparation est évaluée par un taux d'inhibition de la lésion gastrique qui est estimé de 81.82 % en comparaison avec le G2.

Par ailleurs, il ressort de façon évidente que la supplémentation en cardamome dans la diète (Tween - 80%) des rats (G3), a révélé un taux d'inhibition proche de celui du groupe témoin (G1), l'inhibition est estimée de 97.33 %.



**Figure 63:** Pourcentage d'inhibition de lésion de la muqueuse gastrique (%) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j); G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j); G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

Notre étude montre que l'extrait de la cardamome a pu inhiber la lésion de la muqueuse gastrique chez les rats présentant un ulcère gastrique. Cette tendance a été observée également par [Jamal et al. \(2006\)](#) qui ont montré que les fractions solubles (50 mg/Kg) et insolubles (450 mg/Kg) de l'extrait méthanolique de cardamome dans l'éther de pétrole ont montré respectivement, une inhibition significative de l'ulcération de 50 et 54,8 % testée dans une lésion gastrique induite par l'éthanol, en confirmant que la cardamome est impliquée dans l'action gastroprotectrice.

L'utilisation de la cardamome dans l'étude de [Hamza et al. \(2019\)](#) comme agent protecteur a considérablement réduit le score de l'ulcère par rapport au groupe ulcère, associé à son effet cicatrisant sur l'intégrité de la muqueuse, l'acidité et le pH du suc gastrique. Des résultats parallèles ont été détectés par [Vasudevan et al. \(2000\)](#). La cardamome protège la muqueuse

gastrique par l'inhibition de l'acidité gastrique qui réduit la formation d'ulcères (Arawwawala et al., 2014).

D'autre part, Le groupe Omeprazole a montré une amélioration des marqueurs de l'ulcère gastrique, l'oméprazole est la pompe à protons la plus couramment prescrite comme inhibiteur de l'hyperacidité gastro-œsophagienne, des ulcères gastriques, des ulcères duodénaux et de l'oesophagite par reflux (Targownik et al., 2008).

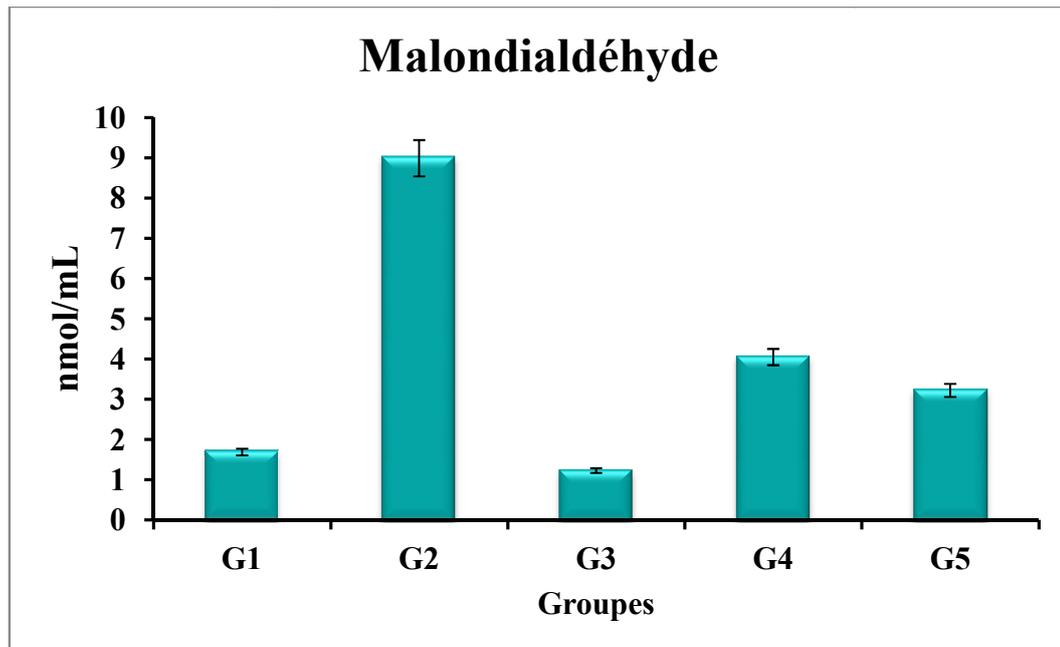
Au cours de notre expérience, nous avons observé une inhibition de 74.68 % chez les rats ulcérés prétraités avec l'EEC, ce qui suggère que la cardamome procure d'un effet gastroprotecteur, et par conséquent une diminution de la motilité gastrique. Il a été rapporté par Garrick et al. (1986) ; Takeuchi et al. (1987) que les modifications de la motilité gastrique peuvent jouer un rôle dans le développement et la prévention des lésions gastriques expérimentales.

La relaxation des muscles circulaires peut protéger la muqueuse gastrique en aplatissant les plis, cela augmentera la zone muqueuse exposée aux agents nérosants et réduira le volume des irritants gastriques sur la crête du rugal. Une telle action a été explorée pour jouer un rôle dans l'effet cytoprotecteur de la prostaglandine (Takeuchi et Nobuhara, 1985). L'éthanol produit une contraction marquée des muscles circulaires de la bande fundique du rat. Une telle contraction peut conduire à une compression muqueuse au site de la plus grande contrainte mécanique, au niveau des crêtes des plis muqueux en conduisant à une nécrose et une ulcération (Mersereau et Hinchey, 1982). Selon Jamal et al. (2006), l'action gastroprotectrice de la fraction soluble de l'extrait méthanolique de la cardamome est due à une diminution de la motilité gastrique.

### **III. 5.2. Taux du malondialdéhyde (MDA)**

Les résultats de l'effet de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et de la solution d'HCL/éthanol sur la peroxydation lipidique sont illustrés dans la figure 64.

La lipoperoxydation est conçue par une augmentation très significative ( $P < 0.05$ ) de la concentration en MDA suite à l'administration de la solution d'HCl/éthanol avec un taux de 8.99 nmol/mL, comparé au groupe témoin (1.69 nmol/mL).



**Figure 64:** Teneur en malondialdéhyde (MDA) (nmol/mL) chez les rats traités ou/ non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et/ou l'HCl/éthanol et/ou l'Oméprazol. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 6 déterminations  $\pm$ SEM (n = 6).

G1 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) ; G2 : 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G3 : 200 mg/kg d'EEC (5 j) ; G4 : 200 mg/kg d'EEC (15 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; G5 : 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

Par ailleurs, le prétraitement avec l'extrait de cardamome aux rats administrés par la solution d'HCl/éthanol induit une diminution des teneurs en MDA. En effet, la valeur en MDA est de l'ordre de - 4.94 fois plus faible comparée à celle notée chez le groupe G2.

De plus le contenu en MDA chez le groupe administré avec 30 mg/kg d'oméprazol avant la prise de la solution d'HCl/éthanol est significativement réduit à - 5.77 fois comparativement au groupe 2.

Par conséquent, une réduction significative ( $P < 0.05$ ) est observée chez les rats du groupe G3, qui ont été prétraités exclusivement avec 200 mg/kg d'extrait de cardamome. Cette réduction est estimée de - 27.22 % par rapport au groupe témoin (G1).

### **III.5.3. L'étude histologique**

#### **III.5.3.1. Histopathologie de l'estomac**

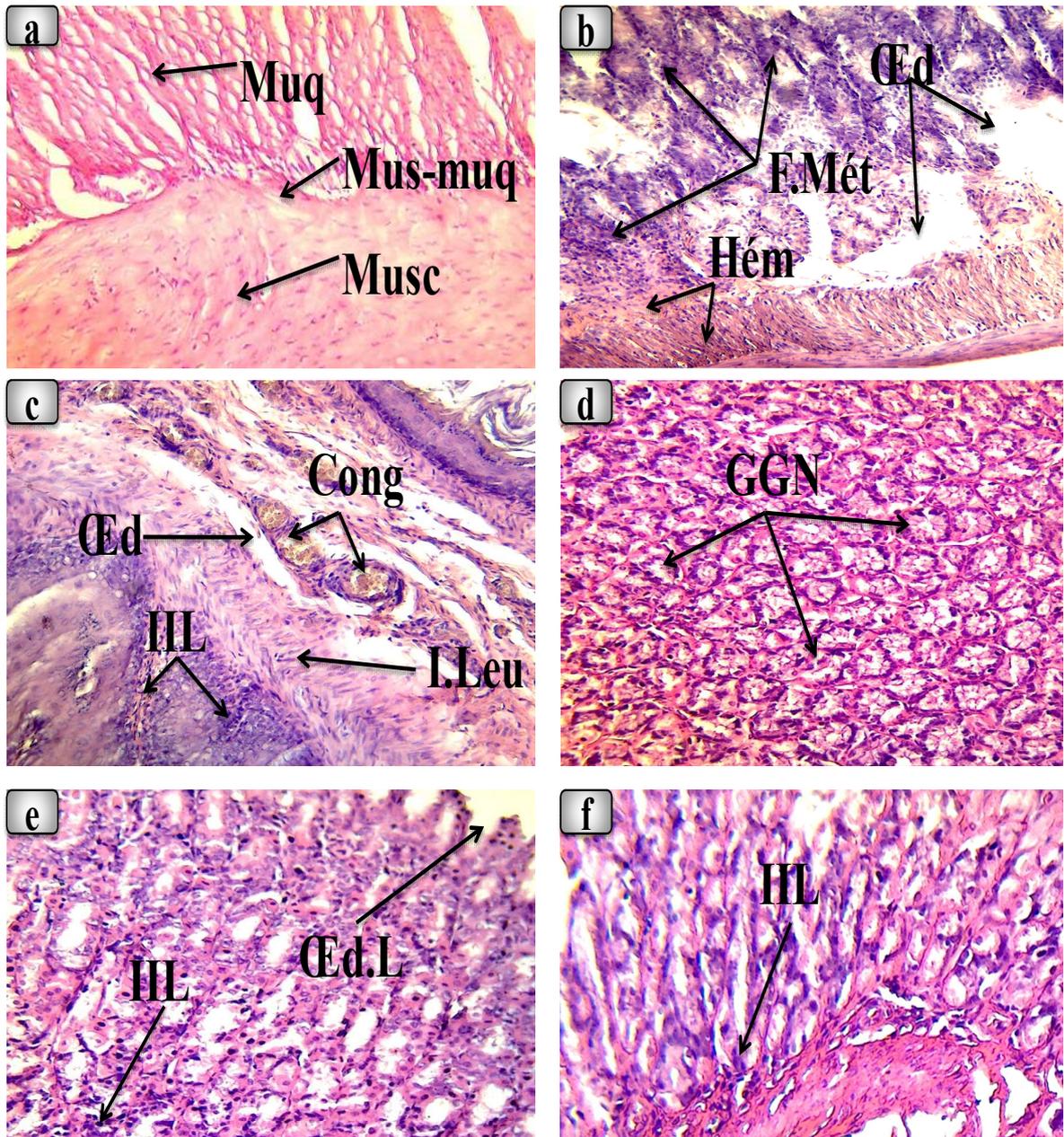
L'étude microscopique de l'estomac des rats du groupe témoin (G1) a montré une architecture gastrique normale avec une paroi gastrique normale ; composée de trois feuillets hyper, hypo et hyperdenses, correspondant à la muqueuse, à la sous-muqueuse et aux couches de la musculuse et la séreuse (figure 65 a).

La solution d'HCl/éthanol a engendré un rehaussement de la muqueuse de façon plus marquée que les deux autres couches, de plus, l'estomac des rats du groupe (G2) a présenté des lésions gastriques au niveau de la partie glandulaire de l'estomac correspondant à des ulcérations en se manifestant par des congestions, des rougeurs de la muqueuse en signe d'hémorragies étendues d'aspect nécrotique, d'autres signes visibles sont des œdèmes et inflammations en réponse aux ulcérations (fig. 65 b). Un foyer de métaplasie (transformation d'un épithélium en un autre épithélium d'aspect normal mais de siège anormal) et une gastrite de type épidermoïde et qui constitue une lésion très cancéreuse ont été également observés dans le groupe G2 (fig. 65 c).

Tandis que le prétraitement par l'extrait EEC chez les rats du G3 a montré des glandes gastriques de structure normale, et ne présente aucune des lésions décrites précédemment (fig. 65 d).

On observe dans l'estomac des rats prétraités avec l'EEC puis la solution d'HCl/éthanol (G4), une présence moins importante d'infiltrat inflammatoire qui espace les glandes gastriques avec un œdème discret dans la partie glandulaire gastrique (fig. 65 e).

Tandis que le groupe prétraité par l'oméprazol puis la solution d'HCl/éthanol (G5), a montré une protection de la muqueuse gastrique, d'où conservation de l'épithélium glandulaire et du revêtement qui sont exempts de toute ulcération ou de métaplasie, à l'exception d'un infiltrat inflammatoire léger qui a été observé (fig. 65 f).



**Figure 65:** Coupes histologique d'estomac du groupe : (a) : G1, témoin ; (b,c) : G2, 1 mL véhicule (Tween-80) (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; (d) : G3, 200 mg/kg d'EEC (5 j) ; (e) : G4, 200 mg/kg d'EEC (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j) ; (f) : G5, 30 mg/kg Oméprazol (5 j) puis 10 mL d'HCl/éthanol (1 j).

**Muq** : muqueuse, **Mus-muq** : muculeuse de la muqueuse, **Musc** : musculature, **F.Mét** : foyer de métaplasie, **Hém** : hémorragie, **Œd** : Œdème, **ILL** : infiltrat inflammatoire lymphocytaire, **I.Leu** : infiltration leucocytaire, **Cong** : congestion, **GGN** : glandes gastriques normales, **Œd.L** : œdème léger.

Sur le plan anatomopathologique, l'ulcère gastrique est une interruption de la muqueuse et de la musculature associée à des lésions vasculaires, due à un déséquilibre entre les facteurs de protections ou de défense (mucus, ions bicarbonate, flux sanguin muqueux, renouvellement cellulaire) (Adhikary *et al.*, 2010) et les facteurs d'agression endogènes (HCl, pepsine, ROS, RNS), et exogènes (tabac, AINS, aspirine, et la consommation excessive d'alcool) (Suleyman *et al.*, 2010).

Il a été démontré que les constituants chimiques bioactifs incluant les flavonoïdes, les phénols et les tanins présentent un potentiel gastroprotecteur (Morikawa *et al.*, 2006). Ces composants forment des complexes avec des protéines de la paroi cellulaire, stimulent la contraction de la plaie, ce qui augmente la formation de nouveaux capillaires et des fibroblastes (Bansal *et al.*, 2012). Les flavonoïdes aussi possèdent des propriétés antioxydantes empêchant la formation de lésions nécrotiques par divers agents (Devi *et al.*, 2007).

Les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes en plus de renforcer le système de défense de la muqueuse par la stimulation de la sécrétion gastrique de mucus et peuvent piéger les espèces réactives de l'oxygène qui jouent un rôle important dans les lésions ulcéreuses et érosives du tractus gastro-intestinal (Borrelli *et al.*, 2000; Kouakou *et al.*, 2013).

### **III.6. Activité antimicrobienne**

#### **III.6.1. Activité antimicrobienne par diffusion de disques**

Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait EEC sont illustrés dans le [tableau 4](#). L'extrait a réagi positivement sur quasiment toutes les souches microbiennes testées. On note de larges écarts dans les diamètres des zones d'inhibitions obtenues allant de 0.33 à 33.67 mm. L'importance de cet effet varie selon les espèces microbiennes et selon les différentes concentrations d'EEC.

On remarque que les diamètres des zones d'inhibition d'extrait EEC correspondant aux concentrations 100 et 50 µg/mL sont plus élevées que ceux observées avec des concentrations plus basses ; 25 et 12.5 µg/mL à l'exception de diamètre d'*Aspergillus niger*. Alors, il apparaît que l'activité inhibitrice d'extrait EEC est dose-dépendante.

L'extrait EEC a présenté des degrés variables d'activité antimicrobienne contre toutes les souches microbiennes testées. L'extrait EEC présentait une activité significative (P<0.05)

contre *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition de (31 mm) à une concentration de 50 µg/mL.

**Tableau 4:** Diamètres des zones d'inhibitions de dix souches pathogènes cultivées en présence de quatre concentrations (12.5, 25, 50 and 100 µg/mL) d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*.

Les souches microbiennes	Concentrations d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> (µg/ mL)			
	12.5	25	50	100
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27853	10.67 ± 1.15	12.67 ± 1.53	21.67 ± 1.53	23.33 ± 0.58
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	10.67 ± 1.15	14.67 ± 0.58	31.67 ± 1.53	32.33 ± 1.15
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10.00 ± 0.00	21.00 ± 1.73	15.00 ± 0.00	12.67 ± 1.53
<i>Carnobacterium maltoaromaticum</i> (DMS) 20722	21.33 ± 1.15	22.67 ± 0.58	25.33 ± 1.53	17.33 ± 0.58
<i>Shigella sonnei</i> CETC 584	08.67 ± 1.15	09.00 ± 1.00	17.33 ± 1.53	14.33 ± 1.15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	18.67 ± 0.58	21.67 ± 1.53	31.33 ± 0.58	33.67 ± 1.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.33 ± 0.58	14.33 ± 1.15	17.67 ± 1.15	15.33 ± 0.58
<i>Enterobacter sp</i>	28.33 ± 0.58	29.33 ± 1.53	32.33 ± 1.53	26.67 ± 1.53
<i>Aspergillus niger</i>	21.67 ± 1.15	26.67 ± 1.53	0.33 ± 0.58	0.00 ± 0.00
<i>Candida albicans</i>	14.33 ± 0.58	19.67 ± 1.15	23.33 ± 0.58	26.67 ± 1.53

Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ±SEM (n = 3).

Il ressort des résultats obtenus que la cardamome possède un large spectre d'action contre les bactéries Gram positif et les Gram négatif. Par ailleurs, l'EEC a exprimé un acte antifongique à l'égard de la levure avec toutes les concentrations, par contre l'EEC a inhibé partiellement la moisissure à des basses concentrations.

Les mêmes résultats ont été témoignés par [El Malti et al. \(2007\)](#) et [Rajan et al. \(2017\)](#) qui ont rapporté que les différences observées dans la zone d'inhibition peuvent être dues à la

différence de sensibilité de différentes bactéries aux nanoparticules d'or (colloïdes) synthétisées par l'extrait aqueux des graines d'*Elettaria cardamomum*.

Par ailleurs, [Mahady et al. \(2005\)](#) ont montré que les graines d'*E. cardamomum* ont une activité antibactérienne vis-à-vis que les bactéries à Gram négatif.

De même, les résultats de notre étude sont en accord avec ceux d'[Arora et Kaur \(2007\)](#), qui ont indiqué que l'extrait aqueux d'*E. Cardamomum* était efficace contre plusieurs bactéries pathogènes, dans des zones d'inhibition allant de 15 à 28 mm.

Tandis que, [Nanasombat et Lohasuthawee \(2005\)](#) ont constaté que l'extrait éthanolique de graine de cardamome a montré une zone d'inhibition entre 7 à 12 mm sur toutes les souches testées.

Cependant, leurs résultats étaient opposés avec ceux de l'étude d'[Ahmad et al. \(1998\)](#) n'ayant trouvé aucune activité antibactérienne à l'aide de l'extrait aqueux. La raison invoquée pour les variations observées était la méthode d'extraction ou les différences de souche.

En outre, dans une autre étude, rapportée par [Aneja et Joshi \(2009\)](#), il a été noté que l'effet antibactérien de divers extraits de fruits d'*Elettaria cardamomum* a été étudié sur des bactéries buccales. Il a été démontré que l'effet le plus important se manifestait sur *S. aureus* et que ses extraits éthanoliques et acétoniques constituaient une source antibactérienne potentielle.

### **III.6.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La croissance microbienne est indiquée par la présence d'un culot blanc qui se forme au fond du puits. La CMI des souches pathogènes est présentée dans le [tableau 5](#).

L'extrait de cardamome était très efficace pour inhiber la croissance de toutes les souches testées de la plupart des agents pathogènes, même si la sensibilité aux antimicrobiens de diverses souches variait, sachant que la CMI variait entre 6.25 et 12.50 mg/mL.

La zone d'inhibition produite par EEC contre *E. coli* et *Candida albicans* variait entre 14.33 mm et 19.67 mm, respectivement. *Bacillus cereus*, *Carnobacterium maltoaromaticum* et

*Enterobacter sp* se sont avérés les agents pathogènes les plus sensibles ayant survécu jusqu'à la concentration la plus faible (6.25 mg/mL) d'extrait EEC.

**Tableau 5:** Concentration minimale inhibitrice (CMI) en mg d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (mg/mL) des souches pathogènes.

Souches microbiennes	Concentration minimale inhibitrice (CMI) d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27853	8.33 ± 1.61
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	6.25 ± 0.83
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	12.50 ± 1.22
<i>Carnobacterium maltoaromaticum</i> (DMS) 20722	6.25 ± 0.09
<i>Shigella sonnei</i> CETC 584	12.50 ± 1.89
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.42 ± 2.61
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12.50 ± 2.80
<i>Enterobacter sp</i>	6.25 ± 0.62
<i>Aspergillus niger</i>	12.50 ± 3.28
<i>Candida albicans</i>	12.50 ± 3.28

Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ±SEM (n = 3).

Nos résultats sont symétriques avec ceux d'El Malti *et al.* (2007), qui ont montré que la CMI de l'extrait de cardamome varie entre 9.4 et 18.75 mg/mL de toutes les souches testées, à l'exception d'*E. coli*, *Bacillus cereus* et *Enterobacter cloacae* qui étaient très sensibles à l'extrait (CMI <2.34 mg/ mL).

L'effet antibactérien de notre extrait EEC peut être attribué à leurs composés phénoliques, la présence de ces composés peut augmenter la perméabilité et éliminer le contenu cytoplasmique en attaquant les phospholipides de la membrane cellulaire. De plus, Wu *et al.* (2014) et Wu *et al.* (2013) ont divulgué que ces composés peuvent affecter les enzymes des parois cellulaires de la bactérie.

Goze *et al.* (2009) soutiennent l'hypothèse en démontrant que les extraits antibactériennes pourraient être dues à la présence de différents composés dans les extraits, qui sont également influencés par des facteurs tels que l'emplacement géographique, la température, la phase de croissance de la plante, la période de récolte, la plante, le facteur terre, ainsi que les facteurs génétiques et environnementaux liés à la plante.

### III.7. Cytotoxicité de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* vis-à-vis des cellules cancéreuses

#### III.7.1. Détermination de la CE<sub>50</sub> de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* sur des lignées cellulaires cancéreuses

Par conséquent, cette étude a été conçue pour évaluer l'activité inhibitrice de l'extrait de cardamome sur six cellules cancéreuses. Six concentrations différentes d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (0,5, 1, 5, 10, 50 et 100 µg/mL) ont été testées. Le [tableau 6](#) montre la concentration inhibitrice in vitro CE<sub>50</sub> de l'extrait éthanolique de la cardamome. L'extrait EEC a montré une cytotoxicité modérée contre les cellules cancéreuses des poumons (A549), du sein (MCF7), du mélanome (SK-MEL-28 et B16F10) et du gliome (U373n et Hs683).

**Tableau 6:** Cytotoxicité de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* contre différentes cellules (les valeurs CE<sub>50</sub> sont en µg/mL).

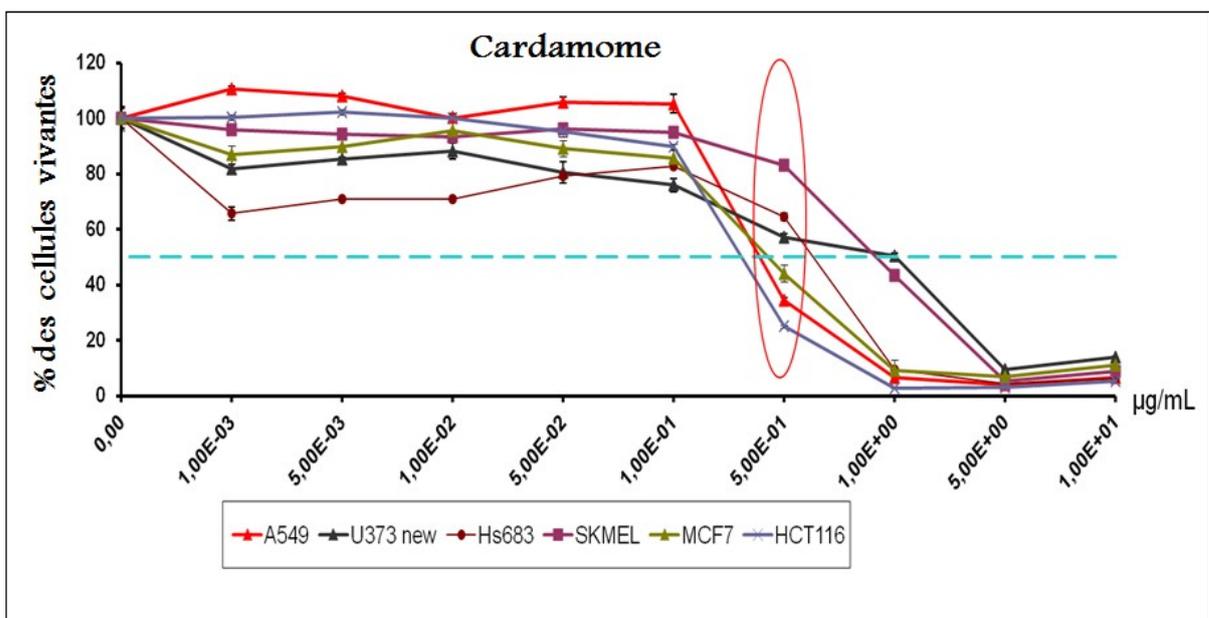
Extrait EEC	Mélanome		Carcinome		Gliome	
	<i>B16F10</i>	<i>SKMEL28</i>	<i>A549</i>	<i>MCF-7</i>	<i>HS683</i>	<i>U373n</i>
CE <sub>50</sub> ( µg/mL)	0.4	4.2	5.6	3.4	5.7	7.0

Dans l'analyse de la cytotoxicité, il était évident que l'extrait était moins actif sur les cellules de gliome que sur les cellules de mélanoma. La cytotoxicité de l'extrait de cardamome s'est avérée plus forte sur la cellule de mélanome B16F10 que sur les autres lignées cellulaires testées. L'extrait EEC avait la cytotoxicité la plus élevée avec une valeur CE<sub>50</sub> de 0,4 et 4,2 µg/mL, respectivement, pour les cellules cancéreuses du mélanome B16F10 et SKMEL28. L'extrait avait également une valeur CE<sub>50</sub> de 5,4 et 3,4 µg/mL vis-à-vis des cellules de

carcinome A549 et MCF-7. Le même extrait a montré une cytotoxicité modérée à faible vis-à-vis des deux lignées cellulaires de gliome (HS683 et U373n).

### III.7.2. La viabilité des cellules cancéreuses

La [figure 66](#) montre l'effet de diverses concentrations d'extrait de cardamome sur la viabilité des cellules cancéreuses. Ce chiffre indique que l'extrait est peu toxique pour les cellules tumorales cérébrales (U373n et Hs683). Alors que le même extrait a fortement et également inhibé la prolifération des cellules cancéreuses de mélanome d'une manière dépendante de la concentration, avec une inhibition de 91 et 99% de la croissance cellulaire à un niveau de concentration de 100 µg d'extrait /mL.



**Figure 66:** Effets cytotoxiques de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (0,5-100 µg / mL) sur la croissance des lignées cellulaires (A549, SKMEL, MCF7, U373 new, Hs683 et HCT116) après 72 h d'incubation évaluées par la technique colorimétrique MTT.

Les données représentent la valeur moyenne de deux expériences indépendantes réalisées en triple. Chaque condition expérimentale est comparée à la valeur de contrôle. (NS:  $p > 0,05$ ; \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ).

L'extrait EEC a diminué de 50% de la viabilité de diverses lignées de cellules cancéreuses à des concentrations aussi faibles. [Manjunath et al. \(2019\)](#) ont montré que l'huile de cardamome avait la cytotoxicité la plus élevée par rapport à l'huile de citron sur la lignée cellulaire cancéreuse de la peau (A431). [Amnah et al. \(2012\)](#) et [Majdalawieh et al. \(2010\)](#) ont montré une activité cytotoxique très significative sur la lignée cellulaire hépatique (Hepg2) et une activité modérée sur la lignée cellulaire du côlon (HCT116) de l'extrait aqueux de cardamome.

La cardamome a un potentiel chimioprotecteur contre la carcinogenèse cutanée induite chimiquement chez la souris suisse et une diminution significative du niveau de peroxydation lipidique hépatique a été observée par [Qiblawi et al. \(2011\)](#) et [Das et al. \(2012\)](#).

## Conclusion et perspectives

A l'issue de ce travail, il en ressort que la phytothérapie demeure une pratique encore largement utilisée dans le monde pour le traitement et la prévention de nombreuses pathologies, malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne et la meilleure prise en charge médicale des malades.

Au terme d'étude épidémiologique rétrospective, la cardamome est utilisée depuis le 4<sup>ème</sup> siècle par les médecins ayurvédiques pour traiter divers problèmes de santé. En effet, des prospections de recherches, ont constitué une justification scientifique de l'utilisation de cette épice en pharmacopée traditionnelle dans le traitement des maladies cruelles en confirmant une fois de plus la pertinence des remèdes traditionnels.

L'identification de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* par HPLC/UV a montré la présence d'acides polyphénoliques (acide rosmarinique, acide caféique, acide férulique, etc.) et de nombreux flavonoïdes (kaempférol, chrysine, galangine, pinocembrine, quercétine, etc.).

Cet extrait renferme une teneur de 245,92 mg EAG/g et 167,37 mg EQ/g, qu'elle lui confère un pouvoir inhibiteur qui variait par rapport aux CMI allant de 6,25 à 12,5 mg d'extrait sec/mL. Par conséquent, les souches les moins sensibles à l'EEC sont *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* et *Candida albicans*.

L'exposition au chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), a induit à des concentrations plasmatiques significativement élevées (P<0.05) du cholestérol, les triglycérides, la glycémie, la bilirubine, la créatinine, l'urée, avec un détriment du statut antioxydant illustré par une baisse des enzymes (SOD, CAT et GSH-Px) et une augmentation de la peroxydation lipidique qu'est l'une des principales manifestations des dommages oxydatifs des organes et de la toxicité causés principalement par l'aluminium. En outre, l'injection intradermique (*i.d*) et intrapéritonéale (*i.p*) par la carragénine a entraîné augmentation significative (p<0.05) du volume de la patte des rats qui est accompagnée par un accroissement de la concentration sérique de la glycémie et du fibrinogène avec augmentation des taux du TNF- $\alpha$  et PGE2 faisant appel à une inflammation aigue. De plus, un ulcère gastrique a été développé, confirmé par des perturbations du malondialdéhyde avec des superficies lésionnelles gastriques très importantes.

L'histologie des coupes de différents organes des rats ayant subi la toxicité, l'inflammation et l'ulcère gastrique a montré des changements microscopiques qui s'expliquent par des infiltrats

inflammatoires, des congestions, des nécroses cellulaires, confirmant des altérations histopathologiques.

L'addition de 200 mg/kg/j de l'extrait de cardamome corrige le profil lipidique de manière prodigieuse. Dans ce cadre, nous avons aussi montré que la cardamome empêche la production du malonaldéhyde sérique tout en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes, ce qui suggère vraisemblablement un effet antioxydant par cette plante. En outre, l'administration de la cardamome a minimisé les effets néfastes inflammatoires produits par la carragénine avec un abaissement important des biomarqueurs inflammatoires (PGE2 et TNF- $\alpha$ ). L'incorporation de l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* a permis de supprimer d'une manière efficace l'ulcère gastrique en inhibant les surfaces lésionnelles gastriques générées par l'HCl/éthanol.

L'effet de cette addition d'extrait EEC sur les paramètres d'homéostasie et les enzymes antioxydantes est très probablement attribuée aux composés polyphénoliques que contient la cardamome qui ont vraisemblablement impacté positivement sur les différents paramètres et qui ont fortement amélioré l'architecture structurale des organes.

Selon l'examen histologique effectué, l'extrait EEC a agi efficacement contre les altérations et les détriments des organes atteints par l'aluminium, la carragénine et l'HCL/éthanol. De ce fait, l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* avait l'avantage de jouer un rôle de cicatrisation et par conséquent de guérison au niveau des organes.

L'étude la cytotoxicité de l'extrait éthanolique de cardamome à différentes concentrations a révélé une activité anticancéreuse statistiquement significative ( $P < 0,005$ ) envers les six lignées cellulaires cancéreuses humaines. L'activité anticancéreuse de l'extrait de cardamome pourrait être due à la présence de certains phytoconstituants qui réduisent le nombre de cellules cancéreuses.

Suite aux conclusions de notre travail, certaines perspectives peuvent être envisagées :

- Il serait intéressant de définir des normes de conformité et de contrôle de qualité de la plante qui permettra d'élaborer une pharmacopée locale qui servira de référence pour le bon usage de cette plante
- D'autres études plus poussées sur la composition chimique, les actions pharmacologiques et la toxicité de cette plante seront nécessaires pour prouver leur valeurs médicinales ou limites de son usage.

- Ainsi, étudier le mécanisme d'action de cette plante sur les cellules cancéreuses (ex : apoptose).
- Enfin, Il serait également judicieux de conduire des expériences en vue de produire un phytomédicament à base de cardamome.

## **Références bibliographiques**

### **-A-**

1. Abbasipour, H., Mahmoudvand, M., Rastegar, F., Hosseinpour, M. H. (2011). Fumigant toxicity and oviposition deterrence of the essential oil from cardamom, *Elettaria cardamomum*, against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, 11(1).
2. Abdelkader, S. M., Bauomi, A. A., Abdel-Rahman, M., Mohammed, T., Rezk, M. M. (2015). Antioxidant potentials of (*Elettaria cardamomum*) cardamom against Uranium hazard. *Int. J. Basic. Life. Sci*, 3, 122-138.
3. Abdel-Moneim, A. E., Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S. (2011). The redox status in rats treated with flaxseed oil and lead-induced hepatotoxicity. *Biological trace element research*, 143(1), 457-467.
4. Abu-Taweel, G. M. (2017). Cardamom (*Elettaria cardamomum*) perinatal exposure effects on the development, behavior and biochemical parameters in mice offspring. *Saudi J Biological Sciences*, 25(1): 186-193.
5. Adhikary, B., Yadav, K. S., Bandyopadhyay, S. K. R., Chattopadhyay, S. (2010). Black tea and theaflavins assist healing of indomethacin-induced gastric ulceration in mice by antioxidative action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 546560.
6. Adrie, C., Pinsky, M. R. (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive care medicine*, 26(4), 364.
7. Agence Américaine de Développement International. (2008). Guide pratique de phyto-aromathérapie.
8. Aggarwal, B. B., Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology*, 71(10), 1397-1421.
9. Aghasi, M., Ghazi-Zahedi, S., Koohdani, F., Siassi, F., Nasli-Esfahani, E., Keshavarz, A., Sotoudeh, G. (2018). The effects of green cardamom supplementation on blood glucose, lipids profile, oxidative stress, sirtuin-1 and irisin in type 2 diabetic patients: a study protocol for a randomized placebo-controlled clinical trial. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-6.
10. Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F. (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *Journal of ethnopharmacology*, 62(2), 183-193.
11. Alam, A., Majumdar, R. S., Alam, P. (2019). Systematic Evaluations of Morphological Traits, Chemical Composition, and Antimicrobial Properties of Selected Varieties of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Natural Product Communications*, 14(12), 1934578X19892688.
12. Alanko, J., Riutta, A., Holm, P., Mucha, I., Vapaatalo, H., Metsä-Ketelä, T. (1999). Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidant/prooxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2), 193-201.
13. Alaoui K, Lagorge JF, Cherrah Y, et al (1998) Activité analgésique et anti-inflammatoire des saponines d' *Argania spinosa*. *Ann Pharm Fr* 56:220-8

14. Alberti, K. G., Zimmet, P., Shaw, J. (2007). International Diabetes Federation: a consensus on type 2 353 diabetesprevention. *Diabet Med*, 24:451–63.
15. Alessio, P. A., Ostan, R., Bisson, J. F., Schulzke, J. D., Ursini, M. V., Béné, M. C. (2013). Oral administration of d-limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti inflammatory properties as diet supplementation in humans. *Life Sci*, 92, 1151–1156.
16. Al-Maliki, A. D. M. (2011). Isolation and identification of phenolic compounds fromElettaria cardamomum seeds and study of theirmedicinalactivityagainstpathogenicbacteria of prostate gland. *Journal of MisanResearches*, 8(15), 13-35.
17. Al-Zuhair, H., El-Sayeh, B., Ameen, H. A.,Al-Shoora, H. (1996). Pharmacologicalstudies of cardamomoil in animals. *Pharmacologicalresearch*, 34(1-2), 79-82.
18. Amessis-Ouchemoukh, N., Abou-reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Rodriguez-Pérez, C., Madani, K., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A. (2014) .Tentativecharacterisation of Iridoid, phenylithanoid glucosides and flavonidesderivativesfrom*Globulariaaल्पum*L (Globulariaceae) leaves by LC-ESI-QTOF-MS. *PhytochemicalAnalysis*, 25(5): 389-98.
19. Amma, K. P. A. P., Rani, M. P., Sasidharan, I.,Nisha, V. N. P. (2010). Chemical composition, flavonoid-phenolic contents and radical scavengingactivity of four major varieties of cardamom. *Int J Biol Med Res*, 1(3), 20-24.
20. Amnah, A., Rayes, H. (2012). Study the effect of coffee and cardamom on the viability of some probiotic strains and their cytotoxicity. *Nat Sci*, 10(12):11-15.
21. Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobialChemotherapy*, 48(suppl\_1), 5-16.
22. Aneja, K. R.,Joshi, R. (2009). Antimicrobialactivity of Amomum subulatum and Elettaria cardamomum against dental caries causingmicroorganisms. *EthnobotanicalLeaflets*, 2009(7), 3.
23. Angelo, A. (2009). Is There an answer? How can a chemically well established antioxidant work differently when in the body? *IUBMB Life*, 61(12): 1159–1160.
24. Anwar, S., Ahmed, N., Speciale, A., Cimino, F.,Saija, A. (2016). Essential oils in food preservation, flavor and safety. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 259-268.
25. Arawwawala, L. D. A. M., Arambewela, L. S. R ., Ratnasooriya, W. D. (2014). Effet gastroprotectrice de *piper betle*linn feuilles cultivées au sri Lanka. *Article de recherche originale expérimental*, 5(1): 38-42.
26. Arnous, A., Makris, D. P., Kefalas, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxydant properties in selected aged regional wines from Greece. *J. Food Compos. Anal*, 15: 655-665.
27. Arora, D. S.,Kaur, G. J. (2007). Antibacterialactivity of someIndianmedicinal plants. *Journal of naturalmedicines*, 61(3), 313-317.
28. Arpith, S., Srinivasan, S., Sowbhagya, H. B. (2019). Anti-inflammatory effect of resin fraction of cardamom (Elettaria cardamomum) in carrageenan-induced rat paw edema. *PharmaNutrition*, 10, 100165.
29. Arvy, M. P., Gallouin, F. (2015). Épices, aromates et condiments. Belin. p.64.

30. Asbaghi, O., Eslampour, E., Reiner, Z., Badehnoosh, B., Kolahdooz, F., Moradi, S., Dizaji, H. S., Asemi, Z. (2020). Effect of green cardamom on lipoproteins, glycemic control and anthropometric parameters: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Clinical Nutrition ESPEN*.
31. Asghar, A., Butt, M. S., Shahid, M., Huang, Q. (2017). Evaluating the antimicrobial potential of green cardamom essential oil focusing on quorum sensing inhibition of *Chromobacterium violaceum*. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8), 2306-2315.
32. Ashley, N. T., Weil, Z. M., Nelson, R. J. (2012). Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 385-406.
33. Atkin, M. A., Gasper, A., Ullegaddi, R., Powers, H. J. (2005). Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidant supplementation. *Clinical Chemistry*, 51(11), 2138-2144.
34. Avogaro, A., Albiero, M., Menegazzo, L., de Kreutzenberg, S., & Fadini, G. P. (2011). Endothelial dysfunction in diabetes: the role of reparatory mechanisms. *Diabetes care*, 34(Supplement 2), S285-S290.
35. Ayala-Zavala, J., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A., Siddiqui, M. W., González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866-1874.
36. Azimi, P., Ghiasvand, R., Feizi, A., Hariri, M., Abbasi, B. (2014). Effects of cinnamon, cardamom, saffron, and ginger consumption on markers of glycemic control, lipid profile, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetes patients. *The review of diabetic studies: RDS*, 11(3), 258.
37. Azri, S., Mata, H. P., Reid, L. L., Gandolfi, A. J., Brendel, K. (1992). Further examination of the selective toxicity of CCl<sub>4</sub> in rat liver slices. *Toxicology and applied pharmacology*, 112(1), 81-86.

**-B-**

38. Bahmani, M., Shirzad, H., Majlesi, M., Shahinfard, N., Rafieian-Kopaei, M. (2014). A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. *Asian Pac J Trop Med*, 7: S43-S53.
39. Banerjee, S., Sharma, R., Kale, R. K., Rao, A. R. (1994). Influence of certain essential oils on carcinogen-metabolizing enzymes and acid-soluble sulfhydryls in mouse liver.
40. Bansal, V. K., Goel, R. K. (2012). Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: Role of polyphenolic constituents. *Asian Pacific J tropical medicine*, 5 (7): 523-528.
41. Bansal, V. K., Goel, R. K. (2012). Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: role of polyphenolic constituents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(7), 523-528.
42. Banu, F., Dawood, N., Lakshmi, Y. S., Gopalakrishnan, S., Brinda, V. (2014). Antioxidant activity of geraniol on N-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats. *Indian Journal of Oncology Radiation Biology*, 2(7), 4-9.
43. Barton, G. M. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation*, 118(2), 413-420.
44. Begum, Q., Noori, S., Mahboob, T. (2011). Antioxidant effect of sodium selenite on thioacetamide-induced renal toxicity. *Pak J Biochem Mol Biol*, 44 (1): 21-26.
45. Belaïch, R., Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés: effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, 10(1), 38-42.

46. Belier, S., Michaux, J.M. (2007). Biologie clinique. Cours ENVA.
47. Beltrán-Ramírez, O., Alemán-Lazarini, L., Salcido-Neyoy, M., Hernández-García, S., Fattel-Fazenda, S., Arce-Popoca, E., Villa-Trevino, S. (2008). Evidence that the anticarcinogenic effect of caffeic acid phenethyl ester in the resistant hepatocyte model involves modifications of cytochrome P450. *Toxicological sciences*, 104(1), 100-106.
48. Bernard, N., Bleyere, N., Mathieu, N. (2013). Acute toxicity and anti-ulcerogenic activity of an aqueous extract from the stem bark of *Terminalia superba* Engl. and Diels (Combretaceae). *IJSID*, 3(5) : 539-550.
49. Bernard, C. (2016). Utilisation, à visée anxiolytique, de techniques respiratoires d'inspiration ayurvédique et d'expériences olfactives par aromathérapie en anesthésie-réanimation. *Ayurvéda Médecine Thérapeutique, Inde DossSpéc. Avr*, (55): 23-7.
50. Berthelot, M. P. E. (1998). Antioxidant status in diabetic rat liver. Effects of vanadate. *Biochem. Pharmacol*, 45(3): 539-542.
51. Bhat, G. N., Nayak, N., Vinodraj, K., Chandralekha, N., Mathai, P., Cherian, J. (2015). Comparison of the efficacy of cardamom (*Elettaria cardamomum*) with pioglitazone on dexamethasone-induced hepatic steatosis, dyslipidemia, and hyperglycemia in albino rats. *Journal of advanced pharmaceutical technology research*, 6(3), 136.
52. Bhattacharjee, S., Rana, T., Sengupta, A. (2007). Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by cardamom and cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in Swiss albino mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 8(4), 578-582.
53. Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010). Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Asian Journal of Chemistry*, 22(6), 4787.
54. Bianchi, M. E. (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology*, 81(1), 1-5.
55. Biju, C. N., Siljo, A., Bhat, A. I. (2010). Survey and RT-PCR based detection of Cardamom mosaic virus affecting small cardamom in India. *Indian Journal of Virology*, 21(2), 148-150.
56. Bilimoff, M. (2011). Les remèdes du moyen âge. Ouest-France.
57. Bisht, V. K., Negi, J. S., Bh, A. K., Sundriyal, R. C. (2011). *Amomum subulatum* Roxb: Traditional, phytochemical and biological activities-An overview. *African Journal of Agricultural Research*, 6(24), 5386-5390.
58. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
59. Bone, K., MILLS, S. (2013). *Principles and Practice of Phytotherapy, Modern Herbal Medicine*. Elsevier Health Sciences.
60. Boros, B., Jakabová, S., Dörnyei, Á., Horváth, G., Pluhár, Z., Kilár, F., Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217(51), 7972-7980.
61. Borrelli, F., Izzo, A. A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research*, 14(8): 581-591.

62. Borrelli, F., Izzo, A. A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(8), 581-591.
63. Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tecdoc.
64. Botting, R. M., Botting, J. H. (2000). Pathogenesis and mechanisms of inflammation and pain. *Clinical Drug Investigation*, 19(2), 1-7.
65. Boufadi, Y. M., Soubhye, J., egrave, N., Van Antwerpen, J., Ve P., Riazi, A. (2016). Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. *Int J Food Sci Technol*, 51(12):2613-20.
66. Boufadi, Y. M., Van Antwerpen, P., ChikhAlard, I., Nève, J., Djennas, N., Riazi, A., & Soubhye, J. (2017). Antioxidant effects and bioavailability evaluation of propolis extract and its content of pure polyphenols. *Journal of Food Biochemistry*, 42(1), e12434.
67. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LTW-Food Sci. Technol*, 28: 25-30.
68. Broz, P., Monack, D. M. (2013). Noncanonical Inflammasomes: Caspase-11 Activation and Effector Mechanisms. *PLoS Pathogens*, 9(2): e100314.
69. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). *TecDoc/Lavoisier, Paris*, 279-281.

**-C-**

70. Caceres, A. I., Liu, B., Jabba, S. V., Morris, J. B., & Jordt, S. E. (2016). TRPM8 Mediates the Anti-inflammatory Effects of Eucalyptol in a Mouse Model of LPS-Induced Pulmonary Inflammation. *The FASEB Journal*, 30, 1b555-1b555.
71. Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food control*, 54, 111-119.
72. Carillon, A. (2009). *Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé du XXIème siècle. (2009). Conférence SIPAM Djerba, Tunisie, p7.*
73. Carip, C. (2010). Biologie appliquée à la santé. 2ème édition, collection BTS économie sociale et familiale. Lavoisier, Paris, France, 313—315.
74. Carlsson, O., Rippe, B. (1999). Peritoneal lymphatic absorption and solute exchange during zymosan-induced peritonitis in the rat. *Am. J. Physiol.* 277 (Heart Circ. Physiol, 46: H1107–H1112.
75. Chaa, S., Boufadi, Y. M., Keddari, S., Benchaib, A. H., Soubhye, J., Van Antwerpen, P., Riazi, A. (2019). Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(3), 294-300.
76. Cillard, J., Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
77. Coujard, R. (1980). Méthodes de l'histologie humaine. *Ed, Masson, Paris-France*, PP : 01-23.
78. Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia. University Press. New York, 1753.
79. Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(2), 324-325.

80. Czimmer, E., Hagymasi, K., Blazovics, A., Kery, A., Szóke, É., Lemberkovics, E. (2001). The in vitro effect of Helichrysum on microsomal lipid peroxidation. *Journal of ethnopharmacology*, 77(1), 31-35.

**-D-**

81. Darwish, M. M., Abd El Azime, A. S. (2013). Role of cardamom (*Elettaria cardamomum*) in ameliorating radiation induced oxidative stress in rats. *Arab J Nucl Sci Appl*, 46(1), 232-9.
82. Das, I., Acharya, A., Berry, D. L., Sen, S., Williams, E., Permaul, E., Saha, T. (2012). Antioxidative effects of the spice cardamom against non-melanoma skin cancer by modulating nuclear factor erythroid-2-related factor 2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *British journal of nutrition*, 108(6), 984-997.
83. Dashti-Rahmatabadi, M., Vahidi Merjardi, A., Pilavaran, A., Farzan, F. (2009). Antinociceptive effect of cinnamon extract on formalin induced pain in rat. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci*, 17(2): 190-199.
84. De Andrade Belo, M. A., Soares, V. E., De Souza, L. M., Da Rosa Sobreira, M. F., Silveira Cassol, D. M., Toma, S. B. (2012). Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 155-165.
85. De Campos, A. M., Diebold, Y., Carvalho, E. L., Sánchez, A., Alonso, M. J. (2004). Chitosan nanoparticles as new ocular drug delivery systems: in vitro stability, in vivo fate, and cellular toxicity. *Pharmaceutical research*, 21(5), 803-810.
86. Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M., Tawata, S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food control*, 19(4), 346-352.
87. Deepak, S., Pallavi, S., Rameshwar, S. (2009). Curcumin counteracts the aluminium-induced ageing-related alterations in oxidative stress, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase and protein kinase C in adult and old rat brain regions. *Biogerontology*, 10, 489-502.
88. Defraigne, J., Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liège*, 63: 10-19.
89. Delattre J, Théron P, Bonnefont-Rousselot D. (2005). Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier: 281-309
90. Delattre, J., Beaudeau, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).
91. Destaing F, Duzer A. BIO-FIBRI Dosage Chronométrique du Fibrinogène. *Pathologie et Biologie* 1960. 8, 1615.
92. Destaing, F., et Duzer, A. (1960). *Pathologie et Biologie*, 8, 1615.
93. Devendeville, C. (2009). *Les zingiberacées: description et utilisations des principales épices de la famille* (Doctoral dissertation).
94. Devi, R. S., Narayan, S., Vani, G., Devi, C. S. S. (2007). Gastroprotective effect of *Terminalia liarjun* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *ChemicoBiological Interactions*, 167: 71-83.
95. Devi, R. S., Narayan, S., Vani, G., Devi, C. S. S. (2007). Gastroprotective effect of *Terminalia liarjun* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chemico-Biological Interactions*, 167(1), 71-83.

96. Dhuley, J.N., (1999). Anti-oxidant effects of cinnamon. (Cinnamomumverum).Bark and greater cardamom. (Amomumsubulatum).Seeds in rats fed high fat diet, Indian, J.,Exp. Biol ; 37, 238–242.
97. Dietz, O., Wiesner, E. (1984). Haematology and biochemistry of normal mice and the significance of pathologic variation. In: Diseases of the mice. Part1. S. Karger, Basel, 28-31.
98. Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., & Yousfi, M. (2015). The in vitro evaluation of antioxidativeactivity,  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitory of naturalphenolicextracts. *Diabetes&metabolic syndrome: clinicalresearch&reviews*, 9(4), 324-331.
99. Drayton, D. L., Liao, S., Mounzer, R. H.,Ruddle, N. H. (2006). Lymphoidorgandevlopment: fromontogeny to neogenesis. *Nature immunology*, 7(4), 344-353.
- 100.Drury, R.A.,Wallington, E.A. (1980). Carleton’s Histological Techniques. *5th Ed. Oxford University Press, New York*, 195.
- 101.Du, B., Zhu, F.,Xu, B. (2018). An insight into the anti-inflammatoryproperties of edible and medicinalmushrooms. *Journal of FunctionalFoods*, 47, 334-342.
- 102.Dugas Jr, A. J., Castañeda-Acosta, J., Bonin, G. C., Price, K. L., Fischer, N. H.,Winston, G. W. (2000). Evaluation of the total peroxy radical-scavengingcapacity of flavonoids: structure–activityrelationships. *Journal of Natural Products*, 63(3), 327-331.
- 103.Durand, D., Damon, M.,Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.

**-E-**

- 104.El Hilah Fatima, F. B. A., Dahmani, J., Belahbib, N.,Zidane, L. (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *Journal of Animal Plant Sciences*, 25(2), 3886-3897.
- 105.El Malti, J., Mountassif, D.,Amarouch, H. (2007). Antimicrobialactivity of Elettaria cardamomum: Toxicity, biochemical and histologicalstudies. *Food chemistry*, 104(4), 1560-1568.
- 106.Elguindy, N. M., Yacout, G. A., El Azab, E. F.,Maghraby, H. K. (2016). Chemoprotectiveeffect of Elettaria cardamomum againstchemicallyinducedhepatocellularcarcinoma in rats by inhibiting NF- $\kappa$ B, oxidative stress, and activity of ornithine decarboxylase. *South African journal of botany*, 105, 251-258.
- 107.Elguindy, N. M., Yacout, G. A.,El Azab, E. F. (2018). Amelioration of DENA-inducedoxidative stress in rat kidney and brain by the essential oil of Elettaria cardamomum. *Beni-SuefUniversity Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(3), 299-305.
- 108.Elinav, E., Nowarski, R., Thaiss, C. A., Hu, B., Jin, C., Flavell, R. A. (2013). Inflammation induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat. Rev. Cancer*, 13: 759–771.
- 109.Elizabeth, T., Jaleel, K., Zachariah, J. T., Syamkumar, S., Sasikumar, B. (2009). GC MS analysis of essential oil of export grade Indian, Guatemalan and Sri Lankacardamoms.
- 110.Elstner, E. F., Youngman, R. J., Obwald, W. (1983). Superoxyde dismutasein methods of enzymatic analysis. *3rd ed. H. B Bergmeyer*, 3 : 293-302.
- 111.Eming, S. A., Krieg, T.,Davidson, J. M. (2007). Inflammation in woundrepair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of InvestigativeDermatology*, 127(3), 514-525.

112. EREL, Ş. B., Reznicek, G., Şenol, S. G., YAVAŞOĞLU, N. Ü. K., Konyalıoğlu, S., Zeybek, A. U. (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 75-84.
113. Escartin, I. Lacoste, C., Parello-Marneix, J., Cassan, A. C. (2010). Découvre le chemin des plantes, guide des épices et aromates, artcaractère (sia), institut klorane, p. 20- 21.

**-F-**

114. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bourouai, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
115. Fauve, R. M., Hevin, M. B. (1998). Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. *L'inflammation (JL Eurotext, éd.)*, 10-20.
116. Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-117.
117. Ferraz, J. G., Sharkey, K. A., Reuter, B. K., Asfaha, S. A. M. U. E. L., Tigley, A. W., Brown, M. L., Wallace, J. L. (1997). Induction of cyclooxygenase 1 and 2 in the rat stomach during endotoxemia: role in resistance to damage. *Gastroenterology*, 113(1), 195-204.
118. Fofana, S. (2011). Etude des effets antiradicalaires et anti-lipoxygénases des extraits de *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae). Université de Ougadougou, Burkina Faso, p. 107.
119. Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandez, M. S., Xu, Q., Griendling, K. K. (2018). Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation research*, 122(6), 877-902.

**-G-**

120. Gao, M., Liu, C. Z. (2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8-9), 1461-1463.
121. Garrick, T., Buack, S., Bass, P. (1986). Gastric motility is major factor in cold, restraint induced lesion formation in rats. *American J Physiology*, 250, 6191-6199.
122. Gattorno, M., Martini, A. (2016). Inflammation and Its Mediators. *Textbook of Pediatric Rheumatology*, 14-32.e2.
123. Gautam, N., Bhattarai, R. R., Khanal, B. K. S., Oli, P. (2016). Technology, chemistry and bioactive properties of large cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.): An overview. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 4(2), 139-149.
124. Geng, Y., Zhu, S., Lu, Z., Xu, H. Y., Shi, J. S., Xu, Z. H. (2014). Anti-inflammatory activity of mycelial extracts from medicinal mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(4).
125. Gilani, A.H., Q. Jabeen., A.U., Khan, A.J., Shah. (2008). Gut modulatory blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom, *J. Ethnopharmacol.* 115, 463-472.
126. Gilly, G., (2005). Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse, botanique, culture, chimie, production et marché. Editions L'Harmattan.
127. Gimenez, F., Brazier, M., Calop, J., Dine, T., Tchiakpé, L., Claerbout, J. F. (2000). Traitement de l'ulcère gastro-duodénal dans Pharmacie Clinique et Thérapeutique, Edition Masson, Paris, p. 1065.
128. Goetz, P. (2012). Actualités en phytothérapie. *Phytothérapie*, 10(1) : 55-7.

129. Goma, A. A., Makboul, R. M., El-Mokhtar, M. A., Abdel-Rahman, E. A., Ahmed, I. A., Nicola, M. A. (2019). Terpenoid-rich *Elettaria cardamomum* extract prevents Alzheimer-like alterations induced in diabetic rats via inhibition of GSK3 $\beta$  activity, oxidative stress and pro-inflammatory cytokines. *Cytokine*, 113, 405-416.
130. Gornall, A., Bardawill, C.J., David, M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem*. 177(2):751-66.
131. Goyal, S. N., Sharma, C., Mahajan, U. B., Patil, C. R., Agrawal, Y. O., Kumari, S., ...Ojha, S. (2015). Protective effects of cardamom in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 27457-27469.
132. Goze, I., Alim, A., Tepe, A. S., Sokmen, M., Sevgi, K., Tepe, B. (2009). Screening of the antioxidant activity of essential oil and various extracts of *Origanum rotundifolium* Boiss. from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(4), 246-254.
133. Gupta, S. K., Gupta, A., Gupta, A. K. (2013). In vitro anti arthritic activity of ethanolic extract of *Callicarpum macrophyllum*. *Int Res J Pharm*, 4: 160-62.

**-H-**

134. Haioun, A., Hamoudi, F. Z. Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethum graveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité de la doxorubicine, Mémoire Master, Université des Frères Mentouri Constantine, ALGERIE. 2015; 105.
135. Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* L. et de *ormenis mixta* L. (asteraceae).
136. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
137. Han, X., Parker, T. L. (2017). Cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oils significantly inhibit vascular cell adhesion molecule 1 and impacts genome-wide gene expression in human dermal fibroblasts. *Cogent Medicine*, 4(1), 1308066.
138. Handique, J. G., Baruah, J. B. (2002). Polyphenolic compounds: an overview. *Reactive & Functional Polymers*, 52, 163 – 188.
139. Harou, A., Yessad, N. (2017). Activité anti-inflammatoire in vitro de quelques molécules pures d'origine végétale. Mémoire de master en science. Universités A. MIRA – Bejaia, p 67.
140. Hashim, S., Aboobaker, V. S., Madhubala, R., Bhattacharya, R. K., Rao, A. R. (1994). Modulatory effects of essential oils from spices on the formation of DNA adduct by aflatoxin B1 in vitro.
141. Hausladen, A., Stamlert, J. S. (2017). Resistance factors for nitrosative and oxidative stress, Nitric Oxide and the Cell: Proliferation, Differentiation, and Death. *Cell Death*, 105–115.
142. Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
143. He, X., Wang, S., Shi, J., Sun, Z., Lei, Z., Yin, Z., Xie, H. (2018). Genotypic and environmental effects on the volatile chemotype of *Valeriana jatamansi* Jones. *Frontiers in plant science*, 9, 1003.
144. Henaryn, Ridly. (1999). "Spices" Dehardun: Interantional Book Distribution, pp.325-357.

145. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M. J., Gavara, R. (2006) Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, 39: 247-253.
146. Ho, S. C., Tsai, T. H., Tsai, P. J., Lin, C. C. (2008). Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46(3), 920-928.
147. Hogan, S. P., Rosenberg, H. F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P. S., Lacy, P., Rothenberg, M. E. (2008). Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clinical Experimental Allergy*, 38(5), 709-750.
148. Hong, S., Joo, T., Jhoo, J. W. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of 3, 5-dicaffeoylquinic acid isolated from *Ligularia fischeri* leaves. *Food Science and Biotechnology*, 24(1), 257-263.
149. Horvat, J. C., Starkey, M. R., Kim, R. Y., Beagley, K. W., Preston, J. A., Gibson, P. G., Hansbro, P. M. (2010). Chlamydial respiratory infection during allergen sensitization drives neutrophilic allergic airways disease. *The Journal of Immunology*, 184(8), 4159-4169.
150. Huang, X., Liu, Y., Lu, Y., Ma, C. (2015). Anti-inflammatory effects of eugenol on lipopolysaccharide-induced inflammatory reaction in acute lung injury via regulating inflammation and redox status. *Int. Immunopharmacol*, 26: 265-271.
151. Huang, Y. B., Fang, J. Y., Hung, C. H., WU, P. C., TSAI, Y. H. (1999). Cyclic Monoterpene Extract from Cardamom Oil as a Skin Permeation Enhancer for Indomethacin: In Vitro and in Vivo Studies. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22(6), 642-646.

**-I-**

152. Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
153. Ikeda, K., Arao, Y., Otsuka, H., Nomoto, S., Horiguchi, H., Kato, S., Kayama, F. (2002). Terpenoids found in the umbelliferae family act as agonists/antagonists for ER $\alpha$  and ER $\beta$ : differential transcription activity between ferutinine-liganded ER $\alpha$  and ER $\beta$ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291(2), 354-360.
154. Isabelle, E., Lacoste C., Parello-Marneix, J., Cassan, A. (2010). Découvre le chemin des plantes, guide des épices et aromates, art caractère (sia), institut klorane, 20- 21.
155. Islam, T., Ganesan, K., Xu, B. B. (2019). New insight into myco chemical profiles and antioxidant potential of edible and medicinal mushrooms: A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 21(3).

**-J-**

156. Jafri, M. A., Javed, K., Singh, S. (2001). Evaluation of the gastric anti-ulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb). *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 89-94.
157. Jamal, A., Javed, K., Aslam, M., Jafri, M. A. (2006). Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton fruits in rats. *J Ethnopharmacology*, 103: 149-153.

158. Jamal, A., Javed, K., Aslam, M., Jafri, M. A. (2006). Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 103(2), 149-153.
159. Jamal, A., Siddiqui, A., Aslam, M., Javed, K., Jafri, M. A. (2005). Antiulcerogenic activity of *Elettaria cardamomum* Maton. and *Amomum subulatum* Roxb. seeds.
160. Jamil, B., Bokhari, H., Imran, M. (2017). Mechanism of action: how nano-antimicrobials act?. *Current drug targets*, 18(3), 363-373.
161. Janeway Jr, C. A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. J. (2001). Principles of innate and adaptive immunity. In *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition*. Garland Science.
162. Janmeda, P., Sharma, V., Singh, L., Paliwal, R., Sharma, S., Yadav, S., Sharma, S. (2011). Chemopreventive effect of hydroethanolic extract of *Euphorbia nerifolia* leaves against DENA-induced renal carcinogenesis in mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 12(3), 677-83.
163. Jauniaux, E., Burton, G. J. (2016). The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*, 45(8), 775-785.
164. Jessie, S.W., Krishnakantha, T.P. (2005). Inhibition of human platelet aggregation and membrane lipid peroxidation by food spice, saffron. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 278 (1) ; 59-63.
165. Johnya, K., Ravindran, P. N. (2002). Hints for cardamom Cultivation high production Technology. *Plant Hortitech*, 13(6), 21-26.

**-K-**

166. Kadjo, K., Ouattara, B., Sanogo, S., Diallo, A., Adom, A., Yangni-Angate, Y. (1999) Aspects épidémiologiques des ulcères gastro-duodénaux. *Médecine d’Afrique Noire*, 46.
167. Kallapurakal, J., and Ravindran, P.N. (2002). Hints for cardamom Cultivation high production Technology. *Plant Hortitech*, 13(6), pp. 21-26.
168. Kamguia, J., Kenfack, J. V., Tadjou, J. M., Tabod, T. C., et Bekoa, A. (2011). Gravity Interpretation of the Cameroon Mountain (West Central Africa) Based on the New and Existing Data. *International Journal of Geosciences*, 2(04), 513.
169. Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Krupashree, K., Jayashree, G. V., Abhishek, V., Khanum, F. (2015). LC-ESI-MS/MS analysis of total oligomeric flavonoid fraction of *Cyperus rotundus* and its antioxidant, macromolecule damage protective and antihemolytic effects. *Pathophysiology*, 22: 165–173.
170. Kandikattu, H.K., Rachitha, P., Jayashree, G.V., Krupashree, K., Sukhith, M. (2017). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom. (*Elettaria repens* (Sonn. Baill) and its phytochemical analysis by 4D GCXGC TOF-MS, *Biomed. Pharm.* (91); 191–201.
171. Kapoor, I. P. S., Singh, B., Singh, G., Isidorov, V., Szczepaniak, L. (2008). Chemistry, antifungal and antioxidant activities of cardamom (*Amomum subulatum*) essential oil and oleoresins. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 2(1), 29-40.
172. Katzung, B. G. (2004). Basic and Clinical Pharmacology. *Pharmacologie fondamentale et Clinique. McGraw-Hill Publishing Co. Paperback*, 1725. B01K17900Y.
173. Kaur, T., Pathak, C. M., Pandhi, P., Khanduja, K. L. (2008). Effects of green tea extract on learning, memory, behavior and acetylcholinesterase activity in young and old male rats. *Brain Cogn*, 67: 25–30.

174. Kaushik, P., Goyal, P., Chauhan, A., Chauhan, G. (2010). In vitro evaluation of antibacterial potential of dry fruit extracts of *Elettaria cardamomum* Maton (Chhoti Elaichi). *Iranian journal of pharmaceutical research: JPR*, 9(3), 287.
175. Kazemi, S., Yaghooblou, F., Siassi, F., Rahimi Foroushani, A., Ghavipour, M., Koohdani, F., Sotoudeh, G. (2017). Cardamom supplementation improves inflammatory and oxidative stress biomarkers in hyperlipidemic, overweight, and obese pre-diabetic women: A randomized double-blind clinical trial. *Journal of the science of food and agriculture*, 97(15), 5296-5301.
176. Kennedy-Feitosa, E., Porto, L. C., Schmidt, M., Okuro, R., Zin, W. A., Brito-Gitirana, W. A., Valenca, S. S. (2015). Eucalyptol reduced inflammation and oxidative stress on mouse lungs exposed to long and short-term cigarette smoke. *Eur. Respir. J*, 46: PA3924.
177. Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 51-55.
178. Khan, A. Q., Khan, R., Qamar, W., Lateef, A., Rehman, M. U., Tahir, M., ... & Sultana, S. (2013). Geraniol attenuates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced oxidative stress and inflammation in mouse skin: possible role of p38 MAP Kinase and NF- $\kappa$ B. *Experimental and molecular pathology*, 94(3), 419-429.
179. Khandelwal, K. (2008). Practical pharmacognosy. Pragati Books Pvt. Ltd.
180. Kikuzaki, H., Kawai, Y., Nakatani, N. (2001). 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging active compounds from greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.). *Journal of nutritional science and vitaminology*, 47(2), 167-171.
181. Kim, D. S., Lee, H. J., Jeon, Y. D., Han, Y. H., Kee, J. Y., Kim, H. J., Shin, H. J., Kang, J., Lee, B. S., Kim, S. H., Kim, S. J., Park, S. H., Choi, B. M., Park, S. J., Um, J. Y., Hong, S. H. (2015). Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- $\kappa$ B pathway in mouse peritoneal macrophages. *Am. J. Chin. Med*, 43: 731-742.
182. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
183. Kogure, K., Yamauchi, I., Tokumura, A., Kondou, K., Tanaka, N., Takaishi, Y., Fukuzawa, K. (2004). Novel antioxidants isolated from plants of the genera *Ferula*, *Inula*, *Prangos* and *Rheum* collected. Tsujita, Usao, *Japanese Geographers*. Takeuchi.
184. Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N. J., Vunduk, J., Petrovic, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., Griensven, L. V. (2015). Antioxidants of Edible Mushrooms. *Molecules*, 20: 19489-19525.
185. Krediet, R. T., Zuyderhoudt, F. M. J., Boeschoten, E. W., Arisz, L. (1987). Alterations in the peritoneal transport of water and solutes during peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Eur. J. Clin. Investig*, 17: 43-52.
186. Kregel, K. C. I., Zhang, H. J. (2007). *Am. J. Physiol Regul Integr Comp. Physiol.*; 292: 18-36.
187. Ku, C. M., Lin, J. Y. (2015). Farnesol, a sesquiterpene alcohol in herbal plants, exerts anti-inflammatory and anti-allergic effects on ovalbumin-sensitized and challenged asthmatic mice, Evid. Based Complement. *Altern. Med*, 387357.

188. Kumar, U., Kumar, B., Bhandari, A., Kumar, Y. (2010). Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom. *Int J PharmSciRes*, 1(12), 138-47.
189. Kumar, V., Gill, K. D. (2009). Aluminium neurotoxicity: neurobehavioral and oxidative aspects. *Arch Toxicol*, 83 (11): 965-978.
190. Kumar, V., Gill, K. D. (2009). Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects. *Archives of toxicology*, 83(11), 965-978.
191. Kurapati, K. R. V., Samikkannu, T., Kadiyala, D. B., Zainulabedin, S. M., Gandhi, N., Sathaye, S. S., Nair, M. P. (2012). Combinatorial cytotoxic effects of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* on the PC-3M prostate cancer cell line. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 23(4), 139-146.
192. Kurapati, K. R., Samikkannu, T., Kadiyala, D. B., Zainulabedin, S. M., Gandhi, N., Sathaye, S. S., Indap, M. A., Boukli, N., Rofrieguez, J. W., Nair, M. P. (2012). Combinatorial cytotoxic effects of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* on the PC-3M prostate cancer cell line. *J Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 23(4): 139-146.
193. Kutlubay, R., Oguz, E. O., Can, B., Guven, M. C., Sinik, Z., Tuncay, O. L. (2007). Protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium. *Int J Toxicol*, 26(4) : 297-306.
194. Kutlubay, R., Oğuz, E. O., Can, B., Güven, M. C., Sinik, Z., Tuncay, Ö. L. (2007). Vitamin E protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium. *International Journal of Toxicology*, 26(4), 297-306.

-L-

195. Lacour, R., Belon, J. P. (2015). physiologie. *Elsevier-Masson*, p. 229-235.
196. Lamarque, D. (2001). Physiopathologie, risque et prévention des lésions ulcérées gastroduodénales en cas de prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Hépto-Gastro et Oncologie Digestive*, 8(2):103-11.
197. Lamarque, D. (2004). Physiopathologie des lésions gastroduodénales induites par les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Gastroenterol Clin Biol*, 28: 18-26.
198. Lange, K., Peskar, B. A., Peskar, B. M. (1985). Stimulation of rat mucosal leukotiene formation by ethanol. *Naunyn Schmiedebergs Archiv fur Pharmakologie*, 3305, 27.
199. Lee, H. J., Jeong, H. S., Kim, D. J., Noh, Y. H., Yuk, D. Y., Hong, J. T. (2008). Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF-kappa B activation in RAW264.7 cells, *Arch. Pharm. Res*, 31: 342-349.
200. Lijo, T., Rajeev, P. (2015). Cardamom - extension pamphlet, ICAR- Indian Institute of Spices Research, Kozhikode
201. Liu, Z., Mo, K., Fei, S., Zu, Y., Yang, L. (2017). Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. *J Separation Science*, 40(15): 3100-3113.
202. Liu, Z., Mo, K., Fei, S., Zu, Y., Yang, L. (2017). Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. *Journal of separation science*, 40(15), 3100-3113.

203. Loram, L. C., Fuller, A., Fick, L. G., Cartmell, T., Poole, S., Mitchell, D. (2007). Cytokine profiles during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rat muscle and hind paw. *J. Pain*, 8: 127–136.
204. Louisot, P. (1983). Catabolisme des protéines et métabolisme des amino-acides. I: Biochimie générale et médicale, structural, métabolique sémiologique. *Vielleurbane Simep*, 702-750.
205. Luck, H. (1965). Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*. Ed. Bergmeyer, PP: 895-897.
206. Luo, L., Tan, W., Ricono, J. M., Korchynskyi, O., Zhang, M., Gonias, S. L., Cheresch, D. A., Karin, M. (2007). **Nuclear cytokine-activated IKK $\alpha$  controls prostate cancer metastasis by repressing Masp1.** *Nature*, 446: 690-694.

**-M-**

207. Madhusoodanan, K. J., Pradip Kumar, K., Ravindran, P. N., (2003). Botany, crop improvement and biotechnology of cardamom. Cardamom–The genus *Elettaria*. *Taylor and Francis*, London, 11-40.
208. Maggi, F., Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M. M., Tirillini, B., Sagratini, G., Papa, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia*, 80: 68-72.
209. Mahady, G. B., Pendland, S. L., Stoia, A., Hamill, F. A., Fabricant, D., Dietz, B. M., Chadwick, L. R. (2005). In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(11), 988-991.
210. Majdalawieh, A. F., Carr, R. I. (2010). In vitro investigation of the potential immunomodulatory and anti-cancer activities of black pepper (*Piper nigrum*) and cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Journal of Medicinal Food*, 13(2), 371-381.
211. Manjunath, C., Mahurkar, N. (2019). In vitro cytotoxicity of cardamom oil, lemon oil, and jasmine oil on human skin, gastric, and brain cancer cell line. *J Can Res Ther*.
212. Mansour, S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L., *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scaberrimum* L. – Etude in vivo-. *Thèse de Doctorat. Université des Sciences et de la Technologie Mohamed BOUDIAF*, Oran.
213. Marhuenda, E., Martin, M. J., Alarcon de la Lastra, C. (1993). Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytotherapy Research*, 7: 13–16.
214. Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2004). Comparative analysis of the oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6278-6282.
215. Martins, J. L. R., Rodrigues, O. R. L., Silva, D. M., Galdino, P. M., De Paula, J. R., Romão, W., Costa, H. B., Vaz, B. G., Ghedini, P. C., COSTA, E. A. (2014). Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq). Sargent on gastric lesions in mice. *J Ethnopharmacology*, 155: 1616–1624.

216. Masoumi-Ardakani, Y., Mahmoudvand, H., Mirzaei, A., Esmaeilpour, K., Ghazvini, H., Khalifeh, S., Sepehri, G. (2017). The effect of *Elettaria cardamomum* extract on anxiety-like behavior in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 87, 489-495.
217. Mathew, B. (2013). Info Kerala Communications. Pvt Ltd, p84.
218. McGettigan, P., Henry, D. (2013). Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: an examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high-income countries. *PLoS Med*, 10 (p.e1001388).
219. Mebirouk, R. (2017). Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et antiangiogénique. *Thèse de Doctorat. Université des frères Mentouri, Constantine*.
220. Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *In Nature*, 454: 428-435.
221. Mersereau, W. A., Hinchey, E. J. (1982). Role of gastric mucosal folds in formation of focal ulcers in rats. *Surgery*, 91: 150-155.
222. Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacology Review*, 4 (52): 673-839.
223. Ministry of Commerce Industry, Government of India (MCIGI). (2017). Spices Board India.
224. Mohamed, H.G., Gaafar, A.M., Soliman, A.S. (2016). Antimicrobial activities of essential oil of eight plant species from different families against some pathogenic microorganisms. *Res J Microbiol*, 11(1):28-34.
225. Mohammedi, Z. (2013). *Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie* (Doctoral dissertation).
226. Morel, J.M. (2008). *Traité Pratique de Phytothérapie*, Grancher, Paris, p620.
227. Morikawa, T., Li, N., Nagatomo, A., Matsuda, H., Li, X., Yoshikawa, M. (2006). Triterpene saponins with gastroprotective effects from tea seed (the seeds of *Camellia sinensis*). *J. Natural Products Science*, 69: 185-190.
228. Moro-Buronzo, A., Schnebelen, J.C. (2013). *Grand guide des huiles essentielles*. Paris, Hachette Santé, p251.
229. Morris, B. (1953). The effect of diaphragmatic movement on the absorption of protein and red cells from the peritoneal cavity. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci*, 31: 239-246.
230. Morris, C. J. (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol*, 225: 115-121.
231. Morsy, M., Heeba, G., Abdelwahab, S., Rofaail, R. (2012). Protective effects of nebivolol against cold restraint stress-induced gastric ulcer in rats: Role of NO, HO-1, and COX-1,2. *Nitric Oxide*, 27: 117-122.
232. Mueller, M., Hobiger, S., Jungbauer, A. (2010). Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices, *Food Chem*. 122. 987-996.
233. Mutmainah, R.S., Rahmawati, N., Nugroho, A.E. (2004). Gastroprotective effects of combination of hot water extracts of turmeric (*Curcuma domestica* L). cardamom pods (*Ammomum compactum* S). and

sembung leaf (Blumeabalsamifera DC).against aspirin-induced gastric ulcer model in rats. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4: S500–504.

**-N-**

- 234.Nagashree, S., Archana, K. K., Srinivas, P., Srinivasan, K., Sowbhagya, H. B. (2016). Antihypercholesterolemic influence of the spice cardamomum *Elettaria cardamomum* (L.) in experimental rats. *J Sci Food Agric.*
- 235.Nagashree, S., Archana, K. K., Srinivas, P., Srinivasan, K.,Sowbhagya, H. B. (2017). Anti-hypercholesterolemic influence of the spice cardamom (*Elettaria cardamomum*) in experimental rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(10), 3204-3210.
- 236.Nair, K. P. (2006). The agronomy and economy of cardamom: the —queen of spices. *Advances in agronomy*, 91 ; 179-471.
- 237.Naito, M., Hayashi, T., Iguchi, A. (1995). New approaches to the prevention of atherosclerosis. *Drugs*, 50: 440–453.
- 238.Nakajima, K., Nakano, T., Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367: 36-47.
- 239.Nanasombat, S., Lohasupthawee, P. (2005) Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonella* and other *enterobacteria*. *KMITL Science and Technology J*, 5(3): 527-538.
- 240.Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.
- 241.National Institute of Cancer Jos and Alencar Gomes da Silva (NICA) (2016). Coordination of Prevention and Vigilance, Estimate: *Incidence of cancer in Brazil, Rio de Janeiro, Brazil.*
- 242.Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74(4): 418-25.
- 243.Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, M.,Bacchiocca, M. (2005). Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*, 93(2), 257-266.
- 244.Ninomiya, K., Hayama, K., Ishijima, S. A., Maruyama, N., Irie, H., Kurihara, J., Abe, S. (2013). Suppression of inflammatory reactions by terpinen-4-ol a main constituent of tea tree oil, in a murine model of oral candidiasis and its suppressive activity to cytokine production of macrophages in vitro. *Biol. Pharm. Bull*, 36: 838–844.
- 245.Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l’Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Thèse en vue d’obtention de Doctorat en Science des Aliments, Université CADI Ayyad, SEMLALIA –ARRAKECH.*
- 246.Nongonierma, R., Ndiaye, A., Ndiaye M., Faye, B. (2006). Activité anti-inflammatoire des décoctés aqueux et alcoolique des feuilles de *Boscia senegalensis* (Pers) Lam. Ex. poir. Capparridaceae. *Méd Afri Noire*. 53 : 557-563.

247.Nourshargh, S., Alon, R. (2014). Leukocyte Migration into Inflamed Tissues. *Immunity*, 41(5): 694-707.

248.Nourshargh, S., Alon, R. (2014). Leukocyte migration intoinflamed tissues. *Immunity*, 41(5), 694-707.

249.Nourshargh, S., Krombach, F., Dejana, E. (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *J Leukoc Biol*, 80: 714-718.

**-O-**

250.Organisation Mondiale de la Sante. (2003).Médecine traditionnelle (rapport du secrétariat). Cinquante sixième assemblées mondiales de la santé ,56-18, p5.

**-P-**

251.PadmakumariAmma, K.P., Rani, M., Sasidharan, I., Premakumari Nisha, V.N. (2010). Chemical composition, flavonoid-phenolic contents and radical scavengingactivity of four major varieties of cardamom. *Int J Biol Med Res*, 1(3), 20-24.

252.Paglia, D. E.,Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyteglutathioneperoxidase. *The Journal of laboratory and clinicalmedicine*, 70(1), 158-169.

253.Patel, U., Rajasingh, S., Samanta, S., Cao, T., Dawn, B., Rajasingh, J. (2017). Macrophage polarization in response to epigenetic modifiers during infection and inflammation. *Drug discovery today*, 22(1): 186-193.

254.Paula, K., Chakraborty, S., Mallick, P., Bhattacharjee, P., Palc, T. K., Chatterjee, N., Chakrabarti, S. (2020). Supercritical carbon dioxide extracts of small cardamom and yellow mustard seeds have fasting hypoglycemic effects: Diabetic rat, predictive iHOMA2 models and molecular docking study. *Nutr Cancer*, 62(1): 1–20.

255.Pearlman, F. C.,Lee, R. T. (1974). Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. *Clinicalchemistry*, 20(4), 447-453.

256.Pierre, M., Lis, M.(2011). Secrets des plantes. Chamalières, Artémis,p463.

257.Pilehvarian, A., Shirani, M., Kheiri, S., Taji, F., Asgari, A. (2010). Effect of Euphorbia helioscopia on acetic acid-induced abdominal constrictions in Balb/c mice. *J Shahrekord Univ Med Sci*, 11(4): 9-14.

258.Pisoschi, A., Pop, A. (2015). The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review. *European J Medicinal Chemistry*, 97(31): 55-74.

259.Planet,L.(2013). Ma cuisine « made in Inde ». Paris, Solar.p72.

260.Podszędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidantcapacity of Brassicavegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.

261.Poirel, C.(2017).La cardamome, de l'Inde à l'officine (thèse). Université de Lorraine,P 25.

262.Popovici, C., Saykova, I.,Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.

263.Prabha, M.,Anusha, T. S. (2015). Esterase'sproperties in commonlyusedIndianspices for Alzheimer'sdisease model. *Journal of biochemicaltechnology*, 6(1), 875-882.

264.Pracheta, P., Sharma, V., Singh, L., Paliwal, R., Sharma, S., Yadav, S. (2011). Chemopreventive effect of hydroethanolic extract of Euphorbia neriifolia leaves against DENA-induced renal carcinogenesis in mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 12 (3): 677–683.

265. Prekar., Belgave, S.S., Rege, N.N. (2015). Experimental evaluation of analgesic, anti-inflammatory and anti-platelet potential of dashamoola. *J Ayurveda Inter.Med.* Jan-Mar, 6(1), p: 8-11.
266. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

**-Q-**

267. Qiblawi, S., & Dhanarasu, S. (2015). Chemopreventive effect of cardamom (*Elettaria cardamomum* L.) against benzo (α) pyrene-induced forestomach papillomagenesis in swiss albino mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 34(2).

**-R-**

268. Rahman, M. M., Alam, M. N., Ulla, A., Sumi, F. A., Subhan, N., Khan, T., Alam, M. A. (2017). Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *Lipids in health and disease*, 16(1), 151.
269. Rainsford, K. D. (1987). The effect of lipoxygenase inhibitors and leukotriene antagonists on the development of gastric lesions induced by non-steroidal inflammatory drugs in mice. *Agents and Actions*, 21: 316–319.
270. Rajan, A., Rajan, A. R., Philip, D. (2017). *Elettaria cardamomum* seed mediated rapid synthesis of gold nanoparticles and its biological activities. *OpenNano*, 2, 1-8.
271. Raksamiharja, R., Sy, K., Zulharini, M.S., Novarina, A. (2012). *Elettaria cardamomum* Distillate Increases Cellular Immunity in Doxorubicin Treated Rats. *Indonesian J Cancer Chemoprevention*, 3(3): 437.
272. Ramezani, M., Amin, G., Jalili, E. (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of *Vitex agnus castus* fruit in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci*, 11(4): 46-51.
273. Rankin, J. A. (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15(1), 3-17.
274. Ravindran, P. (Ed.), Madhusoodanan, K. (Ed.). (2002). Cardamom. London: CRC Press, <https://doi.org/10.1201/9780203216637>
275. Ray, A., Chaudhuri, S. R., Majumdar, B., Bandyopadhyay, S. K. (2002). Antioxidant activity of ethanolextract of rhizome of *Picrorhizakurroa* on indomethacin induced gastric ulcer during healing. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 17(2), 44-51.
276. Rayes, A. Study the effect of coffee and cardamom on the viability of some probiotic strains and their cytotoxicity. *Academic J* 2012; 10 (12), 11.
277. Robak, J., Gryglewski, R. J. (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology*, 37(5), 837-841.
278. Rodrigo, R. (2009). *Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease*. Nova Science Publishers, Incorporated.

279. Rubió, L., Motilva, M. J., Romero, M. P. (2013). Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(9), 943-953.

**-S-**

280. Sadeghi, H., Hajhashemi, V., Minaiyan, M., Movahedian, A., Talebi, A. (2013). Further studies on anti-inflammatory activity of maprotiline in carrageenan-induced paw edema in rat. *International Immunopharmacology*, 15: 505–510

281. Salducci, M. D., Marty, C., Fouquet, A., Gilles, A. (2005). Phylogenetic relationships and biodiversity in hylids (Anura: Hylidae) from French Guiana. *Comptes Rendus Biologies*, 328(10-11), 1009-1024.

282. Sánchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and systems biotechnology*, 2(1), 13-22.

283. Sanchez, D., López-Arias, B., Torroja, L., Canal, I., Wang, X., Bastiani, M. J., Ganfornina, M. D. (2006). Loss of glial lazardin, a homolog of apolipoprotein D, reduces lifespan and stress resistance in *Drosophila*. *Current Biology*, 16(7), 680-686.

284. Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma, P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale pharmaceuticasciencia*, 1(1), 25-41.

285. Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali-istituto superiore di sanita*, 43(4), 394.

286. Sanz, A., Stefanatos, R. K. (2008). The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Current aging science*, 1(1), 10-21.

287. Sayed-Ahmed, MM., Aleisa, AM., Al-Rejaie, SS., Al-Yahya, AA., Al-Shabanah, OA., Hafez, M. M. (2010). Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3 (4): 254–261.

288. Schmidt-Ott, K. M., Mori, K., Li, J. L., Kalandadze, A., Cohen, D. J., Devarajan, P., Barasch, J. (2007). Dual Action of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin. *J American Society of Nephrology*, 18 (2): 407-413.

289. Selles, C. (2012). *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H2SO4 0.5 M* (Doctoral dissertation).

290. Sen, S., Chakraborty, R., De, B., Mazumder, J. (2009). Plants and phytochemicals for peptic ulcer: An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 270.

291. Sengupta, A., S, Ghosh, S., Bhattacharjee. (2005). Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 6, 118–122.

292. Sengupta, A., Bhattacharjee, S. (2009). Cardamom (*Elettaria cardamomum*) and its active constituent, 1, 8-cineole. In *Molecular Targets and Therapeutic Uses of Spices: Modern Uses for Ancient Medicine* (pp. 65-85).

293. Sereshti, H., Rohanifar, A., Bakhtiari, S., Samadi, S. (2012). Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.

294. Shakya, A. K., Sharma, N., Saxena, M., Shrivastava, S., Shukla, S. (2012). Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective effect of Majoon-e-Dabeed-ul-ward against carbon tetrachloride induced liver injury. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64:767-773.
295. Sharma, G., Sharma, R., Sharma, E. (2009). Traditional knowledges systems in large cardamom farming: biophysical and management diversity in Indian mountainous regions.
296. Sharma, G., Tyagi, A. K., Singh, R. P., Chan, D. C., Agarwal, R. (2004). Synergistic anti-cancer effects of grape seed extract and conventional cytotoxic agent doxorubicin against human breast carcinoma cells. *Breast cancer research and treatment*, 85(1), 1-12.
297. Sharma, S., Sharma, J., Kaur, G. (2011). Therapeutic uses of Elettaria cardomum. *International Journal of Drug Development and Research*. 2 (6); 102–108.
298. Shati, A. A., Alamri, S. A. (2010). Role of saffron (*Crocus sativus* L.) and honey syrup on aluminum-induced hepatotoxicity. *Saudi Med J*, 31(10): 1106-1113.
299. Shati, A. A., Alamri, S. A. (2010). Role of saffron (*Crocus sativus* L.) and honeysyrup on aluminum-induced hepatotoxicity. *Saudi Med J*, 31(10), 1106-1113.
300. Shebl, F. M., Hsing, A. W., Park, Y., Hollenbeck, A. R., Chu, L. W., Meyer, T. E., Koshiol, J. (2014). Non-steroidal anti-inflammatory drugs use is associated with reduced risk of inflammation-associated cancers: NIH-AARP study. *PLoS One* 9, e114633.
301. Sheweita, S. Y., Sheikh, B. (2011). Can dietary antioxidants reduce the incidence of braintumors?. *Current Drug Metabolism*, 12(6), 587-593.
302. Singh, B. N., Singh, B. R., Sarma, B. K., Singh, H. B. (2009). Potential chemoprevention of N-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis by polyphenolics from *Acacia nilotica* bark. *Chemico-biological interactions*, 181(1), 20-28.
303. Singh, G., S. Kiran, P., Marimuthu, V., Isidorov, V., Vinogorova. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and various oleoresins of *Elettaria cardamomum* (seeds and pods), *J. Sci. Food Agric.* 88, 280–289.
304. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidationsubstrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
305. Sinha, A., Khadilkar, R. J., Vinay, K. S., Sinha, A. R., Inamdar, M. S. (2013). Conserved regulation of the Jak/STAT pathway by the endosomal protein asrij maintains stem cell potency. *Cell reports*, 4(4), 649-658.
306. Siqueira, H. D., Neto, B. S., Sousa, D. P., Gomes, B. S., da Silva F. V., Cunha, F. V., Wanderley, C. W., Pinheiro, G., Cândido, A. G., Wong, D. V., Ribeiro, R. A., Lima-Júnior, R. C., Oliveira, F. A. (2017).  $\alpha$ -Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory 200 H.K.
307. Siyanna. (2017). Cardamom (Elachi) - True (green) and Black cardamom. *Healthy living from Nature*.
308. Small, D. M., Coombes, J. S., Bennett, N., Johnson, D. W., Gobe, G. C. (2012). Oxidative stress, antioxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology*, 17(4), 311-321.
309. Soehnlein, O., Lindbom, L. (2010). Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol*, 10: 427-439.

310. Song, J. W., Seo, C. S., Kim, T. I., Moon, O. S., Won, Y. S., Son, H. Y., Kwon, H. J. (2016). Protective effects of manassantin A against ethanol-induced gastric injury in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, b15-00642.
311. Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., Leonart, M. E. (2013). Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12(1), 376-390.
312. Souissi, M., Azelmat, J., Chaieb, K., Grenier, D. (2019). Antibacterial and anti-inflammatory activities of cardamom (*Elettaria cardamomum*) extracts: Potential therapeutic benefits for periodontal infections, *Anaerobe*, <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.102089>.
313. Souri, E., Amin, G., Farsam, H., Barazandeh, T. M. (2008). Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts.
314. Speroni, E., Scartezzini, P. (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacology*, 71(1-2): 23-43.
315. Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C.A., Bodirlau, R., Armatu, A. (2011) Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania, *Natural Product Research*, 25:17, 1657-1661.
316. Srinivas, T. L., Lakshmi, S. M., Shama, S. N., Reddy, G. K., Prasanna, K. R. (2013). Medicinal plants as anti-ulcer agents. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4), 91-97.
317. Steinhubl, S. R. (2007). Platelets as mediators of inflammation. *Hematology/oncology clinics of North America*, 21(1), 115-121.
318. Sudhoff, H., Klenke, C., Greiner, J. F., Müller, J., Brotzmann, V., Ebmeyer, J., Kaltschmidt, C. (2015). 1, 8-Cineol reduces mucus-production in a novel human ex vivo model of late rhinosinusitis. *PLoS One*, 10(7), e0133040.
319. Suleyman, H., Albayrak, A., Bilici, M., Cadirci, E. et Halici, Z. (2010). Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation*, 33(4): 224-234.
320. Sultana, S, Ripa, F.A., Hamid, K. (2010). Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan J Biological Sciences*, 13 (7): 340-3.
321. Sumagin, R., Sarelius, I. H. (2010). Intercellular adhesion molecule-1 enrichment near tricellular endothelial junctions is preferentially associated with leukocyte transmigration and signals for reorganization of these junctions to accommodate leukocyte passage. *The Journal of Immunology*, 184(9), 5242-5252.
322. Sumbul, S., Ahmad, M. A., Mohd, A., Mohd, A. (2011). Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(3), 361.
323. Suneetha, W. J., Krishnakantha, T. P. (2005). Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytother. Res*, 19: 437-440.
324. Suneetha, W.J., T.P. Krishnakantha. (2005). Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation, *Phytother. Res*. 19, 437-440.

-T-

325. Tabana, Y. M., Hassan, L. E. A., Ahamed, M. B. K., Dahham, S. S., Iqbal, M. A., Saeed, M. A., Majid, A. M. S. (2016). Scopoletin, an active principle of tree to bacco (*Nicotiana glauca*) inhibits human tumor vascularization in xeno graft models and modulates ERK1, VEGF-A, and FGF-2 in computer model. *Microvascular research*, 107, 17-33.
326. Takeuchi, K., Nishiwaki, K., Okabe, S. (1987). Effect of dopamine on gastric mucosal lesions induced by ethanol in rats – possible involvement of antigastric motor activity mediated with alpha2 adrenoreceptors. *Digestive Diseases Sciences*, 31: 1100–1107.
327. Takeuchi, K., Nobuhara, Y. (1985). Inhibition of gastric motor activity by 16, 16-dimethyl-prostaglandin E2; a probable explanation of cycloprotection. *Digestive Diseases Sciences*, 30: 1181–1188.
328. Takeuchi, O., Sato, S., Horiuchi, T., Hoshino, K., Takeda, K., Dong, Z., Akira, S. (2002). Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *The Journal of Immunology*, 169(1), 10-14.
329. Targownik, L. E., Metge, C. J., Leung, S. (2008). The relative efficacies of gastroprotective strategies in chronic users of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*, 134: 937-44.
330. Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.
331. Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16(1), 193-217.
332. Tricolet, A. (2014). Les sodas à base de cola, des recettes secrètes au service de la médecine, à consommer avec modération [thèse]. Bordeaux : Université de Bordeaux. p233.
333. Turner, M. D., Nedjai, B., Hurst, T., Pennington, D. J. (2014). Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1843: 2563–2582.

**-V-**

334. Vaidya, A., Rathod, M. (2014). An in vitro study of the immunomodulatory effects of *Piper nigrum* (black pepper) and *Elettaria cardamomum* (cardamom) extracts using a murine macrophage cell line. *AJRFANS*, 8(1), 18-27.
335. Valente, J., Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Lopes, M. C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., Cruz, M. T. (2013). Antifungal, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Oenanthe crocata* L. essential oil. *Food Chem. Toxicol*, 62: 349-354.
336. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry cell biology*, 39(1), 44-84.
337. Vasquez-Garzon, V. R., Arellanes-Robledo, J., García-Roman, R., Aparicio-Rautista, D. I., Villatrevino, S. (2009). Inhibition of reactive oxygen species and preneoplastic lesions by quercetin through an antioxidant defense mechanism. *Free Radic Res*, 43(2): 128–137.
338. Vásquez-Garzón, V. R., Arellanes-Robledo, J., Garcia-Roman, R., Aparicio-Rautista, D. I., Villatreviño, S. (2009). Inhibition of reactive oxygen species and pre-neoplastic lesions by quercetin through an antioxidant defense mechanism. *Free radical research*, 43(2), 128-137.

339. Vasudevan, M., Gunnam K.K., Parle M, 2006, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Daucus carota* seeds extract. *Journal of Health Science*. 52(5), 598-606p
340. Verbois, S. (2009). La médecine indienne fondements et pratiques de l'Ayurvêda. Paris. Eyrolles.p415.
341. Verma, D., Yadav, R., Kumar, M. (2015). Effect of seed extract of (*Amomum cardamomum*) on renal function in alloxan induced diabetic rats. *WJ Clin Pharm Micr Toxi*, 1 (1): 52–54.
342. Verma, S.K., Rajeevan, V., Bordia, A., Jain, V., (2010). Greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) – A cardio-adaptogen against physical stress. *J. Herb. Med. Toxicol.* 4(2); 55-58.
343. Von Clauss. A. (1957). *Acta Haematologica*, 17; 237-246.
344. Vutakuri, N., Somara, S. (2018). Natural and herbal medicine for breast cancer using *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *IJHM*, 6, 91-6.

**-W-**

345. Wagner, C., Iking-Konert, C., Hug, F., Stegmaier, S., Heppert, V., Wentzensen, A., Hänsch, G. M. (2006). Cellular inflammatory response to persistent localized *Staphylococcus aureus* infection: phenotypical and functional characterization of polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Clinical Experimental Immunology*, 143(1), 70-77.
346. Wagner, J. G., Roth, R. A. (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacological reviews*, 52(3), 349-374.
347. Weidinger, A., Kozlov, A. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *J Biomolecules*, 5: 472-484.
348. Weill, B., Batteux, F. (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur.
349. Whelton, A., Watson, A.J. *Nitrogen Metabolites and Renal Function*, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, Burtis, C.A. and Ashwood E.R. ed., W.B. Saunders Co., 1994, pp. 1513-1575.
350. Williams, C. M., Galli, S. J. (2000). The diverse potential effect or and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105(5), 847-859.
351. Williams, L. A. D., Connar, A. O., Latore, L. (2008). The in vitro antidenaturation effects induced by natural products and nonsteroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med J*, 57: 327-31.
352. Winarsi, H., Sasongko, N. D., Purwanto, A., & Nuraeni, I. (2014). Effect of cardamom leaves extract as antidiabetic, weightlost and hypocholesterolemic to alloxan-induced Sprague Dawley diabetic rats. *International Food Research Journal*, 21(6), 2253.
353. Woisky, R. G., Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, 37(2), 99-105.
354. Woo, S. K., Roszkowski, P., Waterbury, L. D., Garay, G. L. (1986). Gastric mucosal binding studies with enprostil: a potent anti-ulcer prostaglandin. *Prostaglandins*, 32: 243–257.
355. Woode, E., Gyas, E. B., Danquah, C. A., Ansah, C., Duwiewua, M. (2009). Anti-arthritic effects of *Palisota hirsute* K. Schum Leaf extract in Freund adjuvant induced arthritis in rats. *Int J Pharmacol*, (3):181-90.

356. Woodfin, A., Voisin, M. B., Beyrau, M., Colom, B., Caille, D., Diapouli, F. M., Meda, P. (2011). The junctional adhesion molecule JAM-C regulates polarized transendothelial migration of neutrophils in vivo. *Nature immunology*, 12(8), 761-769.
357. Wróbleswski, F., Ladue, J. S. (1956). Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Exp. Biol. Med*, 91: 569-571.
358. Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., Zhang, Q. (2013). Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 42-51.
359. Wu, J., Ge, S., Liu, H., Wang, S., Chen, S., Wang, J., Zhang, Q. (2014). Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(1), 7-16.

**-Y-**

360. Yadav, A. S., Bhatnagar, D. (2007). Modulatory effect of spice extracts on iron-induced lipid peroxidation in rat liver. *Biofactors*, 29(2, 3), 147-157.
361. Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med*, 15: 212-216.
362. Yang, S. Q., Lin, H. Z., Yin, M., Albrecht, J. H., & Diehl, A. M. (1998). Effects of chronic ethanol consumption on cytokine regulation of liver regeneration. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 275(4), G696-G704.

**-Z-**

363. Zahedi, S. G., Koohdani, F., Qorbani, M., Siassi, F., Keshavarz, A., Nasli-Esfahani, E., Aghasi, M., Khoshamal, H., Sotoudeh, G. (2020). The effects of green cardamom supplementation on blood pressure and endothelium function in type 2 diabetic patients: A study protocol for a randomized controlled clinical trial. *Medicine*, 99: 18, e11005.
364. Zhao, C., Sun, J., Fang, C., Tang, F. (2014). 1, 8-cineol attenuates LPS-induced acute pulmonary inflammation in mice. *Inflammation*, 37: 566-572.
365. Zhou, X., Zhao, A., Goping, G., Hirszel, P. (2000). Gliotoxin-induced cytotoxicity proceeds via apoptosis and is mediated by caspases and reactive oxygen species in LLC-PK1 cells. *Toxicological Sciences*, 54(1), 194-202.
366. Zhou, Y., Li, J., Lu, F., Deng, J., Zhang, J., Fang, P., ... Zhou, S. F. (2015). A study on the hemocompatibility of dendronized chitosan derivatives in red blood cells. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 2635.

## **Annexes**

### **1. Préparation du formol**

1 L de formol (10%) :

- 900 mL d'eau distillée

- 100 mL formol (100%)

Après avoir les mélangé, la solution est conservée à l'abri de la lumière.