



Composés bioactifs

Etude *in vitro* des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L. (Rosacées)

In vitro study of anti-inflammatory properties of methanolic extract fruits from *Rosa canina* L. (Rosaceae)

Samira FETNI¹, Nabil BERTELLA²

¹Département de Pharmacie, Faculté des Sciences Médicales, Université de Batna2, 05000, Algérie. ²Département d'Ecologie et d'Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Batna2, 05000, Algérie

Auteur correspondant : s.fetni@univ-batna2.dz

Reçu le 29 juillet 2020, Révisé le 02 décembre 2020, Accepté le 07 décembre 2020

Résumé Introduction. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des composés bioactifs tels que les composés phénoliques. *Rosa canina* L. (Rosacées) (*R.canina*) connue sous le nom Thebgha dans l'Est algérien, est largement utilisée dans la médecine traditionnelle et en nutrition. **Objectif.** L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de fruits de la plante médicinale *R.canina*. **Matériel et méthodes.** L'étude de *R.canina* a porté sur un screening phytochimique. Un dosage de la teneur en composés phénoliques totaux par le test de fast blue BB (FBBB) et l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire *in vitro* par des méthodes colorimétriques portant sur la dénaturation de la sérum albumine bovine (SAB) et de l'albumine d'œuf ont été réalisés. **Résultats.** L'extrait méthanolique a été préparé par l'utilisation de solvants à polarité croissante. L'extrait des fruits de *R.canina* est riche en polyphénols. Concernant l'activité anti-dénaturation, l'extrait méthanolique a montré un grand pourcentage d'inhibition de la SAB, soit 89,34 % et de l'albumine d'œuf, soit 93,41 % à la concentration la plus élevée. Ainsi, ces résultats indiquent que l'extrait présente une activité anti-dénaturation significativement bonne en comparaison avec le diclofénac. **Conclusion.** Cette étude montre clairement que l'extrait méthanolique des fruits de *R.canina* possède une propriété anti-dénaturation significative.

Mots clés : *Rosa canina* L., Extrait méthanolique, Fast blue BB, Activité anti-inflammatoire

Abstract Introduction. Medicinal plants are considered an inexhaustible source of bioactive compounds such as phenolic compounds. *Rosa canina* L. (Rosaceae) known as Thebgha in Eastern Algeria, is widely used in traditional medicine, and nutrition. **Objective.** The aim of this study was to assess the anti-inflammatory activity of methanolic fruit extract from the medicinal plant *R.canina*. **Material and methods.** This study on *R.canina* focused on phytochemical screening. Determination of total phenolic compounds content by the fast blue BB test (FBBB), and evaluation of *in vitro* anti-inflammatory power by colorimetric methods relating to the denaturation of bovine serum albumin (BSA) and egg albumin were essayed. **Results.** The methanolic extract was prepared by the use of solvents with increasing polarity. The extract of *R.canina* fruits was rich in polyphenols. Concerning the anti-denaturation activity, the methanolic extract showed a high percentage of BSA inhibition of 89.34%, and egg albumin of 93.41% at the highest concentration. Thus, our results indicated that the extract had a significantly good anti-denaturation activity, compared to diclofenac. **Conclusion.** Our study show clearly that the methanolic extract of the *R. canina* fruits has a significant anti-denaturing property.

Keywords: *Rosa canina* L., Methanolic extract, Fast blue BB, anti-inflammatory activity

Introduction

L'églantier (*Rosa canina* L.) est une plante aromatique et médicinale de la famille des Rosacées. L'églantier présente un intérêt médicinal, pharmaceutique et cosmétique en raison de ses nombreuses propriétés et vertus thérapeutiques [1-3]. En effet, les fruits de l'églantier, connus sous le nom de cynorhodons, possèdent des activités prophylactiques et thérapeutiques contre les troubles inflammatoires, y compris l'arthrite, le rhumatisme, la goutte et la sciatic. Ils peuvent être aussi utilisés pour traiter certaines maladies, tels que le rhume et la grippe ainsi que pour la prévention de l'inflammation de la muqueuse gastrique et l'ulcère gastrique, des calculs et des voies biliaires [4,5]. Ils sont également utilisés comme laxatifs lors des troubles des reins et des voies urinaires, mais aussi comme diurétiques pour l'hydropisie et enfin comme un astringent [6,7].

Mis à part leur activité anti-inflammatoire [8,9], vu leur richesse en vitamines A et C [7-9], les fruits de l'églan -tier possèdent une activité antioxydante, ce qui jus-tifie d'ailleurs leur usage dans les aliments ou comme additifs alimentaires [10,11].

Les méthodes actuelles, pour détecter et isoler une large gamme de composés anti-inflammatoires aux premiers stades du processus de découverte de médicaments, utilisent un grand nombre d'animaux. A ce propos, Il existe des problèmes éthiques concernant l'utilisation d'animaux aux premiers stades de découverte de médicaments pour les maladies inflam-matoires et dégénératives, à partir de produits natu-rels, utilisant les voies d'isolement dictées par l'acti-

tivité lorsque de nombreux composés, supérieurs à 100, sont présents dans l'extrait brut ou fraction [12-16]. C'est la raison principale pour laquelle il est proposé la méthode d'utilisation des effets anti-déna-turation (stabilisation) *in vitro* de SAB et de l'alu-bumine d'œuf, traitées thermiquement (immunogènes), en tant que test de dépistage pour la détection des composés anti-inflammatoires, sans l'utilisation d'ani-maux aux premiers stades du processus de décou-verte de médicaments [17-19].

Lorsque la SAB est chauffée et subit une dénatu-ration, elle exprime des antigènes associés à une réaction hypersensible de type III expliquant qu'ils sont liés à des maladies, tels que la maladie sérique, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé [20,21]. Le test propo-sé devrait ainsi être applicable à la découverte de médicaments pour traiter les maladies mentionnées ci-dessus et autres, une fois que les composés stabi-lisent le processus de dénaturation [22].

Cette étude a pour objectif la vérification *in vitro* de l'effet anti-dénaturation induit par l'extrait méthano-lique des fruits de *Rosa canina* L. dans la sérum albumine bovine et l'albumine d'œuf traitées thermiquement (immunogène).

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les fruits de *Rosa canina* L. sont récoltés en octobre 2016 dans la région de Batna, Algérie. Les fruits sont

lavés puis séchés à l'ombre, à température ambiante dans un endroit aéré, pendant 21 jours. Les fruits séchés sont broyés au broyeur électrique et le broyat obtenu est stocké à -20°C.

Extraction des polyphénols

L'extraction est effectuée par macération successive selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004) [23], en utilisant des solvants à polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme et méthanol). Une quantité de 60 g de poudre de fruits de *Rosa canina* L. est incorporée à 100 mL d'éther de pétrole pendant 48 h, filtrée est séchée. Le résidu est ensuite extrait successivement avec 100 mL de chloroforme et 100 mL de méthanol, chaque opération est répétée trois fois. L'extrait brut, évaporé par un évaporateur rotatif sous vide (HAHNAPOR) à 40°C est stocké dans l'obscurité à 4°C. Le rendement est calculé par la formule

$$Y (\%) = \text{Masse d'extrait sec} / \text{masse de matière végétale} \times 100$$

Dosage des polyphénols totaux par la méthode de Fast Blue BB (FBBB)

La teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique de la plante *R.canina* est déterminée par la méthode FBBB [24]. Un volume de 150 µL de 100 µg/mL d'extrait méthanolique est mélangé avec 15 µL de Fast blue (0,01% v/v H₂O) et 15 µL de NaOH (5% v/v H₂O). Après incubation, le mélange est gardé à température ambiante et à l'obscurité pendant 2 h. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 420 nm par le lecteur de microplaques multi-mode BioTek Synergy HT (BioTek Instruments Inc., Vermont, États-Unis) et les données acquises sont traitées par le logiciel Gen5™ (BioTek Instruments Inc.). Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS) à partir de l'équation $Y = 2,226 \times +0,0611$; $R = 0,9995$.

Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation des SAB

La technique est menée selon la méthode décrite par Williams *et al.*, 0,05 ml des concentrations (1, 10, 100, 150 µg/mL) de l'extrait méthanolique, des concentrations (50, 100, 150 µg/mL) du médicament standard diclofénac sont mélangées chacune avec 0,45 mL de SAB (0,5% p/v). Les échantillons sont

incubés à 37°C pendant 20 min, ensuite la température est portée à 57°C pendant 3 min. Après refroidissement, 2,5 mL de tampon phosphate sont ajoutés aux solutions ci-dessus. L'absorbance est mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible (type SHIMADZU) à 255 nm. Le contrôle représente 100% de la dénaturation des protéines [25]. L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \left[\frac{\text{Abs de contrôle} - \text{Abs de l'extrait}}{\text{Abs de contrôle}} \right] \times 100$$

Abs : Absorbance

La moyenne retenue est obtenue sur trois répétitions. La concentration (CI₅₀) de l'extrait pour 50% d'inhibition est déterminée par la courbe dose-réponse.

Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation par l'albumine de l'œuf

Une solution de 5mL, composée de 0,2mL d'albumine d'œuf, 2,8mL de solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 6,4) et 2mL de l'extrait méthanolique aux concentrations de 1, 10, 100, 150 µg/mL a été préparée préalablement. Le diclofénac a été utilisé comme médicament de référence aux concentrations de 50, 100, 150 µg/mL. Un volume double d'eau distillée a servi de contrôle. Les mélanges sont incubés à 37±2°C pendant 15 min puis chauffés à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660nm [26]. Le % d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times [Vt/Vc - 1]$$

Vt = absorbance de l'échantillon d'essai ; Vc = absorbance de contrôle.

Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions. La concentration (CI₅₀) de l'extrait pour une inhibition de 50% est déterminée par la courbe dose-réponse.

Tous les produits chimiques, les réactifs et les solvants utilisés dans cette étude sont de marque Sigma-Aldrich (Madrid, Espagne).

Analyse statistique

Les données sont exprimées sous forme de moyenne ± Erreur standard. Les différences significatives sont calculées, en testant les tendances linéaires, en utilisant l'analyse de variance d'un seul facteur (ANOVA). Dans le cas d'inhomogénéité de variance, la comparaison multiple par le test de Dunnett est utilisée. La valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative. L'analyse statistique est effectuée avec le logiciel SPSS (Version 20,0).

Résultats

Teneurs en polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux par la méthode FBBB est déterminée, à partir des équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en μg équivalent d'acide gallique (**Fig.1**). L'extrait méthanolique des fruits de *R.canina*, déterminé par la méthode FBBB montre une teneur en phénols totaux de l'ordre de $462,52 \pm 1,12 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait.

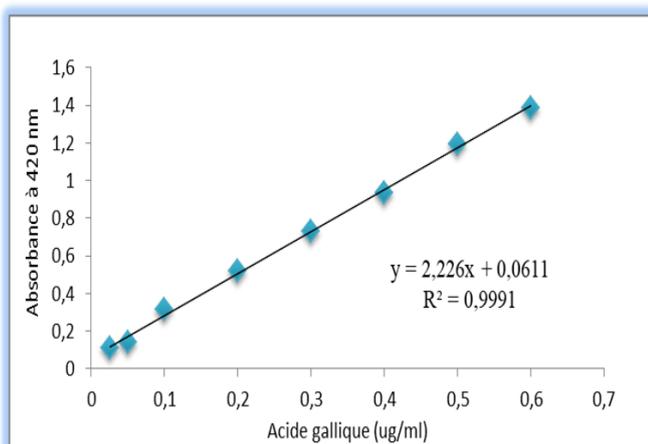


Fig.1. Courbe d'étalonnage d'acide gallique par la méthode Fast Blue BB

Moyenne \pm ES de trois essais.

Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de la SAB

L'effet maximum d'inhibition et de dénaturation de l'extrait méthanolique, à la concentration de $150 \mu\text{g}/\text{mL}$ était de 89,34%, alors que le standard du diclofénac à $150 \mu\text{g}/\text{mL}$ a montré une inhibition de 99,29% de la dénaturation de la SAB (**Tableau I**). La corrélation entre la concentration et le pourcentage d'inhibition a montré que la capacité d'inhibition de la dénaturation de la BSA dépend de la concentration de l'extrait (**Fig. 2**) ; ceci est confirmé en comparant la

Cl_{50} de l'extrait méthanolique ($\text{Cl}_{50}=0,84 \mu\text{g}/\text{mL}$) avec celle du diclofénac ($\text{Cl}_{50}=15,96 \mu\text{g}/\text{mL}$).

Le paramètre de la Cl_{50} a été utilisé pour classer l'extrait méthanolique avec le diclofénac, selon l'ordre suivant : Extrait méthanolique > diclofénac.

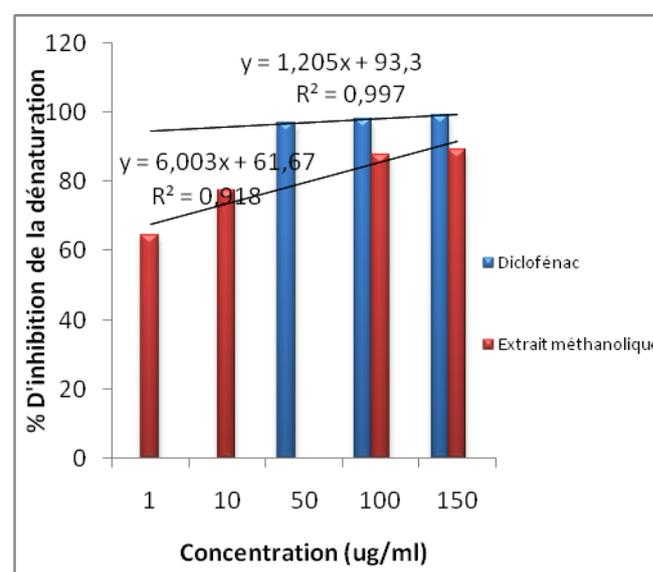


Fig.2. Corrélation entre la concentration et l'inhibition (%) Par analyse linéaire de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* avec la méthode de dénaturation des protéines sériques bovines de l'extrait méthanolique et le diclofénac. Moyenne \pm ES de trois essais.

Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine d'oeuf

Pour l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, par la méthode de dénaturation d'albumine d'oeuf, l'extrait méthanolique à la concentration de $150 \mu\text{g}/\text{mL}$ était de 93,41% d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'oeufs, alors que le diclofénac présentait un pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'oeuf de 89,77% à une concentration de $150 \mu\text{g}/\text{mL}$ (**Tableau II**). La valeur Cl_{50} obtenue par une régression linéaire, activité inhibitrice de 50%, de l'extrait méthanolique était de $9,68 \mu\text{g}/\text{mL}$, alors que

Tableau I. Effet de l'extrait méthanolique sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine

Traitements	Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Dénaturation (%)	Inhibition de la dénaturation (%)
Contrôle	---	100	0
Extrait méthanolique	1	35.49 ± 0.18	64.51 ± 0.16
Extrait méthanolique	10	22.74 ± 0.98	77.26 ± 1.05
Extrait méthanolique	100	12.37 ± 0.94	87.63 ± 1.02
Extrait méthanolique	150	10.66 ± 0.24	89.34 ± 0.09
Diclofénac	50	3.12 ± 1.08	96.88 ± 1.21
Diclofénac	100	1.81 ± 1.51	98.19 ± 1.68
Diclofénac	150	0.71 ± 1.22	99.29 ± 0.73

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES, $p < 0.05$ est considéré significatif par rapport au contrôle selon le test ANOVA.

Tableau II. Inhibition en % de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par différentes concentrations de l'extrait méthanolique par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf

Traitements	Concentration (µg/ml)	Dénaturation (%)	Inhibition de la dénaturation (%)
Contrôle	---	100	0
Extrait méthanolique	01	62.34±1.62	37.66±1.39
Extrait méthanolique	10	49.52±0.18	50.48±2.01
Extrait méthanolique	100	12.78±0.98	87.22±1.14
Extrait méthanolique	150	6.59±0.24	93.41±1.23
Diclofénac	50	33.47±1.82	66.53±1.47
Diclofénac	100	29.15±1.22	70.85±1.33
Diclofénac	150	10.23±1.09	89.77±2.15

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES, $p < 0.05$ est considéré significatif par rapport au contrôle selon le test ANOVA.

la CI_{50} du diclofénac était de 38.66 µg/mL (Fig. 3). Le paramètre de la CI_{50} a été utilisé pour classer l'extrait méthanolique avec le diclofénac selon l'ordre suivant : Extrait méthanolique > diclofénac.

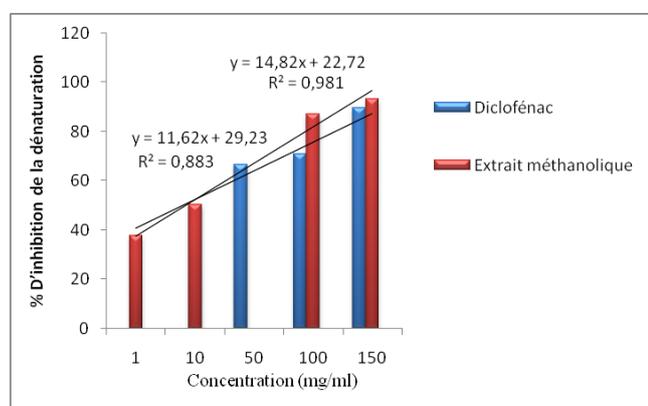


Fig.3. Concentration et dénaturation (%) de l'albumine d'œuf de l'extrait méthanolique et du diclofénac

Moyenne ± ES de trois essais.

Discussion

Le but de la présente étude était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait méthanolique des fruits de *R.canina* par deux méthodes de dénaturation des protéines (l'albumine sérique bovine et l'albumine d'œuf). Sur la base des résultats obtenus, l'effet recherché est proposé comme test pour la détection d'extraits, non seulement, pour l'activité anti-inflammatoire, mais pour une large gamme d'action biologique permettant d'isoler les composés actifs qui peuvent servir de prototypes de médicaments pour les tests finaux sur animaux.

Les composés phénoliques sont considérés comme le principal facteur contribuant à l'activité antioxydante des légumes, des fruits ou des plantes médicinales. La méthode FBBB, permet d'apprécier le contenu polyphénolique total d'un échantillon donné par une réaction directe avec une interaction entre les fonctions phénoliques et le sel de Fast Blue formant

un complexe stable [27]. Des études antérieures sur le dosage des phénols totaux des fruits entièrement mûrs de cultivars de fraises est déterminé à la fois par le test Folin-Ciocalteu et le test Fast Blue BB [28]. Ce dernier test détecte directement les composés phénoliques. Le FBBB a donné comme résultat une concentration moyenne de phénols totaux 2,9 fois supérieure au Folin-Ciocalteu [28]. Cependant, la méthode Fast Blue BB utilisée est plus coûteuse, le travail exigé est assez long et le dosage manuel de 20 échantillons dure 3h [29-31]. Cependant, cette méthode peut être automatisée pour une analyse à haut débit [27-32]. La méthode FBBB est recommandée pour le dosage des composés phénoliques totaux car elle peut être utile pour la composition des nutriments alimentaires et l'étiquetage en composés phénoliques totaux. Par ailleurs il est conseillé à ce que le dosage Folin-Ciocalteu soit remplacé dans les études futures par le dosage FBBB pour des applications avec des produits alimentaires [32,33]. La dénaturation des protéines est une cause d'inflammation bien démontrée [27-34]. Dans le cadre de l'enquête sur le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire, la capacité inhibitrice de l'extrait méthanolique a été étudiée contre la dénaturation des protéines du SAB et de l'albumine d'œuf. Nos résultats ont clairement démontré que l'extrait méthanolique, à des concentrations de 1, 10, 100 et 150 µg/mL présente une activité anti-dénaturante de la SAB de l'ordre respectif de 64,51, 77,26, 87,63 et 89,34%. Les mêmes concentrations ont montré une inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf dans l'ordre respectif des concentrations citées de 37,66, 50,48, 87,22 et 93,41%. L'extrait montre ainsi une efficacité dans l'inhibition de la dénaturation du SAB et de l'albumine d'œuf. Il est à noter l'évolution du degré d'inhibition de la dénaturation des protéines qui augmente avec la concentration de l'extrait méthanolique. Les travaux de différents auteurs montrent que la propriété anti-dénaturation des protéines est due à la présence de deux sites de

liaison dans la thréonine riche en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine des protéines [35-41]. Les molécules thérapeutiques du diclofénac pourraient également activer le récepteur riche en tyrosine couplé avec la thréonine qui régulent les voies biologiques de transduction du signal pour leur action biologique globale [42-46]. Les composés phénoliques, tels que les polyphénols, les terpénoïdes et les tanins interagissant avec les régions aliphatiques autour du résidu lysine des protéines et sont des antioxydants avec une activité anti-inflammatoire puissante [45,46]. *Rosa musquée* et *Rosa canina L.* ont traditionnellement été utilisées pour la prévention et le traitement de l'inflammation. Il a été, en particulier, rapporté que la poudre de *Rosa musquée* réduisait les symptômes associés à l'inflammation rhumatoïde dans des essais cliniques. Cet effet est lié à sa forte teneur en molécules anti-inflammatoires, comme le galactolipide GOPO (1,2-di-O- α -linolénoyl-3-O- β -D-galactopyranosyl-sn glycérol), qui peut réduire la chimiotaxie des leucocytes polymorphonucléaires périphériques du sang, des neutrophiles et des monocytes et aussi diminuer les niveaux de protéine C-réactive (CRP), une protéine produite dans le foie en réponse à l'inflammation [36-50]. De plus, il a été démontré que *Rosa musquée* et *Rosa canina L.* réduisaient la production de plusieurs cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines [49,50].

Il est également intéressant de noter que l'extrait de *R.canina* empêche la dénaturation de la SAB et de l'albumine d'œuf, a une activité antioxydante *in vitro* qui est également une caractéristique de certains anti-inflammatoires [51,52]. Nos résultats répondent à l'avis des auteurs qui conseillent que lorsque les composés stabilisent la SAB et l'albumine d'œuf à de faibles doses, ils devraient être canalisés dans un large éventail de tests *in vitro* afin d'évaluer leur potentiel en tant que prototypes de médicaments.

Conclusion

Il semblerait que les effets anti-dénaturation observés pour la SAB et l'albumine d'œuf lorsqu'elles interagissent avec l'extrait méthanolique des fruits de *R.canina* riche en polyphénols, pourraient être manipulés comme des criblages de première étape pour sélectionner des produits naturels pour le développement de médicaments thérapeutiques. Notre étude avait clairement démontré que l'extrait méthanolique possède une activité anti-dénaturation aux doses plus faibles qui sont à sélectionner pour des écrans à large spectre en vue de développer une

large gamme de médicaments thérapeutiques. Des études complémentaires sont recommandées pour isoler le principe actif responsable de ces activités.

Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

Références

1. Cabrera RI., Yield R. dry matter partitioning and nutrient status responses to rootstock selection, *Sci. Hortic* 2002; 95 : 75-83.
2. Nazari F., Khosh-Khui M., Salehi H. Growth and flower quality of four *Rosa hybrida L.* cultivars in response to propagation by stenting or cutting in soilless culture, *Sci. Hortic* 2009;119: 302- 5.
3. Ghazghazi H., Miguel MG., Hasnaoui B., Sebai H., Ksontini M., Figueiredo AC. et al. Phenols, essential oils and carotenoids of *Rosa canina* from Tunisia and their antioxidant activities, *Afr. J. Biotechnol* 2010; 9 (2010) 2709-16.
4. Orhan DD., Hartevioğlu A., Küpell E., Yeşilada E., In vivo antiinflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina L.* fruits, *J. Ethnopharmacol* 2007; 112: 394-400.
5. Wenzig EM., Widowitz U., Kunert O., Chrubasik S., Bucar F., Knauder E., et al. Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina L.*) preparations, *Phytomedicine* 2008;15 : 826-35.
6. Christensen R., Bartels EM., Altman RD., Astrup A., Bliddal H. Does the hip powder of *Rosa canina* (rosehip) reduce pain in osteoarthritis patients? - a meta-analysis of randomized controlled trials, *Osteoarthr. Cartilage* 2008;16: 965-72.
7. Yeşilada E., Honda G., Sezik E., Tabata M., Fujita T., Tanaka T. et al. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains, *J. Ethnopharmacol* 1995;46: 133-52.
8. Kharazmi A., Winther K. Rose hip inhibits chemotaxis and chemiluminescence of human peripheral blood neutrophils in vitro and reduces certain inflammatory parameters in vivo, *Inflammopharmacology* 1999;7: 377-86.
9. Pincemail J., Degruene F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne JO. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des

- marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutr Clin Métabolisme* 2007;21: 66-75.
10. Renaud A. Fer, vitamine C et acide folique : convergence sanguine, *J Pédiatr Puer* 2003;16: 281-83.
 11. Ercisli S. Chemical composition of fruit in some rose (*Rosa* spp.) species, *Food Chem* 2007;104: 1379-84.
 12. Abdullahi MN., Ilyas N., Ibrahim H. Evaluation of phyto-chemical screening and analgesic activity of aqueous extract of the leaves of *Microtrichia perotitii* dc (Asteraceae) in mice using hotplate method. *Med Plant Res* 2013;3: 37-43.
 13. Aiyelaagbe OO., Osamudiamen PM. Phytochemical screening for active compounds in *Mangifera indica* leaves from Ibadan, Oyo State. *Plant Sci Res* 2009;2: 11-3.
 14. Alothman M., Bhat R., Karim AA. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. *Trends Food Sci Technol* 2009;5: 201-12.
 15. Abad MJ., Bedoya LM., Apaza L., Bermejo P. The *Artemisia* L. Genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules* 2012;17: 2542-66.
 16. Bakchiche B., Gherib A. Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie [Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia]. *Int J Innovation Applied Studies* 2014;9: 167-72.
 17. Chaouche TM., Haddouchi F., Ksouri R., Atik-Bekkara F. Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *J Chinese Med Assoc* 2014;77: 302-7.
 18. Grant NH., Alburn HE., Kryzanasuska C. Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochem Pharmacol* 1970;19: 715-22.
 19. Williams L., Hibbert S., Porter R., Bailey-Shaw Y., Green C. Jamaican plants with in vitro antioxidant activity. Research Signpost. In *Biologically active natural products for the 21st Century*. LAD Williams (ed.) 2006, pp.1-12.
 20. Williams L., Vasquez E., Milan P., Zebitz C., Kraus W. In vitro anti-inflammatory and anti-microbial activities of phenylpropanoids from Piper betle (*Piperaceae*). In *Proceeding of the Phytochemical Society of Europe: Natural products in the new millennium: Prospects and industrial application*. AP Rauter, PB Palma, J. Justino, Araujo ME, Santos SP (Eds). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. *The Netherlands*. 2002; 74: 221-27.
 21. Singh P., Simon O., Donaldson K. Investigation of the anti-inflammatory properties of leaves of *Artocarpus altilis* (breadfruit). *West Indian Med J* 2001;50 (5): 15-7.
 22. Sadler P., Tucker A. Proton NMR studies of bovine serum albumin. Assignment of spin systems. *Eur J Biochem* 1992;205: 631-43.
 23. Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., Maïga A. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chim* 2004;7: 1073-80.
 24. Fetni S., Bertella N., Ouahab A., Zapater J., Fernandez S. Composition and biological activity of the Algerian plant *Rosa canina* L. by HPLC-UV-MS. *Arab J Chem* 2020;13(1): 1105-19.
 25. Williams L., O'Connar A., Latore L., Dennis O., Ringer S., Whittaker J. The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med J* 2008;57: 327-31.
 26. Chandra S., Chatterjee P., Dey P., Bhattacharya S. Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012;2(1): S178-S80.
 27. Medina MB. Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. *J Agricult Food Chem* 2011;59: 1565-71.
 28. Medina MB. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. *J Funct Foods* 2011;3: 79-87.
 29. Cicco N., Lattanzio V. The influence of initial carbonate concentration on the Folin-Ciocalteu micro-method for the determination of phenolics with low concentration in the presence of methanol: a comparative study of real-time monitored reactions. *Am J Analytic Chem* 2011; 2: 840-8.
 30. Lester G., Lewers K., Medina M., Saftner R. Comparative analysis of strawberry total phenolics via Fast Blue BB vs. Folin-Ciocalteu: Assay interference by ascorbic acid. *J Food Compos Anal* 2012;27: 102-7.

31. Barros L., Carvalho A., Ferreira I. Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. *Food Res Int* 2011;44: 2233-6.
32. İlbay Z., Şahin S., Kirbaşlar Ş. Investigation of Polyphenolic Content of Rose Hip (*Rosa canina* L.) Tea Extracts: A Comparative Study. *Foods* 2013; 2: 43-52.
33. Guimarães R., Barros L., Calheta R., Carvalho A., Ferreira I. Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from north-eastern Portugal: A comparative study. *Plant Foods Hum Nutr* 2014;69: 37-42.
34. Brooks P. The burden of musculoskeletal disease: A global perspective. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 778-81.
35. Kirkeskov B., Christensen R., Bügel S., Bliddal H., Danneskiold-Samsøe B., Porskjær L. et al. The effects of rose hip (*Rosa canina*) on plasma antioxidative activity and c-reactive protein in patients with rheumatoid arthritis and normal controls: A prospective cohort study. *Phytomedicine* 2011;18: 953-8.
36. Rein E., Kharazmi A., Winther K. A herbal remedy, hyben vital (stand. Powder of a subspecies of *Rosa canina* fruits), reduces pain and improves general wellbeing in patients with osteoarthritis—a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Phytomedicine* 2004;11: 383-91.
37. Williams L., Rosner H., Conard J., Moller W., Beifuss U., Chiba K. Selected secondary metabolites from Phytolaccaceae and their biological/ pharmaceutical significance, Research Signpost. *Recent Res Devel Phytochem* 2002;6 :13-68.
38. Rosner H., Williams L., Jung A., Kraus W. Disassembly of microtubules and inhibition of neurite outgrowth, neuroblastoma cell proliferation, and MAP kinase tyrosine dephosphorylation by dibenzyl trisulphide. *Biochim Biophys Acta* 2001;1540: 166-77.
39. Tatti P., Anitha S., Shashidhara S., Deepak M., Bidari S. Evaluation of in-Vitro Anti-Denaturation Activity of Isolated Compound of *Butea Monosperma* Bark. *Pharma Sci Monit* 2012;3: 2314-20.
40. Schwager J., Richard N., Schoop R., Wolfram S. A novel rose hip preparation with enhanced anti-inflammatory and chondroprotective effects. *Mediators Inflamm* 2014; 23: 1-10.
41. Yan M., Zhu Y., Zhang HJ., Jiao WH., Han BN., Liu ZX. et al. Anti-Inflammatory secondary metabolites from the leaves of *Rosa laevigata*. *Bioorg Med Chem* 2013;21: 3290-7.
42. Alaoui K., Dongmoe A., Cherrah Y., Kamtchouing P. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* STANER L.C. (Guttiferae). *J. Ethnopharmacol* 2007;114: 417-24.
43. Aouey B., Samet A., Fetoui H., Simmonds M., Bouaziz M. Anti-oxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of grapevine leaf extract (*Vitis vinifera*) in mice and identification of its active constituents by LC-MS/MS analyses. *Biomed Pharmacother* 2016;84: 1088-98.
44. Augusto L., Josean F., Marcelo S., Margareth F., Diniz M., de Athayde-Filho P. et al. Anti-inflammatory activity of alkaloids : an update from 2000 to 2010. *Molecules* 2011;16: 8515-34.
45. Choi S., Saxena N., Dhammu T., Khan M., Singh AK., Singh I., Won J. Regulation of endothelial barrier integrity by redox-dependent nitric oxide signaling: Implication in traumatic and inflammatory brain injuries. *Nitric Oxide Biol Chem* 2018;1(83): 51-64.
46. Clemenzi M., Wellhauser L., Aljghami M., Belsham D. Tumour necrosis factor alpha induces neuroinflammation and insulin resistance in immortalized hypothalamic neurons through independent pathways. *J Neuroendocrinology* 2018;31(1): 1-11.
47. Dhingra A., Chopra B., Bonthagarala B. Natural Anti-Inflammatory Agents: Recent Progress and Future Perspectives. *Annals Pharmacol Pharmaceutics* 2018;3(5): 1158.
48. Forrester S., Kikuchi D., Hernandez M., Xu Q., Griendling K. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation Res* 2018;122: 877-902.
49. Kupcova K., Stefanova I., Plavcova Z., Hosek J., Hrouzek P., Kubec R. Antimicrobial, cytotoxic, anti-inflammatory, and antioxidant activity of culinary processed Shiitake medicinal mushroom (*Lentinus edodes*, Agaricomycetes) and its major sulfur sensory-active compound Lenthionine. *Int J Medicinal Mushrooms* 2018;20(2): 165-75.
50. Erdogan B., Is M., Aker F., Emon S., Engin T., Akar EA. et al. Preventative effect of diclofenac sodium and/or diltiazem in rats with epidural fibrosis. *Bratislavske Lekarske Listy* 2019;120 (11): 813-8.
51. Gomes D., de Alencar M., dos Reis A., de Lima R., de Oliveira Santos J., Mata A. et al. Antioxidant,

Composés bioactifs

- anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action. *Biomed Pharmacotherapy* 2019;112: 108643.
52. Fetni S., Bertella N., Ouahab A. LC-DAD/ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in *Rosa canina* L. and Its Protective Effect in cells. *Biomed Chromatography* 2020;34(12): 1-17.