

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique**
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département des Sciences Biologiques
Filière : science biologique
Spécialité: physiologie cellulaire et physiopathologie



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Sciences Biologique

Thème :

Etude in vitro de l'activité antiarthritique *in vitro* des extraits des graines de *linum usitatissimum* L.

Soutenu le : ../07/2019

Présenté par

**Kouider Mohammadi Khadidja
Mohammadi Radhia**

Devant le jury composé de

Président : Mr ANSEI S. (MAA. Univ.DBKM)
Encadreur : Mr CHEURFA M. (MCB. Univ.DBKM)
Examinatrice : Mme BENOUAKLII F. (MCB. Univ.DBKM)
Examinatrice: Mme OUAZIB M. (MCB. Univ.DBKM)

Année universitaire : 2018/2019.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Nos vifs remerciements s'adressent à nos parents qui nous ont aidés à la réalisation de ce modeste mémoire.

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre promoteur Mr CHEURFA M, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordée, nous a permis de réaliser ce travail.

Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : Mr ANSEL S (Président), Mme OUAZIB M et Mme BENOUAKLIL F (Examinatrice).

Nos vifs remerciements s'adressent à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chères parentes ; Mon père et ma mère, pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents pendant mes années d'études,

A toute ma famille, mes frère, mes sœurs

Je dédie aussi ce mémoire à tous mes amies (Assia, Laila, Rabiaa, Hajira)

A ma binôme khadidja et toute la famille Kouider Mohammadi.

A tous mes camarades de la promotion

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.



Radhia

Dédicaces

Je dédie ce Modest travaille

A mes chers parents

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance
pour aller toujours de l'avant. Pour son affection, sa
patience, sa compréhension, sa disponibilité et son
soutien.*

*La ou je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers
parents que je le dois, que dieu vous gard.*

*A mes chers frères et sœurs et toutes mes familles et mes
amis (Assia, Laila, Rabiaa, Hajira).*

A ma binôme Radhia et tout la famille Mohammadi.

A tous mes collègues de la promotion

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour
que ce projet soit possible, je vous dis merci.*



Khadidja

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations.

Résumé.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I :	
1. Généralité sur <i>Linum usitatissimum</i> L.....	3
1.1. Taxonomie de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	3
1.2. Description botanique.....	4
1.3. Répartition de <i>Linum usitatissimum</i> L	5
1.4. Composition de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	5
a. Composées chimiques.....	5
a.1. les mucilages.....	6
a.2. L’huile de graine de lin.....	6
b. Composées phénoliques.....	6
b.1. Les polyphénols.....	7
a. flavonoïdes	7
b. Tanins.....	8
c. lignans.....	8
d. les phénylpropanoïdes.....	8

e. les hétérosides cyanogéniques.....	9
1.5. Effet pharmacologique de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	9
a. graines.....	10
b. l'huile de graine de lin	10
1.6. Les activités biologiques	11
a. activité anti diabétique.....	11
b. Effet anti tumoral et anticancéreux.....	12
c. Réduction de la dyslipidémie des maladies cardiovasculaires (MCV).....	12
d. Traitement de syndrome de l'intestin.....	13

Chapitre II

1. Généralité sur la polyarthrite rhumatoïde.....	14
2. Epidémiologie	15
3. Causes de la polyarthrite rhumatoïde.....	15
4 .physiopathologie.....	16
5. Les personnes à risque, facteurs de risque.....	17
a. Personnes à risque.....	17
b. Facteur de risque	17
6. Diagnostique.....	18
7. Evolution de la maladie.....	19
8. Traitement.....	20
a. Traitement symptomatique.....	20
b. Traitement de fond.....	21
c. Traitement chirurgical et local.....	21

➤ Traitement local.....	21
➤ Traitement chirurgical.....	22
9. effet indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	23

Chapitre III :

Partie I : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	25
1.1. Les graines de lin.....	25
1.2. Matériels et produits chimiques.....	25
a. Matériel.....	25
b. Produits et réactif chimiques.....	26
2. Méthode.....	27
2.1. Préparation des extraits.....	27
2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	27
2.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique.....	27
2.1.3. Calcul des rendements des extraits.....	27
2.2. Tests phytochimiques.....	27
2.2.1. Analyses phytochimiques qualitatives.....	27
a. Stéroïdes.....	27
b. terpénoïdes.....	28
c. tanins.....	28
d. saponines.....	28
e. glycosides.....	28
f. alcaloïdes.....	28
g. phénols.....	28
h. flavonoïdes.....	28
2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
2.2.3. Dosage des flavonols.....	29
2.3. Détermination de l'activité antiarthritique <i>in vitro</i>	29
2.3.1. Test de BSA.....	29
2.3.1.1. Préparation de solution de BSA et tamponnés de phosphate.....	29
2.3.1.2. Préparation des extraits avec les solutions.....	29
2.3.1.3. Méthode de BSA.....	30

2.3.2. Test de dénaturation d'albumine d'œuf.....	30
2.3.2.1.Préparation de phosphate buffer saline PH 6,3.....	30
2.3.2.2.Méthode.....	30

Partie II : Résultats et discussions

1. Screening phytochimique.....	31
1.1.Rendement d'extraction	31
1.2.Les analyses qualitatives.....	33
1.3.Dosage des flavonoïdes	35
1.4.Dosage des flavonols.....	36
2. Les analyses des tests de l'activité antiarthritique <i>in vitro</i>	37
2.1.Les analyses de la méthode de BSA	38
2.2.Les analyses de la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf.....	38
3. Discussion.....	40

Conclusion	41
-------------------------	----

Référence bibliographique

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Planche botanique de *Linum usitatissimum* L. (a), Photographie de capsules et de graines de *Linum usitatissimum* L. (b).

Figure 2 : Fleur bleue de *Linum usitatissimum* L.

Figure 03 : Atteinte articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde.

Figure 04 : Mécanismes des déformations des doigts.

Figure 05: le rendement d'extraction des extraits bruts des graines de *Linum usitatissimum* L.

Figure 06: Courbe d'étalonnage de la quercétine (dosage des flavonoïdes).

Figure 07: Les teneurs des flavonoïdes dans les extraits des graines de lin.

Figure 08: Courbe d'étalonnage de la quercétine (dosage des flavonols).

Figure 09 : La teneur en flavonols dans les extraits des graines de lin.

Figure 10 : Les valeurs d'IC50 pour l'activité antiarthritique (Méthode de BSA).

Figure 11: Les valeurs d'IC50 pour l'activité antiarthritique (Méthode de dénaturation d'albumine d'œuf).

Liste des tableaux

Tableau 01 : Acides gras de l'huile de lin.

Tableau 02 : Résultats de l'analyse phytochimique des grains de *Linum usitatissimum* L.

Liste des abréviations

AGPI : acide gras polyinsaturé.

AINS : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

ALA : acide α -linoléique.

ALCL3 : Chlorure d'aluminium.

BSA: Sérum Albumine Bovine

DHA : acide docosahexaénoïque.

ED : l'entérodiol.

EPA : acide eicosapentaénoïque.

EL : entérolactone.

ER : récepteur aux œstrogènes.

E2 : œstrogène 17 β -œstradiol humain.

HDL : lipoprotéine de haute densité.

HLA: Human Leucocyte Antigène.

IC50: Concentration inhibitrice de 50%.

IL : Interleukine.

IRC : insuffisance rénale chronique.

I2 : Iode.

KCL : Potassium chloride.

KH2PO4 : Potassium hydrogène phosphate.

KI : d'iodure de potassium.

LA : acide linoléique.

Mcv : maladie cardiovasculaire.

Na2Hpo4 : tamponnée de phosphate.

PAL : phénylalanine ammonia-lyase.

PBS : Phosphate Buffer Saline.

PR : Polyarthrite Rhumatoïde.

SDG: secoisolaricirésinol diglycoside.

TNF: Tumor necrosis factor.

ULN: Upper Limit of Normal.

Résumé

L'objectif de cette étude est la détermination de l'activité antiarthritique *in vitro* des extraits aqueux et hydro alcoolique des graines de *Linum usitatissimum* L. ainsi le screening phytochimique et le dosage des flavonoïdes et des flavonols de ces extraits.

Les analyses phytochimique des graines de *Linum usitatissimum* L. ont révélé la présence des stérols, tanins, flavonoïdes, phénols et les alcaloïdes dans les extraits aqueux et hydro alcoolique. Tandis que, nous avons remarqués l'absence des glycosides dans l'extrait aqueux et l'absence des saponosides dans l'extrait hydro alcoolique, et l'absence des triterpènes dans les deux extraits. De même le dosage des flavonoïdes donne les teneurs suivants : $6,913 \pm 0,384$ mg EQ/g d'extrait et $4,853 \pm 0,058$ mg EQ/g d'extrait dans l'extrait hydro alcoolique et l'extrait aqueux respectivement. Pour le dosage des flavonols : $4,5305 \pm 0,252$ mg EQ/g pour l'extrait hydro alcoolique et $4,514 \pm 0,033$ pour l'extrait aqueux.

Pour l'activité anti arthritique *in vitro*, l'IC50 de l'extrait hydro alcoolique, aqueux et le diclofénac du premier test (méthode de BSA) sont : $7,62 \pm 3,56$ mg/ml, $19,05 \pm 2,74$ mg/ml, $39,46 \pm 1,97$ mg/ml respectivement.

Pour le deuxième test (dénaturation d'albumine d'œuf) les valeurs d'IC50 sont : $36,86 \pm 2,72$ mg/ml, $72,265 \pm 0,007$ mg/ml, $87,375 \pm 3,81$ mg/ml pour l'extrait hydro alcoolique, l'extrait aqueux et le diclofénac sodique respectivement,

D'après les résultats de la présente étude, on a constaté que les extraits aqueux et hydro alcoolique de *Linum usitatissimum* L. possèdent une grande capacité antiarthritique en comparant par le diclofénac standard.

Enfin, nous pouvons dire que ces graines de lin possèdent une activité antiarthritique vérifiable *in vitro*.

Mots clés : activité antiarthritique, *Linum usitatissimum* L. extrait aqueux, extrait hydro alcoolique.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد لالتهاب المفاصل في المختبر للمستخلصات المائية والكحولية لبذور الكتان. وكذلك الفحص الكيميائي النباتي وتحديد الفلافونويدات والفلافونول لهذه المستخلصات.

كشفت التحاليل الكيميائية النباتية لبذور الكتان. عن وجود السستيرول ، التانينات، الفلافونويد ، الفينول، والالكلويد في المستخلصات المائية والكحولية بينما لاحظنا عدم وجود جليكوسيدات في المستخلص المائي وغياب الصابونويد في المستخلص المائي الكحولي ، وغياب تريটারبان في كلا المستخلصين. وبالمثل، يعطي تحليل الفلافونويد المحتويات التالية: 0.384 ± 6.913 ملغ مكافئ / غ من المستخلص و 0.058 ± 4.853 ملغ مكافئ / غ من المستخلص في المستخلص المائي والكحولي على التوالي. بالنسبة للفلافونول: 0.252 ± 4.5305 ملغ مكافئ / غ للمستخلص المائي الكحولي و 0.033 ± 4.514 ملغ مكافئ / غ من المستخلص للمستخلص المائي . بالنسبة للنشاط المضاد لالتهاب المفاصل في المختبر ، يكون IC_{50} الخاص بالمستخلص المائي والكحولي المائي والديكلوفيناك في التجربة الأولى (طريقة BSA): 7.62 ± 3.56 ملغ/مل ، 2.74 ± 19.05 ملغ / مل ، ± 39.46 و 1.97 ملغ / مل على التوالي.

بالنسبة للاختبار الثاني (تغيير لون ألبومين البيض)، فإن قيم IC_{50} هي: 2.72 ± 36.86 ملغ / مل ، 72.265 ± 0.007 ملغ / مل ، 3.81 ± 87.375 ملغم / مل لاستخراج الكحول المائي ، والمستخلص المائي ديكلوفيناك الصوديوم على التوالي .

وفقا لنتائج الدراسة الحالية، فقد وجد أن المستخلصات المائية والكحولية المائية. بذور الكتان لها قدرة عالية على مكافحة التهاب المفاصل من خلال مقارنة مع ديكلوفيناك القياسي و في الاخير، يمكننا القول أن بذور الكتان لها نشاط مضاد لالتهاب المفاصل الروماتويدي في المختبر **الكلمات المفتاحية :** النشاط المضاد للروماتيزم ، بذور الكتان. المستخلص المائي، المستخلص الكحولي.

Abstract

The objective of this study is the determination of the *in vitro* antiarthritic activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of *Linum usitatissimum* L. seeds thus the phytochemical screening and the determination of the flavonoids and flavonols of these extracts.

Phytochemical analyzes of *Linum usitatissimum* L. seeds revealed the presence of sterols, tannins, flavonoids, phenols and alkaloids in aqueous and hydro alcoholic extracts. While, we noticed the absence of glycosides in the aqueous extract and the absence of saponoids in the hydro alcoholic extract, and the absence of triterpenes in both extracts. Similarly the dosage of flavonoids gives the following contents: 6.913 ± 0.384 mg EQ / g of extract and $(4.853 \pm 0.058$ mg EQ / g of extract in the hydroalcoholic extract and the aqueous extract respectively. For the determination of flavonols: 4.5305 ± 0.252 mg EQ / g for the hydro alcoholic extract and 4.514 ± 0.033 for the aqueous extract.

For the *in vitro* anti-arthritis activity, the IC₅₀ of the hydroalcoholic, aqueous extract and diclofénac of the first test (BSA method) are: 7.62 ± 3.56 mg / ml, 19.05 ± 2.74 mg / ml, 39.46 ± 1.97 mg / ml respectively.

For the second test (denaturation of egg albumin) the IC₅₀ values are: 36.86 ± 2.72 mg / ml, 72.265 ± 0.007 mg / ml, 87.375 ± 3.81 mg / ml for the hydroalcoholic extract, the aqueous extract and diclofénac sodium respectively,

According to the results of the present study, it has been found that the aqueous and hydroalcoholic extracts of *Linum usitatissimum* L. have a high anti-arthritis capacity by comparing with standard diclofénac.

Finally, we can say that these flaxseeds have verifiable antiarthritic activity *in vitro*.

Key words: antiarthritic activity, *Linum usitatissimum* L. aqueous extract, hydro alcoholic extract.

Introduction

Introduction générale

La polyarthrite rhumatoïde est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques (entre 0.4 et 0.8 % de la population générale). C'est aussi le plus grave des rhumatismes notamment par le risque de développer des destructions articulaires irréversibles, des déformations articulaires et un handicap parfois important **(Combe, 2006)**.

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes) et non stéroïdiens (diclofénac). Ces molécules, bien qu'étant efficaces de 15 à 20 % **(Segnou et al., 1992)**.

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé **(OMS) (2003)**, environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne **(Ma et al., 1997)**.

Au cours des dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, puis elles arrivent à un moment où le public est désillusionné devant la médecine moderne. Laquelle en effet n'a pu trouver remède à tous les maux, en plus de se buter à une résistance accrue des pathogènes et à une panoplie d'effets secondaires liés à l'usage des médicaments traditionnels. En effet, la valeur médicinale des plantes est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue un argument de taille pour leur utilisation en médecine. Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle avec une molécule active d'origine végétale et 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour se soigner **(Akoroda, 1981; Segnou et al., (1992) ; Aighewi et al., (1998) ; Cordell ,2001)**.

Linum usitatissimum L. fait partie des plantes les plus employées en médecine traditionnelle en raison des diverses propriétés de ses différentes parties notamment sa graine qui est documentée pour avoir un rôle bénéfique contre l'inflammation. La graine de lin englobe de nombreux composés et éléments biologiquement actifs, y compris les alcaloïdes, l'acide linoléique, l'acide linoléique, les lignanes, les peptides cycliques et les polysaccharides **(Ganorkar et Jain, 2013; Shim et al., 2014)**. Les alcaloïdes sont des

métabolites secondaires des plantes, dotés de propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes, antidépressives et antioxydantes (**Khan, 2007; Khan et al., 2017**).

Le but de la présente étude vise à tester l'efficacité des extraits du *Linum usitatissimum* L. sur la polyarthrite rhumatoïde par la détermination de l'activité anti arthritique *in vitro* et le screening phytochimique des extraits préparés.

Partie

Bibliographique

1. Généralité sur *Linum usitatissimum* L.

Les linacées, sont une famille de plantes dicotylédones, présente plus de 200 espèces de lin, dont la plus répandu et la plus cultivée est *Linum usitatissimum* L. (Bolsheva *et al.*, 2015). Le nom *Linum* vient du mot celtique lin ou "fil", et le nom *usitatissimum* est en latin "Plus utile", ou " lin de tout les usages " (Muir et Neil, 2013).

Elle est cultivée en qualité de plante textile ou oléagineuse, c'est une plante millénaire aux vertus médicinales, la composition des graines de lin est prometteuse pour ces propriétés de guérison, prodiguent un effet laxatif et anti-inflammatoire (Halligudi, 2012 ; Machado *et al.*, 2015), réduisant l'inflammation, il a été apporté que la plante exerce un effet anti oxydant, anti inflammatoire, anti cancéreux, anti thrombotique , anti-allergénique (Bekhit *et al.*, 2017), stimulent l'immunité et favorisent la santé cardiovasculaire (Halligudi, 2012). L'utilisation traditionnelle de graine de lin a pour but la diminution de cholestérol dans le sang (Bekhit *et al.*, 2017). Les graines de lin ont aussi un pouvoir anti obésité et anti diabétique. En usage externe, elles sont utilisées autre fois comme gel pour adoucir les cheveux (Halligudi, 2012), et en usage industriel, dans la production de produit laitiers, savon, vernie et textiles (Ivanova *et al.*, 2011 ; Bekhit *et al.*, 2017).

1.1. Taxonomie de *Linum usitatissimum* L.

C'est une plante qui appartient à la famille des Linaceae et au genre *Linum* (Bloedon et Szapary, 2004).

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Linales

Famille : Linaceae

Genre : *Linum*

Espèce : *Linum usitatissimum* L.

1.2. Description botanique

Le lin est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace, dicotylédone autogame d'une extrême finesse, assez peu profondément enracinée (racine pivotante) car le lin est arraché, il n'est pas fauché (Bernard, 2001).

Cette plante pousse à une hauteur maximale de 60 cm, aux formes élancées et des tiges très fibreuses, feuilles lancéolées ayant trois veines, jusqu'à 4 cm de long et 4 mm de large et ses fleurs bleu vif ont jusqu'à 3 cm de diamètre (Pradhan et al., 2010).

Les capsules de fruits sphériques contiennent deux graines dans chacune des cinq compartiments. La graine est plate et ovale avec une extrémité pointue (figure 01). Elle possède une surface lisse et brillante. Sa couleur varie du brun foncé au jaune. La texture de la graine de lin est croquante et moelleuse possédant un goût agréable de noisette (Carter, 1996).

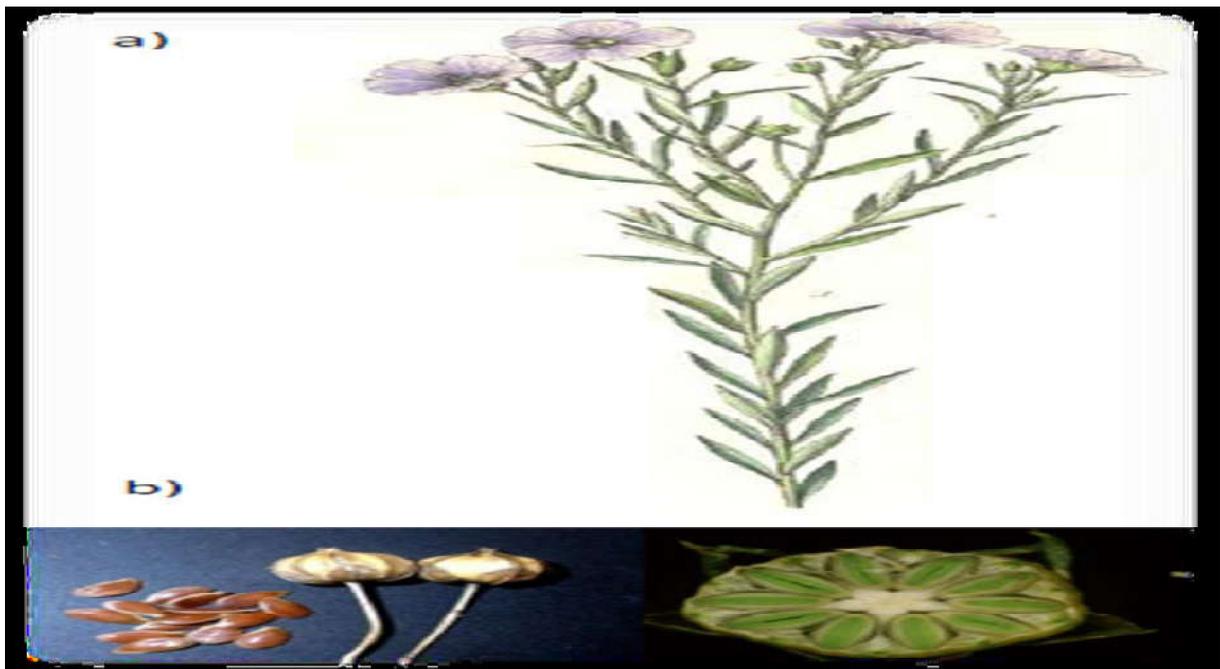


Figure 01 : Planche botanique de *Linum usitatissimum* L. (a), Photographie de capsules et de graines de *Linum usitatissimum* L. (b) (Renouard, 2011).



Figure 02 : Fleur bleue de *Linum usitatissimum* L. (Heli et al., 2007)

1.3. Répartition de *Linum usitatissimum* L.

La plante est originaire du Moyen-Orient, d'Asie de l'Ouest et de la méditerranée (Iserin, 2001). Elle était largement implantée en Egypte et en Europe où le lin était utilisé pour fabriquer du papier et des tissus. Aujourd'hui le lin français est majoritairement cultivé dans le Nord Ouest (du département du Calvados au département du Nord en passant par l'Eure-et-Loir, la Seine-et-Marne et la Marne).

Le lin fibre est majoritairement cultivé en France, en Belgique et aux Pays-Bas, Contrairement au lin fibre, en Europe, la culture du lin graine a été instaurée après la seconde guerre mondiale. Actuellement, l'Inde, le Canada et la Chine sont les principaux producteurs mondiaux de ces variétés (Tribalat, 2016).

1.4. Composition de *Linum usitatissimum* L.

a. Composés chimiques

La graine contient environ 40% de lipides, 30% de fibres alimentaires et 20% de protéines. Elle est riche en lipides, essentiellement des huiles insaturées : l'acide alphalinolenique (ALA) ou oméga-3.

La composition chimique varie selon les variétés et dépend aussi des conditions de l'environnement dans lesquelles la plante est cultivée. Les cotylédons contiennent 75% de

lipides, et 76% des protéines est trouvée dans les semences. L'endosperme contient seulement 23% des lipides et 16% de protéines (**Oomah, 2003**).

a.1. Les mucilages

Les polysaccharides de la graine de lin forment des mucilages, constitués d'une fraction neutre et d'une fraction acide. La fraction neutre se compose d'un arabinoxylane ramifié, composé de D-xylose, de L-arabinose, de D-glucose, et de D-galactose. La fraction ramifiée se compose de L-rhamnose et d'acide D-galacturonique. Grâce aux fibres, l'indice de gonflement de la graine est supérieur à 4, celui de la drogue pulvérisée est supérieur à 4,5 (**Bruneton, 2016**).

a.2. L'huile de graine de lin

L'huile de lin de qualité alimentaire est extraite à froid par pression. Elle se conserve dans de petits flacons opaques, de préférence au froid.

L'huile de lin colorée en jaune est instable, car ses triglycérides sont très riches en acides gras polyinsaturés, ce qui la rend sensible à l'oxydation en présence d'air, cette réaction est accélérée par la chaleur et la lumière (**Hertel, 2013**).

Il est composée de 73% d'acides gras polyinsaturés, de 18% d'acides gras mono insaturés et seulement 9% d'acides gras saturés (**Tableau 01**). Elle est également connue comme étant la source la plus riche en oméga-3 : l'acide alpha linoléique (ALA), qui comprend 55% des acides gras totaux (**Annexe 01**).

Tableau 01: Acides gras de l'huile de lin (**Ganorkar et Jain, 2013**).

Paramètre	pourcentage(%)
Acide Gras Saturé	9
Acide Gras Mono insaturé	18
Acide Linoléique (oméga-6)	16
Acide α -Linoléique (oméga-3)	57

b. Composition phénolique**b.1. Les polyphénols**

On distingue deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les composés phénoliques, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002**).

Les composés phénoliques ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Ces composés peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (**Benguerba, 2008**).

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (**Middleton, 1993**).

b. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les grains) (**Khanbaba et Ree, 2001**).

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en familles en fonction d'activités communes.

Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines (**Mahmoudi, 1990**).

Les tanins sont synthétisés à partir de la phénylalanine par la voie dite de l'acide shikimique (**Swain, 1979**).

c. Les lignanes

Les lignanes, classes très complexes de composés phytochimiques polyphénoliques bioactifs, formés par le couplage de deux résidus d'alcool coniférylique sont largement distribués dans le règne végétal. Il existe deux types généraux de lignanes: a) ceux trouvés dans les semences de plantes, comme le sécoisolaricirésinol diglucoside (SDG), l'isolaricirésinol, le matairésinole, le laricirésinol et b) ceux trouvés chez les animaux et les humains appelés lignanes de mammifères. Les lignanes phénoliques se trouvent dans la plupart des plantes riches en fibres. La graine de lin est en particulier la source de lignanes la plus riche connue (9-30 mg par g), avec une production de lignanes 75 fois supérieure à celle des autres graines oléagineuses, céréales, légumineuses et fruits et légumes. La principale source alimentaire de lignanes présente dans les graines de lin est le SDG, qui se présente sous la forme d'un composant d'un complexe lié à un ester linéaire. Chimiquement, le C₆-OH du glucose du SDG est estérifié à l'acide carboxylique de l'acide hydroxyméthylglutaric. L'accumulation de SDG est cohérente avec l'expression du gène LuPLR et la synthèse de l'enzyme PLR au cours du développement d'une graine mature. La compréhension du mécanisme d'action de ces composés SDG est cruciale pour leur exploitation éventuelle en tant que complément nutraceutique dans le système biologique (**Imran et al., 2015**).

d. Les phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes constituent le deuxième plus grand groupe de métabolites représentés dans le règne végétal (Korkina, 2007). Ce sont des métabolites secondaires dérivés de la phénylalanine. La voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes est complexe car constituée de nombreuses voies métaboliques se recoupant entre elles. La première des enzymes intervenant dans cette voie est la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) permettant de transformer la phénylalanine en p-coumarate. Cette molécule est un précurseur commun à la production de différentes classes de composés tels que les flavonoïdes, les coumarines, les stilbènes, les lignanes et les lignines.

e. Les hétérosides cyanogénétiques

Les hétérosides cyanogénétiques retrouvés dans la graine de lin sont la linustatine, environ 207 mg/100g de graine de lin, la néolinustatine, environ 174 mg /100 g et la linamaroside (Parket *al.*, 2005).

La dose toxique est atteinte par l'ingestion d'une quantité très importante de graine de lin. L'organisme humain détoxifie rapidement par action enzymatique les cyanures en thiocyanates, qui seront éliminés dans les urines (Bruneton, 2016).

Dans le cadre d'une ingestion de graine de lin, le conseil supérieur d'hygiène publique de France a estimé que ces composés ne présentaient pas de danger s'ils étaient incorporés à hauteur de 5 pourcent de l'alimentation totale.

1.5. Effet pharmacologique de *Linum usitatissimum* L.

a) Graines

Les mucilages sont des polysaccharides qui possèdent une très importante capacité de gonflement en milieu humide ; c'est à eux que la graine de lin doit ses capacités laxatives et émollientes citées dans de nombreux traités.

Notamment en cas de constipation chronique sous forme concassée, ses graines absorbent les liquides intestinaux (Blumenthal *et al.*, 2000). Les mucilages favorisent le drainage du colon et contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation. Aussi grâce aux mucilages, elles prodiguent un effet calmant et anti-inflammatoire réduisant l'irritation du colon dans des affections comme les colites, l'inflammation intestinale et les hémorroïdes (Iserin, 2001 ; Halligudi, 2012).

Il est sans doute pertinent de souligner ses propriétés, à une époque où la mode consiste parfois à utiliser les graines de lin pour bénéficier d'allégations nutritionnelles de type riche en oméga-3. Même si la digestibilité de ces graines crues est extrêmement faible, le lin contient également des lignanes qui appartiennent à la famille des phytoestrogènes ; ces lignanes sont douées des propriétés anti oxydantes (**Prasad, 1997 ; Prasad, 2000 ; Chen et al., 2002 ; Thompson, 2003 ; Zanwar et al., 2010**), elles offrent une protection face à l'apparition et au développement de certains cancers hormono-dépendants. Par ailleurs, le plus étudié des lignanes, la podophyllotoxine, et ses dérivés hémisynthétiques, dont l'étoposide, ont des propriétés cytotoxiques utilisées en chimiothérapie anti-cancéreuse. Leur mécanisme d'action bien connu passe par une interaction avec la topo-isomérase II (**Lamblin et al., 2008**).

L'ingestion de la graine comme prévention du cancer du sein, utérin, de la prostate et éventuellement une protection contre une récurrence (**Boon et al., 2007 ; Heli et al., 2007 ; Halligudi, 2012**).

La graine est également considérée comme efficace en cas de troubles respiratoires et urinaires et il faut l'ouvrir avant de l'avalier (**Iserin, 2001**). Elle calme les douleurs pulmonaires et à un moindre degré l'irritation de l'appareil urinaire. Elle s'avère efficace contre la toux chronique ou aiguë, la bronchite, l'emphysème et la cystite chronique, également comme une prévention utile contre l'angine de poitrine, le rhume et l'artériosclérose. Ainsi pour réduire les taux de glycémie postprandiale et du cholestérol (**Kimet, 2005 ; Vijaimohan et al., 2006 ; Halligudi, 2012**).

En usage externe, un cataplasme de graines concassées ou de farine de lin appliquée sur les furoncles et les anthrax, calme les ulcérations et draine le pus (**Singh et Majumdar, 1997 ; Iserin, 2001**). Dans le temps, les femmes bouillaient les graines de lin dans l'eau et utilisaient le lin sous forme de gel pour adoucir leurs cheveux (**Halligudi, 2012**). Enfin, il est nécessaire de ne pas utiliser les graines de lin immatures car elles peuvent être toxiques (**Iserin, 2001**). La graine de lin contient également des facteurs antinutritionnels destinés à les défendre des oiseaux ; ces facteurs appartiennent à la famille des cyanogènes (**Mazza et Oomah, 1995 ; Hermier et al., 2004**).

b) L'huile de graines de lin

Elle est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne

d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire. L'huile de lin convient aussi pour le visage, le corps (massages et soins corporels). En usage externe l'huile obtenue à partir des graines est reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes. Elle protège et adoucit la peau irritée (**Halligudi, 2012**).

Les acides gras essentiels (ALA et LA) présents dans les graines de lin contribuent à un pelage lustré, aident à prévenir la peau sèche et les pellicules et aussi aident à réduire les problèmes digestifs et de peau chez les animaux (**Jhalla et Hall, 2010**).

L'huile de lin ne constitue pas une source intéressante d'apport en oméga-3, même si les huiles sont considérées comme anti-oxydées et conservées dans les emballages opaques à l'abri de la lumière ; elles seraient rapidement beta-oxydées une fois ingérées (**Nelson et Chamberlain, 1995**). Il faut noter que la même quantité d'huile de lin issue soit de graines extrudées (cuisson modérée et action mécanique reproduisant les modes de préparations traditionnelles), soit du mélange tourteau et huile procure des effets contraires (hypercholestérolémiant pour le tourteau et l'huile hypocholestérolémiant pour la graine extrudée).

1.6. Les activités biologique

a. Activité antidiabétique

Les fibres alimentaires, les lignanes et les acides gras oméga-3 présents dans les graines de lin ont un effet protecteur contre le risque de diabète. Il a été démontré que le SDG de lignine de lin inhibait l'expression du gène de la phosphoenolpyruvate carboxykinase, qui code pour une enzyme clé responsable de la synthèse du glucose dans le foie. Une supplémentation de l'alimentation des diabétiques de type 2 avec 10 g de poudre de graines de lin pendant une période d'un mois a réduit la glycémie à jeun de 19,7% et l'hémoglobine glyquée de 15,6%. Cela pourrait être dû à une teneur plus faible en glucides glycémiques et à une teneur plus élevée en fibres alimentaires de graines de lin. Plusieurs petites études utilisant une approche de tolérance au glucose à jeun ont montré une réduction des taux de glucose sanguin postprandiaux chez les femmes consommant de la graine de lin. Une autre étude montre que lors de la supplémentation en acide linoléique conjugué (0,5%) et en huile de lin (0,5%) dans le régime alimentaire de rats sensibles à l'obésité et aux tumeurs diabétiques, une réduction de 20% de la glycémie était observée. Un groupe de chercheurs aussi ont étudié les effets de la supplémentation en poudre de graines de lin sur des femmes diabétiques. Les patients ont reçu 15 et 20 g / jour de poudre de graines de lin pendant une

période de 2 mois. De même, l'ingestion de 10 g / jour d'huile de lin n'a eu aucun effet sur les taux de glucose sérique dans le sang et l'insuline à jeun. L'utilisation de la graine de lin pour le contrôle glycémique peut également être associée à la diminution de risque de l'obésité et de dyslipidémie, facteurs de risque de développement du diabète et de résistance à l'insuline (Sharma *et al.*, 2014).

b. Effets anti-tumoral et anticancéreux

L'intérêt pour la recherche sur le lien entre l'ingestion de graines de lin et le risque de cancer est apparu lorsque des preuves épidémiologiques ont suggéré une relation bénéfique. Des recherches en laboratoire ont montré que la graine de lin inhibe la formation de tumeurs du côlon, du sein, de la peau et du poumon et réduit également la formation de cellules de vaisseaux sanguins chez les rats femelles, suggérant ainsi un effet protecteur contre le cancer du sein, du côlon et de l'ovaire. Des niveaux plus élevés d'insuline et de facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-1) augmentent le risque de cancer en stimulant la prolifération cellulaire et en augmentant la survie des cellules endommagées par l'ADN par le biais de mécanismes anti-apoptotiques. L'insuline sanguine a également été associée à un risque accru de cancers du pancréas et du cancer colorectal. Diverses études suggèrent que les graines de lin ajoutées au régime pourraient réduire les niveaux circulants d'insuline et d'IGF-1. Cependant, l'incorporation de 7,5 g de graines de lin par jour pendant 6 semaines et de 15 g de graines de lin pendant 6 semaines supplémentaires dans le régime alimentaire de femmes ménopausées en bonne santé avait peu d'effet à court terme sur les taux sanguins d'IGF-1. La graine de lin a un effet réducteur de tumeur au sein, probablement en raison de sa teneur élevée en lignane SDG. L'entérodol (ED) et l'entérolactone (EL) sont produits à partir de lignanes de lin dans le corps d'un animal. Du fait de leur structure similaire à l'œstrogène-17 β -œstradiol humain (E2), ils ont une affinité de liaison avec les récepteurs aux œstrogènes (ER). Il a été démontré que la graine de lin et son composant SDG atténuent la tumorigenèse par une réduction de la prolifération cellulaire et de l'angiogenèse, ainsi que par une augmentation de l'apoptose via la modulation des voies de signalisation des récepteurs aux œstrogènes et des facteurs de croissance. L'effet protecteur potentiel des lignanes de lin sur le cancer du sein pourrait être dû à leur faible activité œstrogénique et à leurs propriétés antioxydantes. Il a également été démontré que l'huile de lin avec sa teneur en ALA exceptionnellement élevée réduisait de 33% la croissance des tumeurs mammaires positives aux récepteurs d'œstrogènes humains (MCF-7) par rapport au témoin (Sharma *et al.*, 2014).

c. Réduction de la dyslipidémie et des maladies cardiovasculaires (MCV)

Des études sur la graine de lin et ses composants bioactifs ont été menées chez des femmes ménopausées, montrant des effets positifs, notamment des effets hypocholestérolémiants et antidiabétiques de la supplémentation. Les effets de la graine de lin sur les facteurs de risque de MCV (maladie cardiovasculaire) dans les études menées sur des animaux sont similaires à ceux menés chez l'homme. Les rats, les souris et les lapins ont présenté des réponses positives aux paramètres biochimiques, indiquant l'activité hypocholestérolémiante de la graine de lin, généralement liée à la teneur plus élevée en matières fécales. Cependant, les effets sur la fraction de lipoprotéines de haute densité (HDL) restent controversés. En outre, il a été signalé que des niveaux réduits de fraction de HDL dans le sérum humain après avoir consommé de l'huile de lin dans un régime pendant 28 jours. De même, les chercheurs ont également signalé que la fraction de HDL n'avait pas ou peu changé chez différents animaux. Les graines de lin alimentaires peuvent également offrir une protection contre les cardiopathies ischémiques en améliorant les réponses de relaxation vasculaire et en inhibant l'incidence de la fibrillation ventriculaire (Sharma et al., 2014).

d. Traitement naturel du syndrome de l'intestin

Dans les sociétés occidentales, la constipation reste un problème de santé majeur, principalement dû à une alimentation raffinée. Il est bien connu qu'une quantité suffisante de fibres alimentaires est la pierre angulaire de la prévention et du traitement de la constipation. Un groupe de chercheurs ont étudié l'influence de la consommation de 50 g de graines de lin par jour pendant 4 semaines sur plusieurs indices de nutrition chez 10 jeunes adultes en bonne santé. Divers articles et revues ont décrit de manière détaillée les effets de la fibre de lin, notamment la mobilité gastro-intestinale, la constipation, la tolérance au glucose, l'effet hypocholestérolémiant et la fermentation (Sharma et al., 2014).

1. Généralité sur la polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde est la plus fréquente des diverses formes de rhumatismes inflammatoire chroniques regroupées sous l'appellation arthrites chroniques. Elle fait partie de ce que l'on appelle les maladies auto-immunes, maladies où l'immunité agresse le propre corps de la personne atteinte. C'est aussi une maladie de système n'atteignant pas toujours uniquement les articulations, mais aussi parfois d'autres zones du corps.

Elle entraîne une inflammation de plusieurs articulations à la fois, qui gonflent, deviennent douloureuses et sont limitées dans leur amplitude de mouvement. Sans traitement, ces articulations ont tendance se déformer progressivement au fil du temps. La polyarthrite rhumatoïde touche le plus souvent les mains, les poignets, les genoux et les petites articulations des pieds. Avec le temps, et parfois dès le début de la maladie, les épaules, les coudes, la nuque, les mâchoires, les hanches et les chevilles peuvent également être touchés (Cleland et James, 2000).

Polyarthrite rhumatoïde

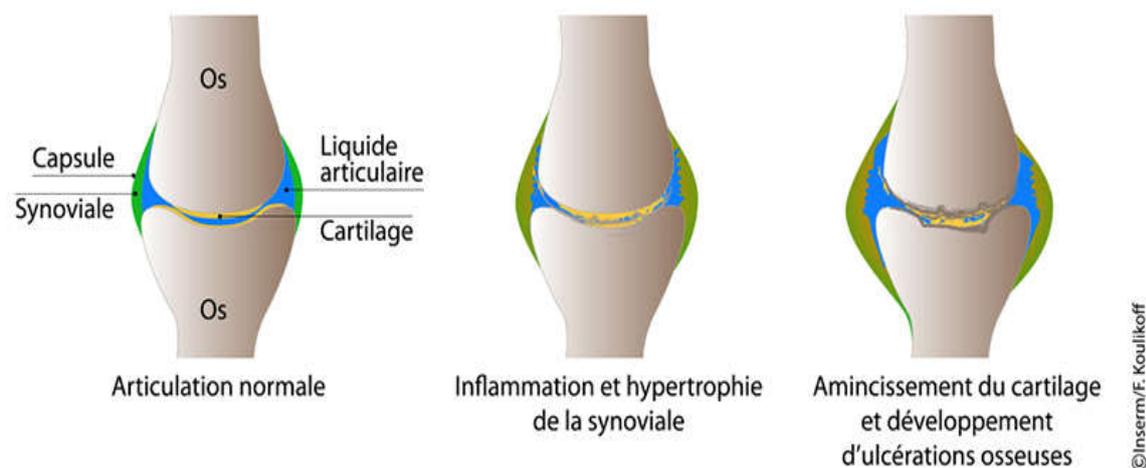


Figure 03 : Atteinte articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde.

Source : INSERM.

2. Epidémiologie

La polyarthrite rhumatoïde est la cause la plus fréquente de rhumatisme inflammatoire chronique en France et en Europe.

L'incidence annuelle de la polyarthrite rhumatoïde est estimée entre 25 et 50 cas pour 100000 habitants dans la population européenne et nord-américaine et la prévalence à 0,5 à 1,0% (<http://elsevier.com>).

En France les données sont peu nombreuses mais la prévalence a été estimée à 0,31% avec une répartition majoritairement féminine avec 80% des cas environ (prévalence de 0,51% pour les femmes et 0,09% pour les hommes) (**Minichiello et al., 2017 ; Polton, 2016**). Le sex ratio tend à s'équilibrer après 70 ans.

La polyarthrite rhumatoïde est plus fréquente entre 40 et 60 ans : le pic de fréquence se situe autour de la quarantaine, cependant la maladie peut débuter très précocement dès l'adolescence ou se manifester tardivement après soixante-dix ans (**Dieppe, 2001 ; Ghozlan et al., 2012**).

3. Causes de la polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune : le système immunitaire s'attaque à la membrane synoviale des articulations, notamment en produisant des anticorps appelés «auto-anticorps». La membrane synoviale tapisse l'intérieur de nos articulations et elle a pour rôle de fabriquer un liquide, le liquide synovial permettant la lubrification des mouvements. Quand elle est agressée par l'auto immunité, cette membrane s'épaissit, fabrique trop de liquide qui contient des enzymes inflammatoires anormales, susceptibles d'agresser toute l'articulation, les cartilages, les tendons et l'os.

La maladie se déclenche probablement à cause d'un ensemble de facteurs génétiques, biologiques et environnementaux, en particulier le tabagisme.

Ces dernières années, les progrès effectués en génétique ont permis de détecter plus de 30 facteurs génétiques impliqués dans l'apparition de la polyarthrite (**Cornélis, 2010**). Seule l'implication de certains gènes, comme le HLA-DRB1 et le PTPN22, est cependant

clairement démontrée. La polyarthrite n'est toutefois pas une maladie « purement » génétique. On estime que le poids de la génétique dans le déclenchement de la polyarthrite est inférieur à 30% (Combe, 2007).

4. Physiopathologie

La PR est une affection dont l'origine précise n'est pas connue. Cependant on la classe la PR comme une maladie auto-immune à cause de la présence de signes biologiques d'auto-réactivité. Plusieurs facteurs favorisants ont été identifiés :

- Hormonaux : nette prédominance féminine, contrôle durant la grossesse ;
- Génétiques : liaison incomplète avec les gènes HLA DR 4 mais uniquement pour certains sous-types de DR 4 (DRB1 0401, 0404) et DR 1 (DRB1 0101), présents respectivement dans 60 et 38% des cas) ;
- Contribution positive ou négative du polymorphisme des gènes des cytokines. Il faut noter que la concordance pour la PR chez les sœurs jumelles homozygotes n'est que de 17,5% ;
- Environnementaux : on suspecte, sans pouvoir l'affirmer, l'intervention d'antigènes infectieux bactériens (protéines de choc thermique de mycobactéries) ou viraux (rétrovirus exogènes voire endogènes, parvovirus) (Arnett et al., 1988).

La compréhension des conséquences de l'inflammation de la membrane synoviale est plus précise. Elle a conduit à plusieurs applications thérapeutiques en cours d'extension. L'inflammation de la synoviale réalise une synovite chronique caractérisée par l'interaction entre des cellules mononuclées issues du sang qui après migration entrent en contact avec les cellules mésenchymateuses articulaires (fibroblastes/ synoviocytes) et son à l'origine de manifestations inflammatoires (Arnett et al., 1988).

La formation de la synovite de PR réalise un pannus dont la chronicité entraîne la destruction de los et du cartilage. Précocement on note une hyperplasie de la membrane synoviale par prolifération des cellules bourdantes c'est-à-dire proches de la cavité articulaire, une néo vascularisation intense favorisent la migration des lymphocytes surtout CD 4 de phénotype mémoire dont l'accumulation forme des nodules lymphoïdes péri vasculaires.

Ces lymphocytes expriment des marqueurs d'activation et contribuent à la sécrétion de cytokines de types TH1 (interféron g, Interleukine 17). Secondairement, ces lymphocytes,

directement et par l'intermédiaire des leurs facteurs solubles qu'ils produisent, activent les cellules résidentes, entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine 4 et l'interleukine 10 (Arnett *et al.*, 1988).

Cette activation cellulaire locale entraîne une accumulation cellulaire qui résulte d'une augmentation de la prolifération non compensée par l'élimination par mort cellulaire programmée ou apoptose (Arnett *et al.*, 1988).

L'inflammation locale prolongée est susceptible d'induire des modifications moléculaires assez superposables à celles qui sont mises en évidence au niveau des cellules tumorales. La présence d'activation, voire de mutations de certaines oncogènes (p53, p21) permet de rendre compte de la difficulté d'un contrôle de ces anomalies à un stade tardif. Cette approche pousse à un contrôle thérapeutique le plus précoce possible non seulement des éléments inflammatoires mais plus encore des capacités locales de prolifération cellulaire (Arnett *et al.*, 1988).

5. Les personnes à risque, les facteurs de risque

a) Personnes à risque

- Les femmes. Elles sont de 2 à 3 fois plus atteintes que les hommes ;
- Les personnes entre 40 et 60 ans, âge de survenue le plus fréquent ;
- Les personnes dont un membre de la famille souffre de polyarthrite rhumatoïde, car certain facteurs génétiques contribuent à la survenue de la maladie. Avoir un parent atteint multiplie par deux le risque de polyarthrite rhumatoïde.

b) Facteur de risque

- Les fumeurs risquent davantage (Sugiyama *et al.*, 2010) de souffrir un jour de polyarthrite rhumatoïde, avec des symptômes plus grave que la moyenne.
- Les personnes chez qui, lors d'une prise de sang, on découvre un facteur rhumatoïde positif ou des peptides citrullinés positif présentent un risque plus élevé d'avoir une polyarthrite rhumatoïde.
- Les femmes ayant eu de nombreuses grossesses ou ayant pris longtemps une contraception hormonales voient leur risque de polyarthrite rhumatoïde diminuer.

6. Diagnostic

Les critères de diagnostic de la PR de 2010 de l'American Collège of Rheumatology et la Ligue européenne contre le rhumatisme déclare que la PR définie est basée sur la présence de synovite dans au moins une articulation, l'absence de diagnostic alternatif est meilleure expliquant la synovite et l'obtention d'un score total d'au moins six (sur dix) de la les scores individuels dans quatre domaines (**Aletaha et al., 2010**). Le score le plus élevé obtenu dans un domaine donné est utilisé pour ce calcul. Ces domaines et leurs valeurs sont les suivants:

1. Nombre et site des articulations touchées

- a. 2 à 10 grosses articulations (parmi les épaules, les coudes, les hanches, les genoux et les chevilles)= 1 point
- b. 1 à 3 petites articulations (parmi les articulations métacarpophalangiennes, proximale articulations interphalangiennes, deuxième à cinquième articulations métatarsophalangiennes, pouce interphalangien et poignets) = 2 points
- c. 4 à 10 petites articulations = 3 points
- d. Plus de 10 articulations (dont au moins une petite articulation) = 5 points.

2. Anomalie sérologique (facteur rhumatoïde ou peptide / protéine anti-citrullinés anticorps)

- a. Faible positif (au-dessus de la limite supérieure de la normale (LSN)) = 2 points
- b. Fortement positif (supérieur à 3 fois la LSN) = 3 points

3. Réponse en phase aiguë élevée (vitesse de sédimentation des érythrocytes ou protéine C-réactive) (au dessus de la LSN = 1 point)

4. Durée des symptômes (au moins six semaines = 1 point).

Outre les critères ci-dessus, qui conviennent le mieux aux patients présentant un nouveau patient maladie, les personnes suivantes sont classées comme atteintes de la PR:

- Les personnes atteintes d'une maladie érosive typique de la PR avec des antécédents compatibles avec respect des critères ci-dessus
- Les personnes atteintes d'une maladie de longue date, y compris celles dont la maladie est inactive (avec ou sans traitement) qui ont précédemment rempli les critères ci-dessus fondés sur données disponibles rétrospectivement (**Delaurier, 2011**).

7. Evolution de la maladie

La PR est une maladie très hétérogène, dont la gravité est variable d'un malade à l'autre. Il est important de noter pour la discussion du traitement que la majorité de la destruction articulaire survient au cours des deux premières années de la maladie. Le suivi se fait :

- sur les données cliniques : à partir des indices d'activité de la maladie, du retentissement fonctionnel (Lee) ; de la durée de la raideur matinale et du nombre d'articulations actives
- sur les données biologiques : notamment le syndrome inflammatoire ;
- sur les données radiographiques : en mesurant la vitesse de dégradation articulaire à l'aide des et divers indices radiologiques (Larsen)
- sur la réponse aux traitements.

Les facteurs de mauvais pronostic sont : l'importance du syndrome inflammatoire, la présence de taux élevés de facteur rhumatoïde, un début polyarticulaire de la maladie, la présence d'érosions radiologiques précoces, la présence des gènes HLA DR 4, des érosions radiologiques précoces, une mauvaise réponse au premier traitement de fond.

La PR arrête souvent (60 %) son évolution pendant la grossesse et mais reprend après l'accouchement (**Arnett et al., 1988**).

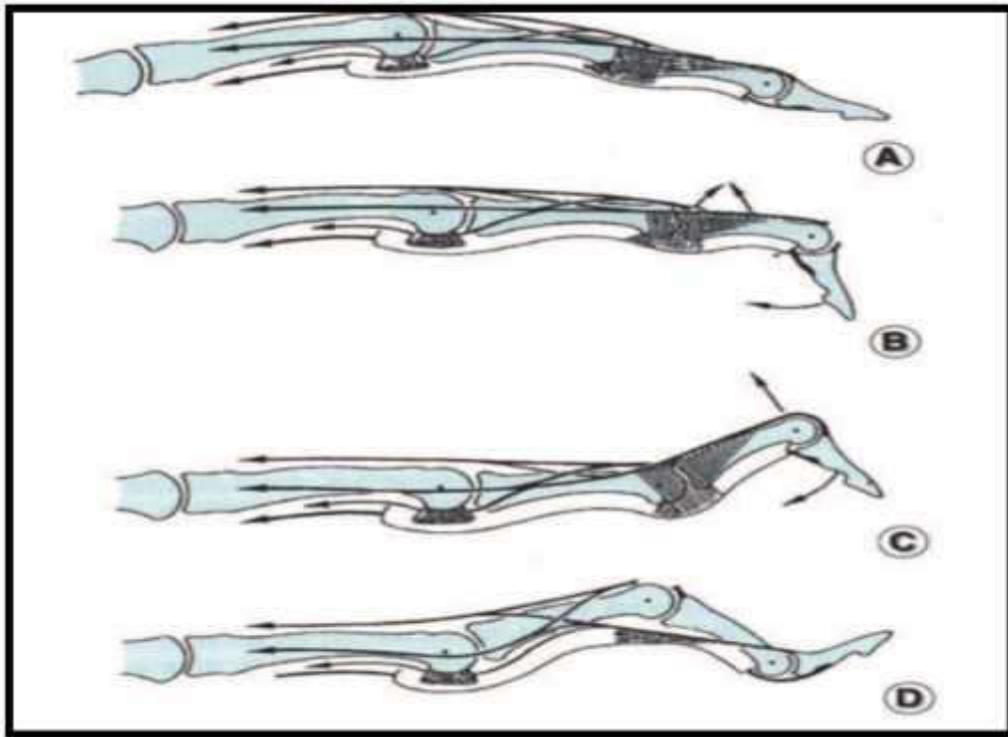


Figure 04 : Mécanismes des déformations des doigts : **A** ; balance tendineuse normale : **B** ; Doigt « en maillet » : **C** ; doigt « en col de cygne » : **D** ; déformation « en boutonnière ».

(Sany, 2003).

8. Traitement

De nombreux progrès ont été réalisés au cours des dernières années pour le soulagement et le contrôle de la polyarthrite rhumatoïde. Les recherches ont démontré qu'un traitement avec des médicaments antirhumatismaux au cours des 3 à 6 premiers mois de la maladie augmente les chances de rémission prolongée. Ce sont souvent les mêmes traitements qui permettent de contrôler la maladie et de prévenir sa progression. Par conséquent, ces médicaments constituent un élément capital du traitement.

Les objectifs du traitement sont les suivants :

- Soulager les symptômes
- Tenter d'induire et de maintenir une rémission de la maladie ;
- Restaurer ou maintenir le bon fonctionnement des articulations ;
- Prévenir l'invalidité et les dommages de la maladie sur d'autres organes.

a. Traitements symptomatiques

Ils ont pour but de soulager les douleurs mais n'influence peu ou pas l'évolution. On utilise :

- Des antalgiques purs dont le paracétamol et ses dérivés ;
- Des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), à des doses souvent élevées, qui exposent, à des degrés divers, aux risques digestifs d'intolérance ; il faut noter l'intérêt dans ce cadre des inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase de type 2 (seule le Celebrex® a l'AMM pour la polyarthrite en 2002) note MCB.
- La corticothérapie avec des corticoïdes à durée de vie courte (Cortancyl®, Solupred®), en une prise matinale. Il faut utiliser une posologie fiable, de l'ordre de 10 à 15 mg par jour, et la réduire dès que possible ; la réduction doit être d'autant plus lente d'autant que le traitement est ancien.
- Plus rarement, on peut prescrire une corticothérapie 5 intraveineuse sous forme de bolus (Solumédrol®), surtout au début dans l'attente de l'efficacité d'un traitement de fond (Arnett et al., 1988)

b. Traitement de fond

Les traitements de fond sont efficaces sur les signes cliniques et biologiques de la maladie et permettent de stopper la progression radiologique. Leur but essentielle est de réduire la fréquence, la durée, l'intensité des poussées et de réduire globalement l'activité du rhumatisme au mieux jusqu'à l'obtention d'une rémission clinique. L'efficacité d'un traitement et surtout son impact favorable sur la progression radiologique justifie un recours précoce à cette prescription. Le traitement de fond sera prescrit pendant toute la période où il apparaît efficace et bien toléré. Il faut noter que les traitements de fond ne sont pleinement efficaces qu'après plusieurs semaines (Coffer, 2010).

c. Traitement chirurgicale et locale

➤ Traitement local

- **Injection locales intra-articulaires et périarticulaires des corticoïdes**

En cas d'inflammation persistante mono ou oligoarticulaire notamment ténosynoviale, utiliser dans tous les cas un corticoïde retard. En cas d'injection intra-articulaire, notamment

pour les grosses articulations, privilégier l'hexacétonide de triamcinolone (**Breedveld et Kalden, 2004**).

- **Injection intra-articulaire d'un isotope sous contrôle scopique**

Les synoviorthèses consistent en l'injection intra-articulaire d'un isotope sous contrôle scopique. Elles doivent être systématiquement réalisées en association à un corticoïde pour limiter le risque inflammatoire immédiat (**Breedveld et Kalden, 2004**).

- **Traitement chirurgicale**

La chirurgie fait parti intégrale du traitement de la PR surtout dans les formes actives et évoluées (**Sany et libbey, 2003**). C'est lors de constitutions médico-chirurgicales réunissant les rhumatologues et les chirurgiens orthopédistes que sont discutées avec la malade les indications chirurgicales. C'est une chirurgie fonctionnelle qui vise à rétablir une fonction défaillante et à apporter l'indolence. Les interventions chirurgicales peuvent être regroupées afin de diminuer la durée des séjours en milieu hospitalisé et en centre de rééducation. La chirurgie de la PR obéit à certaines règles : il vaut mieux donner la priorité aux membres inférieurs, commencer les gestes chirurgicaux pour les membres inférieurs de l'extrémité vers la racine et, pour les membres supérieurs au contraire, de la racine vers l'extrémité. Il faut commencer par une intervention dite « gagnante », c'est-à-dire donnant un résultat favorable chez un patient qui risque d'être opéré plusieurs reprises. Les synovectomies, les arthroplasties prothétiques voire les arthrodèses sont les interventions les plus utilisées.

La chirurgie des membres supérieurs comporte surtout les ténosynovectomie en cas de ténosynovite chronique risquant d'induire ultérieurement une rupture tendineuse, des synovectomies du poignet avec résection de la tête cubitale, ce qui améliore la pro supination, une synovectomie intra-articulaire et, éventuellement, un geste de stabilisation à type d'arthrodèse partielle radio-lunaire. Les articulations de l'épaule et du coude bénéficient depuis plusieurs années de l'apport de la chirurgie prothétique. Eventuellement on peut proposer des interventions de synovectomie métacarpo-phalangienne ou inter-phalangienne proximale pour éviter les déformations en col de cygne ou en boutonnière. En cas de lésions articulaires très évoluées, on peut envisager la mise en place d'implants de Swanson sur les métacarpophalangiennes. Le résultat est bon sur la douleur et l'esthétique parfois un peu moins bon sur la fonction et est conditionné par la bonne qualité des chaînes digitale. Des arthrodèses donnent de bons résultats sur la fonction globale de la main parce qu'elles sont

réalisées sur le pouce ou sur le poignet. L'arthrodèse de la métacarpo-phalangienne du pouce est une intervention simple qui donne d'excellents résultats en améliorant les pinces pollicidigitales. Plus rarement, des arthrodèses des inters phalangiens proximaux des doigts peuvent être réalisées (**Combe et al., 1989**).

La chirurgie des membres inférieurs est dominée par les arthroplasties des hanches et des genoux et par le réalignement métatarso-phalangien. La chirurgie de l'arrière pied comporte surtout des arthrodèses Talo-naviculaires ou sous-taliennes. La cheville peut être traitée en fonction de l'activité du patient et de la qualité de l'arrière pied soit par arthroplasties soit par arthrodèse.

Des synovectomies orthoscopiques peuvent être réalisées au genou en cas de synovite chronique persistante après échecs des synoviorthèses et en cas de lésions articulaires minimales (**Combe et al., 1989**).

La chirurgie du rachis cervicale concerne surtout les luxations instables C1 C2 qu'il faut stabiliser par arthrodèse avec laçage occipito-C2 ou plaque.

9. Effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens présentent, à des degrés divers, les mêmes risques d'effet indésirable, quelle que soit la voie d'administration (**Baumloh, 2000**) :

- Troubles gastroduodénaux :
 - Nausées, diarrhée, douleurs épigastriques.
 - Ulcère gastroduodéal.
 - Hémorragie digestive.
- Réaction d'hypersensibilité
 - Cutanées : rash, urticaire, aggravation d'urticaire chronique, prurit.
 - Générale : anaphylaxie (notamment chez les sujets présentant une allergie à l'aspirine), œdème de Quincke, vascularité (**Baumloh, 2000**).
- Troubles du SNC : Céphalée, insomnie, vertiges, malaise.

- Troubles cutanés : rares cas de photosensibilisation, érythème polymorphe, dermatoses bulleuses, syndrome de Stevens Johnson, syndrome de Lyell.
- Complications hématologiques : neutropénie, thrombopénie et plus rarement agranulocytose aigue, poncytopéne.
- Troubles rénaux : insuffisance rénale fonctionnelle, néphrites interstitielles aigues.
- Réaction hépatiques : une simple élévation transaminases peut être constatée (**Talbert, 1998**).

Partie expérimentale

Partie I : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal de *Linum usitatissimum* L.

1.1. Les graines de lin

Dans le but d'étudier le rendement d'extraction, le screening phytochimique, dosage des flavonoïdes et des flavonols et l'activité anti arthritique de *Linum usitatissimum* L. nous avons acheté les graines de *Linum usitatissimum* L. chez un herboriste à khemis Miliana (Ain defla).

Les graines ont été lavées, séchées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisées afin de récupérer la poudre la plus fine. La poudre est ensuite conservée dans des récipients fermés et stockées à l'abri de la lumière pour les prochaines utilisations.



a. Graines de lin



b. Poudre de graines de lin

1.2. Matériels et produits chimique

a. Matériels :

- Balance de précision
- Plaque chauffante.
- L'étuve.
- Spectrophotomètre.
- Bain marie.

- Centrifugeuse.
- Boîtes pétries en verres.
- Les tubes secs.
- Micropipette.
- Papier filtre.
- Tubes à essai.

b. Produit et réactif chimique :

- bovine sérum albumine (BSA)
- L'acide Ascorbique
- Phosphate De Sodium
- Acide Sulfurique
- Chlorure D'aluminium
- HCL
- FeCl_3
- Tampon Acétate De Sodium
- Na OH
- Na_2HPO_4
- Na_2CO_3
- KH_2PO_4
- Anhydride Acétique
- Réactif De Wagner (2gde IK et 1.27g de I_2)
- Chloroforme
- Liqueur De Fehling
- Ethanol
- Tampon Phosphate De Sodium
- Réactif Folin- Cioclateu
- FeSO_4
- Acide Gallique
- Quercitine.
- Acétate de plomb

2. Méthode :

2.1. Préparation des extraits

2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux

Nous avons réalisés la méthode de décoction de **Bekal et al., (2015)** pour la préparation de cet extrait : 100 ml d'eau distillée a été ajouté à 10g de la poudre de *Linum usitatissimum* L. La poudre de graines de lin a été bouillie dans l'eau distillée pendant 15 à 20 minutes, conservée dans une température ambiante pendant la nuit et filtré. Le filtrat a été évaporé dans une étuve à 40°C et stocké dans le réfrigérateur.

2.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique

Nous avons réalisés la méthode de macération de **Bekal et al., (2015)** pour la préparation de cet extrait : 10 g de la poudre de *Linum usitatissimum* L. a été ajouté à 100 ml de l'éthanol à 70 %. Après avoir, agité le mélange est laissé pendant 72h. Ensuite le mélange est filtré et récupéré par le filtrat et séché dans une étuve à 40°C.

2.1.3. Calcul les rendements des extraits:

Le rendement en pourcentage a été calculé par la formule:

$$R(\%) = (m/m_0) \times 100$$

R (%) : rendement en pourcentage.

m : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

m₀: masse en gramme du matériel végétal à traiter

2.2. Tests phytochimiques

2.2.1. Analyse phytochimique qualitative:

Les tests phytochimiques permis de détecter les métabolites secondaires au niveau des graines étudiés, la mise en évidence de ces composés est basé sur des essais de précipitation, de solubilité des constituants, de turbidité et le changement de couleurs.

- a. Stéroïdes:** une aliquote de la graine extrait (1 ml) a été dissous dans 10 ml de chloroforme et un volume égal de l'acide sulfurique concentré a été ajouté par les côtés de l'éprouvette. La partie supérieure couche devient rouge et couche d'acide sulfurique a montré jaune avec vert fluorescence. Cela indiquait la présence de stéroïdes.

- b. Terpénoïdes:** une aliquote de la graine extrait (2 ml) a été ajouté à 2 ml de anhydride acétique et concentré H_2SO_4 . Les formations de bleu vert anneau indique la présence de terpénoïdes.
- c. Tanins:** Une aliquote de la graine extrait (2 ml) a été ajouté à quelques gouttes de 1% d'acétate de plomb et le jaunâtre précipité a indiqué la présence de tanins
- d. Saponines:** Une aliquote de la graine extrait (5 ml) a été mélangé avec 20 ml de eau distillée puis agitée dans un cylindre gradué pendant 15 minutes. La formation de mousse indique la présence de saponines.
- e. Glycosides:** Test du H_2SO_4 concentré: 2ml acide acétique glacial, une goutte de 5% $FeCl_3$ et concentré H_2SO_4 ont été ajoutés dans 5 ml d'extrait, l'apparition de anneau brun indique la présence de glycosides.
- f. Alcaloïdes:** un test de Mayer: à l'acide solution, le régent de Mayer (Potassium une solution d'iodure mercurique) a été ajoutée. Un précipité de couleur crème indique la présence d'alcaloïdes.
- g. Phénols:** demi-ml de $FeCl_3$ (p / v) la solution a été ajoutée dans 2 ml de test solution, formation d'une couleur intense indique la présence de phénols.
- h. Les flavonoïdes:** une aliquote de la graine extrait (2-3ml) et quelques gouttes de une solution d'hydroxyde de sodium a été ajoutée dans un tube à essai. Formation d'intense couleur jaune qui est devenue incolore en ajoutant quelques gouttes de HCl dilué indique la présence de flavonoïdes (Bekal et al., 2015).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique et ses différentes fractions a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminiums décrits par (Djeridane et al., 2006 ; Boudiaf, 2006).

Mode opératoire :

1ml de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ (2% dans l'éthanol) été ajouté à 1ml d'extrait (10mg/ml), après une agitation vigoureuse par l'utilisation de vortex, et incubation à température ambiante pendant 10 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue au

spectrophotomètre à 420 nm contre un blanc (1ml éthanol + 1ml AlCl₃) préparé dans les mêmes conditions que l'échantillon. Pour chaque échantillon trois essais ont été effectués

La teneur en flavonoïde est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage linéaire obtenue avec différentes concentrations de la quercétine.

La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g). (Saba *et al.*, 2011).

1.2.3. Dosage des flavonols

Le dosage des flavonols est déterminé selon la méthode décrite par (Kosalec *et al.*, 2005 ; Adedapo *et al.*, 2008). Dans un tube à essai sont introduits : 0,3 ml d'extrait est mélangé avec 0,3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl₃) et 0,45 ml d'acétate de sodium, le mélange est agité vigoureusement, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 40 minutes. L'absorbance est mesurée à 440 nm.

La quantification des flavonols se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard : la quercétine.

La teneur en flavonols est exprimée en milligramme d'équivalente de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g).

2.3. Détermination de l'activité anti arthritique *in vitro* :

L'objectif du présent travail est d'étudier l'activité antiarthritique *in vitro* de *Linum usitatissimum* L. par le test BSA et le teste de dénaturation d'albumine d'œuf.

2.3.1. Test de BSA

2.3.1.1. Préparation des solutions de BSA et tamponnée de phosphate

Préparation de solution du BSA : 500 mg de BSA dans 100 ml de l'eau distillé.
Préparation de tamponnée de phosphate : 800 ml de l'eau distillé, 2g de NaCl, 1.24 de Na₂HPO₄.

2.3.1.2. Préparation des extraits avec les solutions

Dans un 4 tube d'essai on ajoute 0.05 ml de l'extrait aqueux de différente concentration (100 ,250 ,500 mg et 1g) plus 0.45ml de BSA, même des tubes des extrait hydro alcoolique, chauffé des tubes pendant 3 min a température 57 c°. Refroidissement des

tubes, on ajoute 2.5 ml de tamponnée de phosphate chacun d'extrait. L'absorption à été mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV visible 255 nm.

2.3.1.3. Méthode de BSA

0,05 ml de différentes concentrations (50, 100, 250 mg / ml) de test et du médicament standard diclofénac sodique (50, 100, 250 mg / ml) ont été prélevés respectivement et 0,45ml (0,5% w / V BSA) mélangés. Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 minutes et la température a été augmentée pour maintenir les échantillons à 57 ° C pendant 3minutes. Après refroidissement, ajouter 2,5 ml de tampon phosphate aux solutions ci-dessus.

L'absorbance a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible à 255 nm. Le témoin représente 100% de dénaturation des protéines. Les résultats ont été comparés avec le diclofénac sodique. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines peut être calculé comme suit : (Habibur et al., 2015).

$$\text{Inhibition en pourcentage} = 100 - \left(\frac{\text{densité optique de la solution d'essai} - \text{densité optique du contrôle}}{\text{densité optique de l'essai}} \times 100 \right)$$

2.3.2. Test de dénaturation albumine d'œuf

2.3.2.1. Préparation du phosphate buffer saline pH 6,3

Dissous 8g de sodium chloride 0.2g de potassium chloride (KCL) ,1.44 de sodium hydrogène phosphate(Na_2Hpo_4) ,0.24g de potassium hydrogène phosphate (Kh_2Po_4). Dans 800 ml de l'eau distillée. Le pH a été ajusté à 6.3 en utilisant 1N HCl et compléter le volume à 1000 ml avec de l'eau distillée.

2.3.2.2. Méthode

Le mélange réactionnel (5 ml) consistait en 0,2 ml d'albumine d'œuf (d'œuf de poule frais), 2,8 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,4) et 2 ml de concentrations variables (0.01, 0.025 ,0.05mg /10 ml) de médicament. Un volume similaire d'eau distillée a servi de témoin. Ensuite, les mélanges ont été incubés à 37 ± 2 C° dans un incubateur de DBO pendant 15 minutes puis chauffés à 70 °C pendant cinq minutes. Après refroidissement, leur absorbance a été mesurée à 660 nm en utilisant le véhicule comme un blanc. Du diclofénac

sodique à la concentration de 100, 250, 500 µg / ml a été utilisé comme médicament de référence et traité de la même façon pour la détermination de l'absorbance

(Habibur et al ., 2015).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times [V t / V C - 1]$$

V t : l'absorbance de l'échantillon d'essai.

V c : l'absorbance du contrôle.

Les expériences ont été faites en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

Le CI50 (concentration de l'extrait pour une inhibition de 50%) a été déterminée par la courbe en réponse à la dose.

Etude statistique

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XL Stat Pro 7.5.

La détermination des taux de signification est effectuée par ANOVA suivie du test de Tukey.

Les différences ont été considérées statistiquement significatives à (P < 0,05).

Partie II : Résultats et Discussions

1. Screening phytochimique

1.1. Rendements d'extraction

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré des rendements d'extraction de 2,99% et 8,45% dans les extraits aqueux et hydro alcoolique des graines de *Linum usitatissimum* L respectivement.

Ces résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique de *Linum usitatissimum* L. présente un rendement significativement élevé ($P < 0,05$) par rapport à celui de l'extrait aqueux.

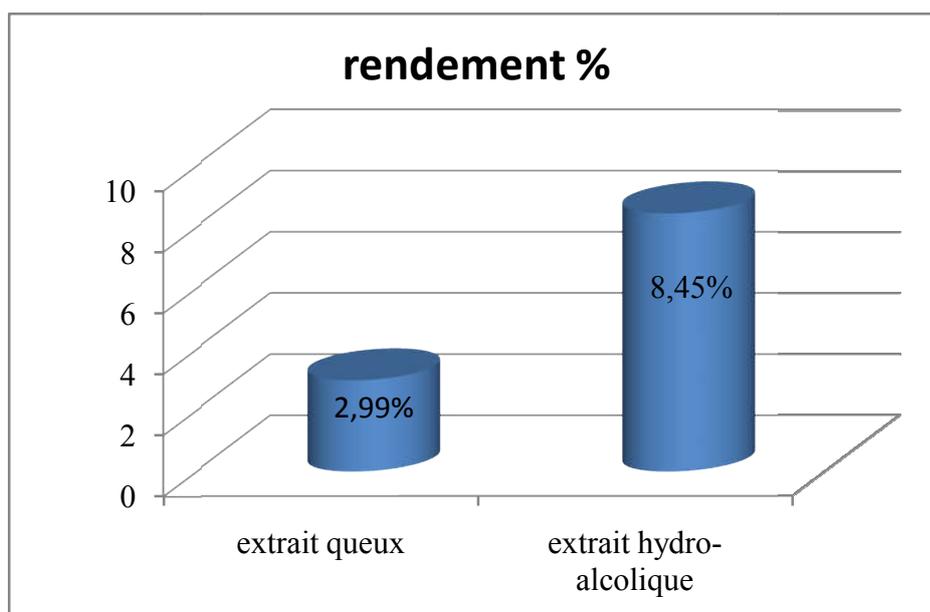


Figure 05 : le rendement d'extraction des extraits bruts des graines de *Linum usitatissimum* L.

Pour les résultats de rendement, il est difficile de comparer les résultats d'extraction avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des graines ainsi qu'à l'origine géographique, le pH, la macération et les conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées.

1.2. Les analyses qualitatives

Le screening phytochimique permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des graines de *Linum usitatissimum* L. La détection de ses composés est basé sur des essais des solubilités des constituants, des réactions des précipitations et de turbidité et un changement de couleur spécifique. Les résultats sont présentés dans tableaux ci-dessus (**Tableau 02**).

La mise en évidence de présence des stérols et triterpènes est confirmée par l'apparition d'un anneau avec anhydride acétique, chloroforme et H₂SO₄. Ces stérols sont fortement présents dans l'extrait hydro alcoolique, et relativement moyen dans l'extrait aqueux. Tandis qu'en révèle une présence nulle des triterpènes dans les deux types d'extraits.

Le test des tannins révèle la richesse de l'extrait hydro alcoolique en tannins suivie de l'extrait aqueux.

Les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits des grains de *Linum usitatissimum* L. mais avec des quantités variées. Cette constatation est témoignée par l'apparition d'une coloration jaune plus ou moins intense dans le milieu réactionnelle. Les résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique est fortement riche en flavonoïdes. Une présence relativement moyenne est marquée dans l'extrait aqueux.

Les alcaloïdes sont confirmés par présence d'une couleur orangée avec le HCl après chauffage de solution et l'ajoute de quelques gouttes de réactif de Wagner. Ces alcaloïdes sont présents dans différents extraits de *Linum usitatissimum* L.

Concernant les composés réducteurs, l'extrait hydro alcoolique a une présence fortement positive suivie d'une présence nulle dans l'extrait aqueux.

Les saponosides sont présentes en faibles quantités dans l'extrait aqueux suivie d'une présence nulle dans l'extrait hydro alcoolique.

Les phénols ont une moyenne présence dans l'extrait hydro alcoolique avec une faible présence dans l'extrait aqueux.

Tableau 02 : Résultats de l'analyse phytochimique des grains de *Linum usitatissimum* L.

Métabolites secondaires	Réactif	Extrait aqueux	Extrait hydro alcoolique
Stérols	Chloroforme H ₂ SO ₄	++	+++
Triterpènes	Anhydride acétique H ₂ SO ₄	-	-
Tanins	Acétate de plomb	++	++++
Flavonoïdes	Hydroxyde de sodium HCl	++	++++
Glycosides	Acide acétique glaciale FeCl ₃ H ₂ SO ₄	-	+++
Saponoïdes	Hauteur de la mousse	++	-
Alcaloïdes	Réactif de Wagner HCl	++++	++++
Phénols	Fe Cl ₃	++	+++

- +++++ : une forte présence.
- +++ : une présence moyenne.
- ++ : une présence faible.
- + : une présence très faible.
- - : une présence nulle

Nos résultats ne concorde pas avec les résultats trouvés par **Mahesh Bekal et al.,(2015)** qu'ils ont trouvés la présence de glycérides, de saponines, d'alcaloïdes et de flavonoïdes et l'absence des stérols, des terpénoïdes et des tanins dans l'extrait aqueux de *Linum usitatissimum* L.

1.1. Dosage des flavonoïdes

Nous avons réalisés le dosage des flavonoïdes selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercitine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). La détermination des flavonoïdes dans les extraits a été obtenue a partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine. (**Figure 06**).

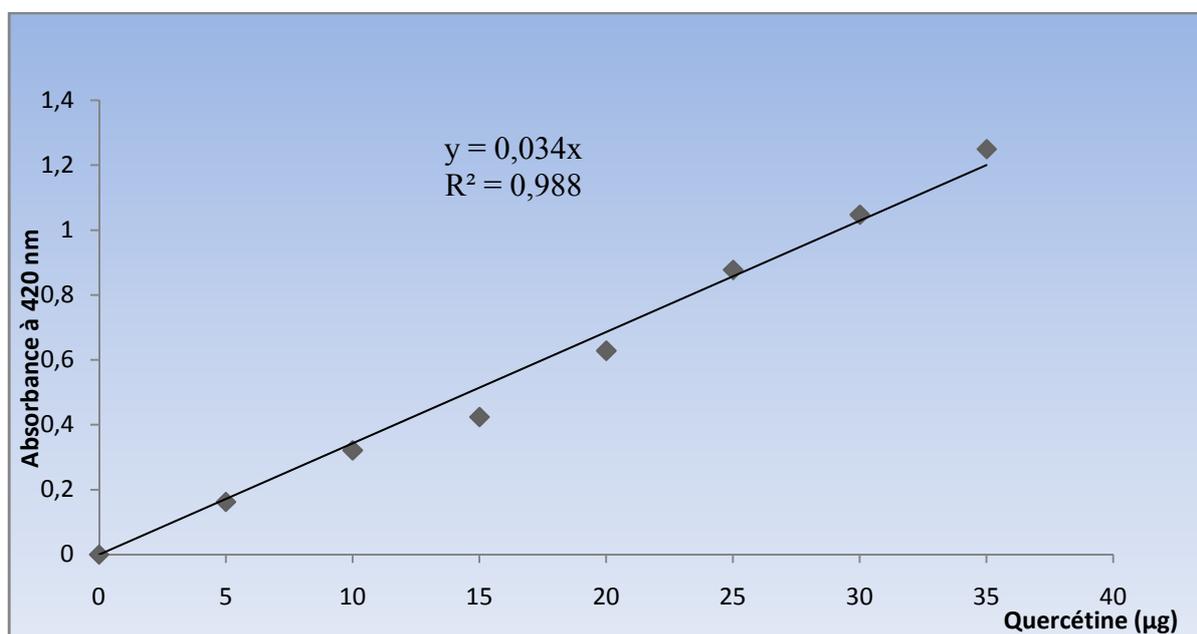


Figure 06: Courbe d'étalonnage de la quercétine (dosage des flavonoïdes).

L'extrait hydro alcoolique a montré la teneur la plus élevée par rapport à l'extrait aqueux avec des teneurs de $6,913 \pm 0,384$ mg EQ/g d'extrait et $4,853 \pm 0,058$ mg EQ/g d'extrait respectivement.

D'après les analyse statistique, on a constaté qu'il existe une différence significative entre extrait aqueux et extrait hydro alcoolique avec ($p < 0,05$).

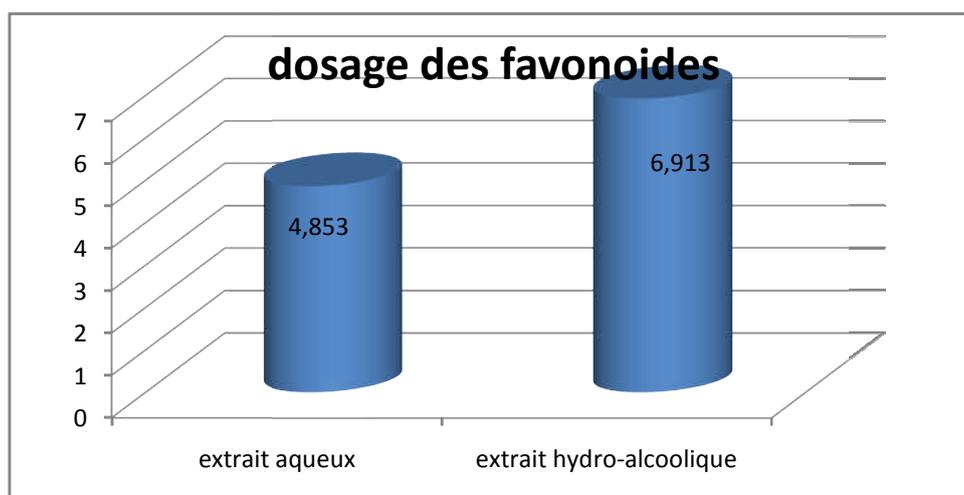


Figure 07: Les teneurs des flavonoïdes dans les extraits des graines de lin.

1.4. Dosage des flavonols

Tous d'abord, nous avons réalisés le dosage des flavonols selon la méthode de (Kosalec *et al.*, 2005 ; Adedapo *et al.*, 2008). La teneur en flavonols est exprimée aussi en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (Figure 08).

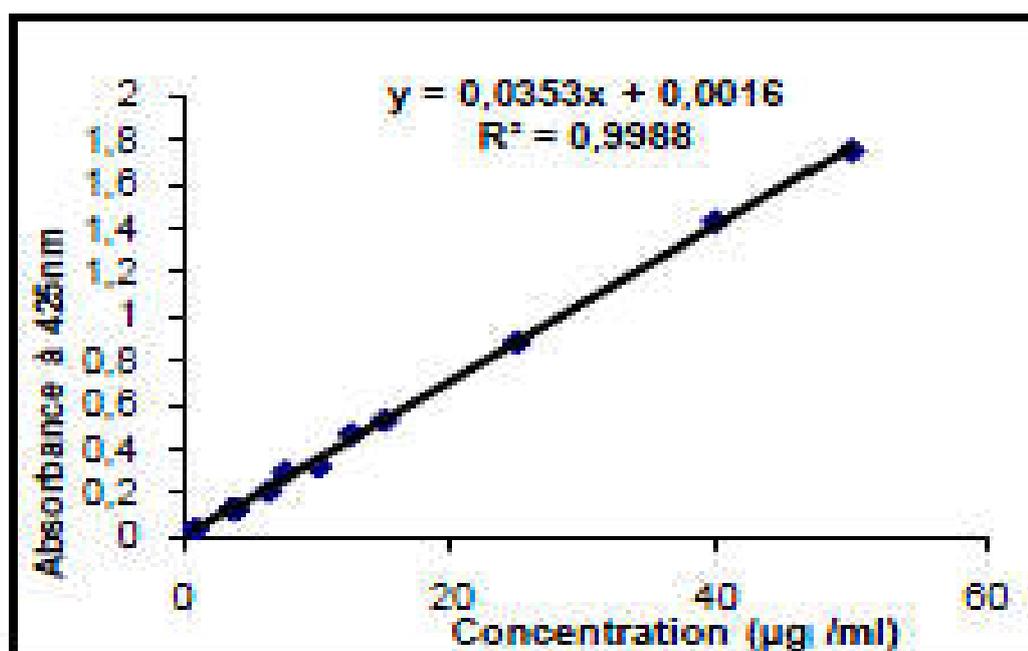


Figure 08: Courbe d'étalonnage de la quercétine (dosage des flavonols).

La teneur en flavonols d'extrait hydro alcoolique et d'extrait aqueux ont représentés des valeurs de $4,5305 \pm 0,252$ mg EQ/g d'extrait pour l'extrait hydro alcoolique et $4,514 \pm 0,033$ mg EQ/g d'extrait pour l'extrait aqueux.

D'après les analyses statistiques, on a constaté qu'il existe une différence significative entre extrait aqueux et extrait hydro alcoolique avec ($p < 0.05$).

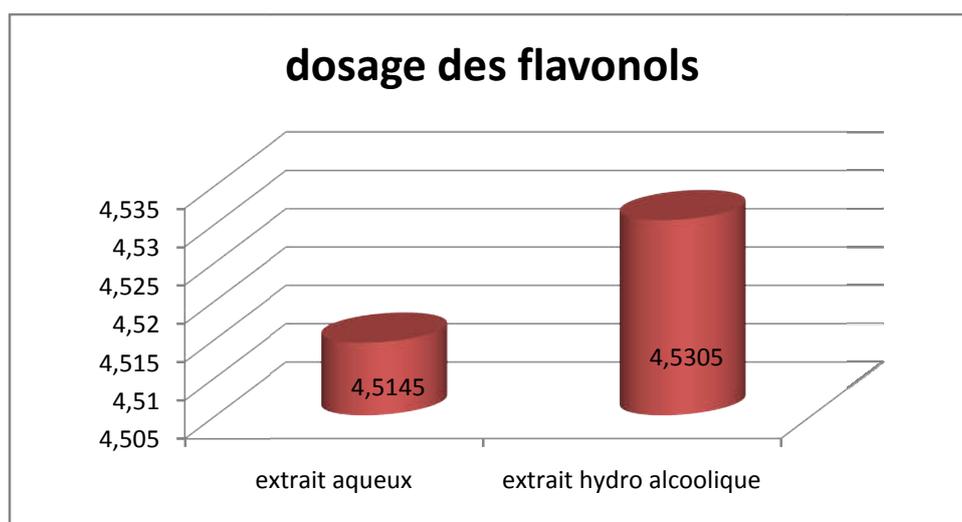


Figure 09 : La teneur en flavonols dans les extraits des graines de lin.

La détermination des composées phénoliques (flavonoïdes, flavonols) par la méthode de trichlorure d'aluminium montre une élévation de ces deux composées dans l'extrait hydro alcoolique par rapport à l'extrait aqueux, cette variété dépend de plusieurs facteurs : de leur origine, la saison de récolte, les facteurs climatiques, la répartition géographique, la durée de conservation de plante. Il ya aussi le morceau de plante étudiée et le type de solvant d'extraction (Levizou *et al.*, 2004).

2. Les analyses des tests de l'activité antiarthritique *in vitro*

Nous avons étudiés *in vitro* l'activité antiarthritique par deux méthodes principales :

- Activité antiarthritique par la méthode de BSA.
- Activité anti arthritique par la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf.

2.1. Les analyses de la méthode de BSA

Les résultats de test réalisés sur les extraits de *Linum usitatissimum* L. (aqueux et hydro alcoolique) et le diclofénac sont récapitulés dans la (figure 10).

Les valeurs d'IC50 (concentration d'inhibition à 50%) sont calculés a partir de la courbe de la régression linéaire { % d'inhibition = f (concentrations)}.

Nos résultats montrent qu'il existe une différence significative entre les deux extraits aqueux et hydro alcoolique et le diclofénac sodique avec ($p < 0,05$) dont les valeurs d'IC50 sont : $7,62 \pm 3,56$ mg/ml, $19,05 \pm 2,74$ mg/ml, $39,46 \pm 1,97$ mg/ml respectivement. Donc on conclure que l'efficacité antiarthritique dépend de l'IC50 la plus faible : l'extrait aqueux dans ce cas.

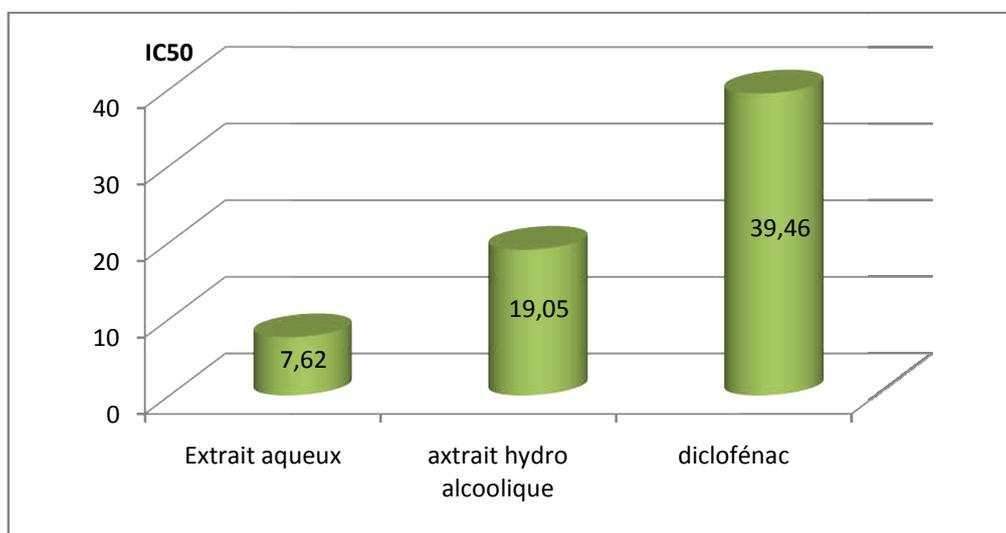


Figure 10 : Les valeurs d'IC50 pour l'activité antiarthritique (Méthode de BSA).

2. 2. Les analyses de la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf

Nous avons réalisés le test de dénaturation d'albumine d'œuf sur des extraits de *Linum usitatissimum* L. (aqueux et hydro alcoolique) et le diclofénac. Les résultats sont récapitulés dans La (figure 11).

D'après les résultats, nous avons remarqués qu'il n'y a pas une différence significative ($p > 0,05$) entre l'extrait aqueux et le diclofénac sodique dont les valeurs d'IC50 sont : $72,265 \pm 0,007$ mg/ml et $87,375 \pm 3,81$ mg/ml respectivement, par contre il existe une

différence significative ($p < 0,05$) entre l'extrait hydro alcoolique et ces deux derniers avec une valeur d'IC50 de $36,86 \pm 2,72$ mg/ml.

Alors, on a constaté que l'extrait hydro alcoolique possède une efficacité antiarthritique plus importante que l'extrait aqueux et le diclofénac.

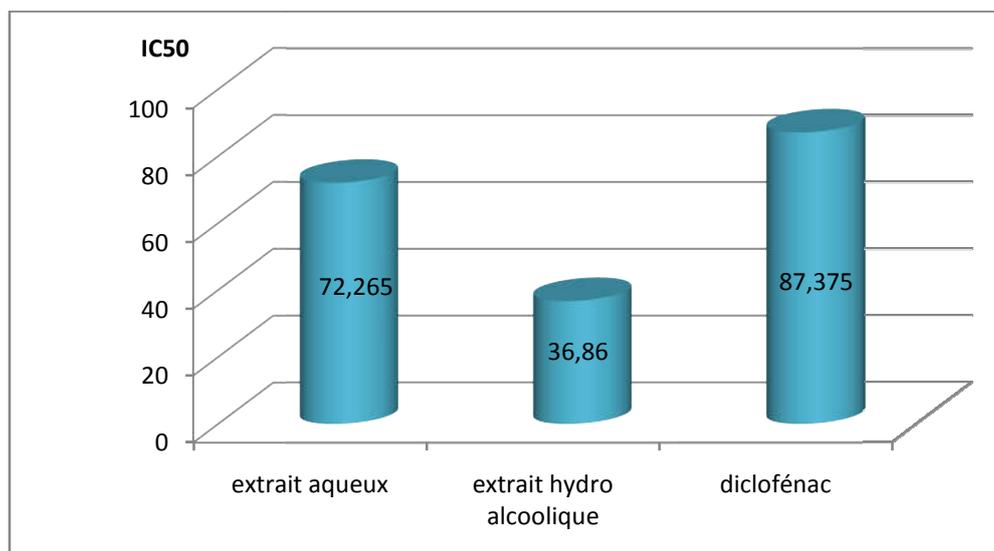


Figure 11: Les valeurs d'IC50 pour l'activité antiarthritique (Méthode de dénaturation d'albumine d'œuf).

Les résultats de ce tests ne concorde pas a celle de **Shilpa et al., (2017)**. Pour La méthode de dénaturation d'albumine d'œuf a 100, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$ a marquée une inhibition de 36,49 ; 53,99 ; 81,27%. Tandis que le diclofénac sodique standard à 100, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$ a montrée une inhibition de 26,27 ; 46,20 ; 96,12% de dénaturation d'albumine d'œuf.

D'après les résultats de ces méthodes :

La dénaturation de la protéine implique la perturbation de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire des molécules et conduit finalement à la mort cellulaire, elle est causée par le stress comme un niveau élevé de sel, une température élevée et un niveau élevé d'acidité. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes et disulfure. Il est bien connu que la dénaturation des protéines contribue aux états inflammatoires tels que la PR. La plupart des chercheurs ont rapporté que la dénaturation des protéines était l'une des causes de la PR en raison de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies rhumatismales (**Shilpa et al., 2017**)

Plusieurs travaux démontrés que l'acide α linoléique est le principe actif de *Linum usitatissimum* L. Les principaux médiateurs de l'inflammation sont les n-6 eicosanoïdes *par exemple* la Prostaglandine E2 (PGE2), la prostaglandine D2 (PGD2), la prostacycline (PGI2) et le thromboxane A2 (TxA2) (**Rajasekaran, 2010 ; Sierakowski et Cutolo 2011**).

La PGE2 diminue la réponse anticorps humorale en inhibant la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécrétant des anticorps. La PGE2 agit également sur les lymphocytes T pour inhiber la prolifération stimulée par les mitogènes et la libération de lymphokines par les cellules sensibilisées. La PGD2 est un produit majeur des mastocytes et constitue un agent chimioattractif puissant pour les éosinophiles. Elle induit une chimiotaxie et une migration des lymphocytes (**Smyth EM, FitzGerald GA, 2003**).

Ensemble, PGE2 et PGI2 améliorent nettement la formation d'œdème et l'infiltration de leucocytes en favorisant le flux sanguin vers la région enflammée. On a constaté que ces deux facteurs étaient associés à une douleur inflammatoire et potentialisaient l'activité de production de douleur de la bradykinine, de l'histamine et d'autres autacoïdes. La PGE2 potentialise également l'effet de la bradykinine en sensibilisant les fibres de carbone afférentes pour augmenter la douleur associée à l'arthrite (**Rang HP et al., 2010**).

Auparavant, les auteurs ont signalé l'activité anti-inflammatoire topique significative de lin. L'activité anti-inflammatoire de lin et de ses constituants isolés, à savoir l'*ajugarine* I, la lupuline A, la whaferine A, le reptoside et le 6-désoxyharpagide a été confirmée ultérieurement par utilisation *in vitro*.

Le dosage d'inhibition pour COX-1 et COX-2. Il a été suggéré que l'activité anti-inflammatoire de lin est médiée par l'inhibition de la COX-1 et de la COX-2. Ainsi, la réduction de la synthèse des eicosanoïdes due à l'inhibition de la COX est supposée rendre compte des effets bénéfiques de linum dans la présente expérience (**Kaithwas, 2012**).

Conclusion

Conclusion

La polyarthrite rhumatoïde est le rhumatisme inflammatoire chronique le plus fréquent. Cette pathologie invalidante à l'hétérogénéité variée se définit par une atteinte articulaire sérieuse entraînant une invalidité fonctionnelle encore trop souvent rencontrée. Du fait de son impact social et économique important, la PR constitue un véritable problème de santé publique.

L'idée directrice de notre étude a consisté à préparer l'extrait aqueux et hydro-alcoolique de *Linum usitatissimum* L., à déterminer la teneur en composés phénoliques (flavonoïdes, flavonols) les tests phytochimiques, ainsi que l'activité antiarthritique des extraits des graines de lin.

La préparation des extraits des graines de Lin permis l'obtention des deux extraits : l'extrait hydro alcoolique, l'extrait aqueux dont les rendements respectifs sont 8,45% et 2,99%.le rendement le plus important a été obtenue avec l'extrait hydro alcoolique.

Pour les flavonoïdes la teneur la plus élevée est trouvée dans l'extrait hydro alcoolique 6,913±0,384 mg EQ/g d'extrait suivi par 4,853± 0,058 mg EQ/g d'extrait pour l'extrait aqueux.

Même pour les flavonols, l'extrait hydro-alcoolique présente la teneur la plus élevée (4,5305 ± 0,252 mg EQ/g) suivie par l'extrait aqueux (4,514 ± 0,033 mg EQ/g).

A ce qui concerne l'activité antiarthritique des extrais de graine de lin, elle a donnée une bonne efficacité anti arthritique par rapport au médicament diclofénac sodique pour les deux tests dont l'IC50 de l'extrait hydro alcoolique, aqueux et le diclofénac du premier test (méthode de BSA) sont : 7,62±3,56 mg/ml, 19,05±2.74 mg/ml, 39,46±1,97 mg/ml respectivement.

Pour le deuxième test (dénaturation d'albumine d'œuf) les valeurs d'IC50 sont : 36,86±2,72 mg/ml, 72,265±0,007 mg/ml, 87,375±3,81 mg/ml pour l'extrait hydro alcoolique, l'extrait aqueux et le diclofénac sodique respectivement.

L'activité antiarthritique des différentes extraits de *Linum usitatissimum* L. est due en présence des principes actifs anti-inflammatoire est l'acide α linoléinique qui inhibent plusieurs enzymes impliquées dans l'inflammation et supprime la libération d'histamine et la bradykinine et agit sur certains médiateurs de l'inflammation.

En prescriptive et pour confirmer les résultats obtenus, il est très intéressant de :

- Réaliser d'autres expériences *in vivo* et *in vitro*.
- Déterminer de la composition chimique des extraits préparés.
- Etudier les mécanismes d'action des différents constituants de la graine de *Linum usitatissimum* L.

Annexes

Annexes

Annexes

ANNEXE 1 : Composition de l'huile de lin

Composé	Famille d'acide gras	Teneur pour 100g
Vitamine K	-	-
Vitamine E	-	17,5 g
Total acide gras saturés	-	9,4 g
Total d'acide polyinsaturés	-	66 g
Total d'acide gras mono-insaturés	-	20,2 g
Acide gras trans	-	0,019g
Acide érucastique (mono-insaturé)	ω -9	0,13 g
Acide stéarique (saturé)	-	3,428 g
Acide pentadécanoïque (saturé)	-	0,014 g
Acide palmitoléique (mono-insaturé)	ω -7	0,046 g
Acide palmitique (saturé)	-	6,047 g
Acide oléique (mono-insaturé)	ω -9	18,115 g
Acide myristique (saturé)	-	0,041g
Acide linoléique (polyinsaturé)	ω -6	15,553 g
Acide lignocérique (saturé)	-	0,078 g
Acide héptadécanoïque (saturé)	-	0,046 g
Acide cétoléique (mono-insaturé)) ω -11	0,068 g
Acide béhénique (saturé)	-	0,068 g

Annexes

Acide arachidonique (saturé)	-	0,146 g
Acide alpha-linolénique (polyinsaturé)	ω -3	56,018 g

- La composition en acides gras des triglycérides de l'huile de lin est la suivante:

- acide α -linoléique: 45 - 70 %
- acide linoléique : 12 - 24 %
- acide oléique: 10 - 21 %
- acides gras saturés : 6 - 18 %

- L'analyse nutritionnelle, pour 5ml d'une huile de lin alimentaire typique, est la suivante:

Energie	Protéine(g)	Lipides (g)	Glucides(g)
42 Cal	0	4,7	0
176 kJ		Dont acides gras : <ul style="list-style-type: none"> • Saturés : 0,4 g • Mono insaturés : 0,8g • Polyinsaturés : 3,5 g • Linoléique : 0,6 g 	

Annexes

ANNEXE 2



Balance à précision



spectrophotomètre



Centrifugeuse



étuve



Bain marie



PH mètre

Annexes

ANNEXE 3

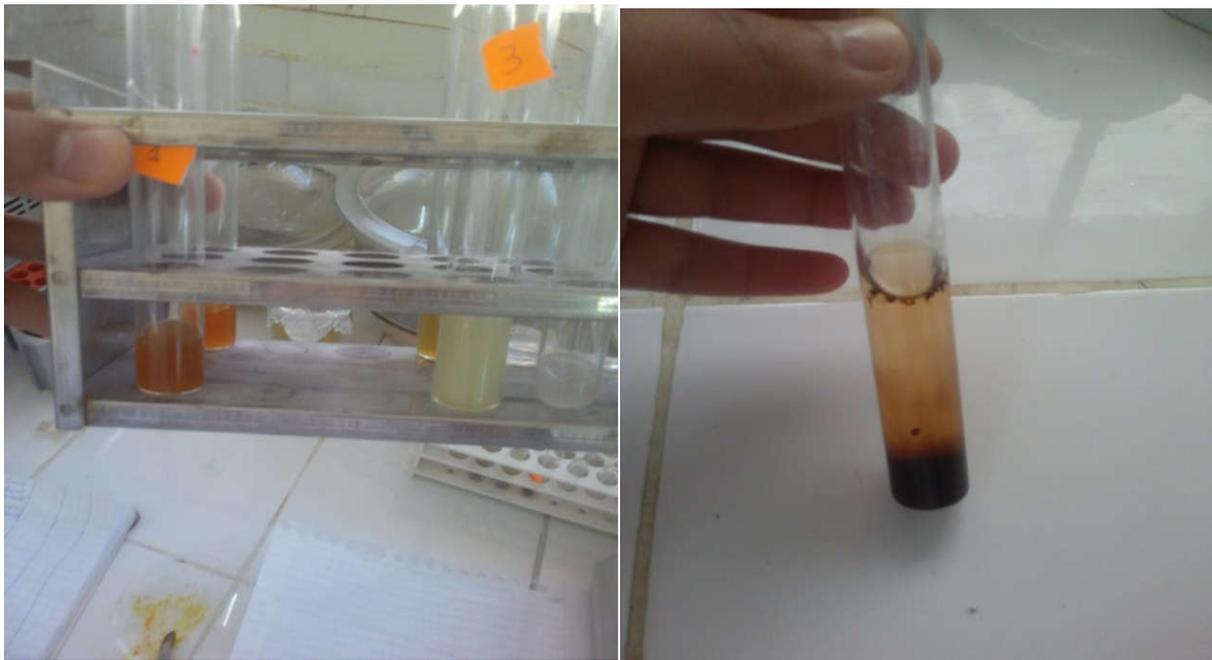


a

b

L'extract éthanolique à gauche et l'extract aqueux à droite dans chacune des deux photo a et b

ANNEXE 4



Annexes



Les résultats de screening phytochimique des extraits de graines de *linum usitatissimum*.L.

References

Bibliographiques

Références bibliographique

- **Akoroda M.1981.**"Studies of the genetics and floral biology of yam (*Dioscorea rotundata* and *D. cayanaensis*)".Dept. of agronomy. Univ of Ibadan.298.
- **Aighewi B.A., Akoroda, M., Asiedu, R. 1998.** "Preliminary studies of seed yam production from minisetts with different thicknesses of cortex parenchyma in white yam (*Dioscorea rotundata*)", 6th Symposium of the ISTRC-AB, Lilongwe(Malawi), 22-28 Oct.
- **Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010.** Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* Sep 2010; 62(9):2569-2581.
- **Ann Rheum Dis. 2010** Jan.69 (1):70-81.doi: 10.1136/ard.2008.096487. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies.
- **Ann Rheum Dis. 2014** jul ; 73(7) :1316-22. Doi : 10.1136/annrheumdis-2013-204627. Epub 2014 Feb 18. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study.
- **Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al., 1988:** The American Rheumatism Association1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* Mars 1988; 31 (3) : 315-324.
- **Ashley Delaurier PT, 2011.** Wait Times to Rheumatology and Rehabilitation Services for Persons with Arthritis in Quebec. Le 31 août.
- **B. Combe 2007.**Revue du Rhumatisme. Volume 74, Supplement 3, November 2007, Pages 14-21
- **Barnes, P. J. (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, 94(6), 557-572.
- **Breedveld FC, Kalden JR.** Appropriate and effective management of rhumatoïde arthrites. *Ann Rheum Dis* 2004; 63 :627-33.
- **Benguerba, A. (2008).** Etude phytochimique et de la phase butanoliquede l'espece *Inula crithmoides* L. Mémoire magister, Université mentouri-constantine, 5-14.
- **Bernard B. (2001).** Plantes médicinales du monde, 2ieme Edition.
- **Bloedon, L. T., & Szapary, P. O. (2004).** Flaxseed and cardiovascular risk. *Nutrition Reviews*, 62(1), 18-27.

- **Blumenthal MA, Goldberg J et Brinckmann EDS.2000**, Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council, Austin, TX, USA, pp 85-52.
- **Bolsheva, N. L., Alexander, V., Zelenin., Inna, V., Nosova., Alexandra, Muravenko. (2015)**. The Diversity of Karyotypes and Genomes within Section Syllinum of the Genus Linum (Linaceae). Revealed by Molecular Cytogenetic Markers and RAPD Analysis
- **Boon HS, Olatunde F et Zick SM.2007**, Trends in complementary/alternative medicine use by breast cancer survivors: comparing survey data from 1998 and 2005, *BioMedCentral Womens Health*;7:4,1-7, <http://www.biomedcentral.com/1472-6874/7/4>.
- **Boudiaf, K. (2006)**. etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa. Mémoire de magister. Sétif.
- **Bruneton, J.(2016)**. pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 5^e édition (Lavoisier)
- **Carter, J. F. (1996)**. Sensory evaluation of flaxseed of different varieties. In *Proc. Flax Inst* (Vol. 56, pp. 201-203).
- **Chen J, Stavro PM, Thompson LU. 2002**, Dietary flaxseed inhibits human breast cancer growth and metastasis and downregulates expression of insulinlike growth factor and epidermal growth factor receptor, *Nutrition and Cancer* **43**(2):187-192.
- **Cleland LG, James MJ**. Fish oil and rheumatoid arthritis: antiinflammatory and collateral health benefits. *J Rheumatol*. 2000 Oct. ; 27(10) :2305-7. Editorial. Texte complet accessible à l'adresse suivante : <http://jrheum.com>. *Rheumatology*, 2-volume Set-85941st Edition (internet). (Cité 29 mars 2018). Disponible sur <http://www.elsevier.com/books/rheumatology-2-volume-set/hochberg/978-0-323-09138-1>.
- **Combe B., Krause E., Sany J 1989**. Treatment of chronic knee synovitis with arthroscopic synovectomy after failure of intra-articular injection of radionuclide. *Arthritis and Rheumatism*, 32, 10-14.
- **Cordell G.A.2001**. " Plants and drugs discovery- a future perspective. Proceedings of the international symposium on man and nature". Osaka, Japan

- **Coşkuner Y, Karababa E. 2007.** Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). Journal of Food Engineering, 78(3), 1067-1073.
- **Cross M et AL. 2010** Génétique de la polyarthrite rhumatoïde : un tourant. décisif.F. Cornélis. Revue du rhumatisme. Volume 77, issue 4, August 2010, Pages 279-282. Progrès dans la polyarthrite rhumatoïde
- **Dieppe P. AJ Silman, MC Hochberg (Eds).** Epidemiology of the Rheumatic Diseases Second Edition. Oxford: Oxford University Press, 2001, pp.377, £95.00.ISBN; 0192631497. Int J Epidemiol (internet). 1 oct. 2002 (cité 30 mars 2018); 31(5): 1079-80. Disponible sur : <http://academic.oup.com/ije/article/31/5/1079/745833>.
- **Dr Jean-Michel Hertel, (2013) Phytomania** : site dédiée aux plante médicinales et aux huiles essentielles, Phytothérapie, Plantes médicinales, Aromathérapie, Huiles essentielles.
- **Ganorkar, P. M. and Jain, R. K. (2013).** Flaxseed – a nutritional punch, Department of Food Processing Technology, A.D. Patel Institute of Technology, New Vallabh Vidya Nagar, Anand, Gujarat 388121, India.
- **Ghozlani I, Achemlal L, Rezqi A, Mounach A, bezza A, Maghraoui AE.2012** Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde.
- **Halligudi N.2012,** Pharmacological properties of flax seed: Review Hygeia: journal for drugs and medicines vol 4 (2): 70-77.
- **Heli Jroy R.D, Shanna Lundy M.S, Chad Eriksen B.A, Beth K. 2007.** Flaxseed: A Review of Health Benefits. Pennington Nutrition N°5, P 4.
- **Imran Muhammad, Nazir Ahmad, Faqir Muhammad Anjum, Muhammad Kamran Khan, Zarina Mushtaq, Muhammad Nadeem, and Shahzad Hussain 2015.** Potential protective properties of flax lignan secoisolaricirésinol diglucoside
- **INSERM.**
- **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin, 2ème édition.
- **Ivanov, S., Rashevskaya, T.** Flaxseed additive application in dairy Product production. Procedia Food science, 1:275-280.

- **Jhalla Amit J et Hall LM.2010**, Flax (*Linum usitatissimum* L.): Current Uses and Future Applications: Australian Journal of basic and Applied Sciences 4(9): 4304-4312.
- **Jick, H. (1994)**. Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. The Lancet, 343(8900), 769-772.
- **Khanbaba, K., & Ree, T.R. (2001)**. Tannins: classification and Definition. Journal of royal society of chemistry, 18,641-649.
- **Kim H et Choi H.2005**, Stimulation of acyl-coA oxidase by !-linolenic acid rich parilla oil lowers plasma tricylglycerol level in rats, Life Sci 77: 1293-1306
- **L.G. Korkina** «Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health.» Cellular and Molecular Biology **53 (2007)**: 15-25.
- **Lutge U, Kluge M, Bauer G. 2002**. Botanique 3ème Edition : Technique et documentation, *Lavoisier. Paris. p211*.
- **Ma W.G, Tan R.X, Fuzzati N, Li Q.S, Wolfender J.L, Hostettmann K. 1997**. Natural occurring and synthetic polyene glycosides. *Phytochemistry*, 45(2) ,411-415.
- **Mahmoudi, Y. (1990)**. La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Palais du livre, Blida, 10.
- **Macheix J.J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005**. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p4-5.
- **Mazza G et Oomah BD.1995**, Flaxseed, dietary fiber and cyanogens, In: Cunnane S, Thompson LU (Eds) Flaxseed in human nutrition AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 56-81.
- **Middleton Jr, E., & Kandaswami, C. (1994)**. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. The flavonoids. London: Chapman and Hall.
- **Minichiello E, Semerano L, Boissier M-C.** evolution dans le temps de la polyarthrite rhumatoïde : incidence, prévalence, gravité. Revue systématique de la littérature./data/revues/116983301630103X/ (internet). 7janv 2017 (cité 29 mars 2018) ; Disponible sur, <http://www.em-consulte.com/en/article/1100749>
- **Muir, A. D., Neil, D. (2003)**. Flax the genus *linum* Westcott Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.

- **Nelson GJ et Chamberlain G.1995**, The effect of dietary alpha-linolenic Acid on blood lipids and lipoproteins in human, In: Cunnane S, Thompson LU (Eds) Flaxseed in human nutrition. American Oil Chemists' Society Press, Champaign, Illinois, pp. 56-81
- **Oomah, B. D. (2003)**. Processing of flaxseed fiber, oil, protein, and lignan. Flaxseed in human nutrition, 2, 363-386.
- **POLTON PD**. Egalité femmes-hommes en matière de santé et de recours aux soins.2016 ; 11
- **Pradhan, R. C., Meda, V., Rout, P. K., Naik, S., & Dalai, A. K. (2010)**. Supercritical CO₂ extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes. Journal of Food Engineering, 98(4), 393-397.
- **Prasad K.(1997)**, Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. Atherosclerosis 7-11 **132** (1):69-76
- **Renouard S. (2011)**. Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (*linum usitatissimum* et *linum flavum*) et amélioration de l'extraction de Lignanes.Science du vivant, Thèse de doctorat (Université d'Orléans), p231.
- **Sany J**. Polyarthrite Rhumatoïde de l'adulte. **John Libbey ed**. Paris, **2003**, pp 171-272.
- **Segnou, Fatakun C.A, Akoroda, M., Hahn, S.(1992)**."Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata*)". Euphytica. 64(3):197.
- **Shilpa K, Nimmy Chacko, Prerana Shetty, Sandhya Savithri A**. Investigation of anti-arthritic activity (*in-vitro* models) of *Hibiscus hispidissimus* Griffith, 2017.
- **Singh S et Majumdar DK. (1997)**, Evaluation of anti-inflammatory activity of fatty acids of *Ocimum sanctum* fixed oil. Indian, *Journal of Experimental Biology* 35:380–383.
- **Sugiyama D et Al**. Recommandation de la Haute Autorité de Santé, septembre 2007 (<http://www.has-sante.fr>).
- **Swain, T. (1979)**. Tannins and lignins. Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. (Ed. par Rosenthal, G. A. et Janzen, D. H.), 637-682. New York: Academic Press.
- **Talbert M. (1998)**. Guide pharmacologique, **Lammarie** ,3^{éd}, Paris, 49-61.Recomendation de la Haute Autorité de Santé, avril 2008 (www.has-sante.fr).

- **Thompson LU. (2003), Flaxseed** in human nutrition, 2nd Edition, AOCS Press, Champaign, Illinois, 458 p.
- **Tribalat Marie-Aude. 2016.** Metabolomic study of flax (*Linum usitatissimum*) mutant for lignans biosynthesis pathway. Sciences pharmaceutiques. <dumas-01400618>.(HAL).
- **Urquiaga I, Leighton F. 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biological research, 33(2), 55-64.
- **Vijaimohan KM, Jainu KE, Sabitha S, Subramaniyam C, Aandhan CS et Shyamala D.2006,** Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats, Life Sci 79 (5): 448-454
- **Vivek Sharma, Neelam Upadhyay, Sandeep Gill, et Manvesh Sihag, (2014).** Lin et huile de lin: une médecine ancienne et un aliment fonctionnel moderne Ankit Goyal.
- **Zanwar Anand A , Aswar Urmila M, Hegde Mahabaleshwar V, Bodhankar Subhash L. 2010,** Estrogenic and Embryo-Fetotoxic Effects of Ethanol Extract of *Linum usitatissimum* in Rats, Journal of Complementary and Integrative Medicine 7(1): 21).