

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
رقم الجرد : 2.693



Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire

جامعة جيجل

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Pharmacologie Expérimentale

Intitulé

**Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et
antalgique des extraits polyphénoliques de quelques
plantes chez la souris**

Membres de Jury :

Président : Dr. RECHRECHE Hocine
Examineurs : Dr. ALYANE Mohamed
Dr .BENGUEDOUAR Lamia
Encadreur : Dr. KEBIECHE Mohamed

Présenté par :

BELHIMER Nassiha
BOULAHIDID Nesma
LATIQUI Samira

Année Universitaire : 2012/2013



Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent aux êtres les plus chers au monde «Nos parents» pour tous les efforts et les sacrifices qu'ils ont entrepris afin de nous voir réussir. Nous les remercions pour l'éducation qu'ils nous ont prodigué, leur présence permanente et leur disponibilité sans faille durant tout notre cursus du primaire à l'université et de nous avoir soutenu dans nos choix d'orientation.

Nous tenons particulièrement à remercier Dr. KEBIECHE Mohamed, d'avoir accepté la charge d'être l'encadreur de ce mémoire. Nous le remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il avait consentis durant la rédaction de ce mémoire. Il reste pour nous un exemple à suivre. Merci !

A Mme BOUTENOUNE Hanane et Mlle BOUSSOUF

Lylia nous adressons nos plus sincères gratitude, pour leur générosité scientifique et soutien moral.

Nous remercions Dr RECHRECHE Hocine, Dr. ALYANE Mohamed et Dr. BENGUEDOUAR Lamia d'avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.

Nous remercions infiniment Mme Houria et Mme Nassiha du laboratoire de pédagogie, ainsi que tous les ingénieurs et techniciens pour leur patience, leur présence et leur bienveillance à ce qu'on aura tous le matériel et les produits nécessaires à notre travail, nous les remercions infiniment aussi pour leur assistance et collaboration.

Nous remercions tendrement nos famille et nos proches amies qui nous ont toujours soutenues et encouragées même dans les périodes les plus difficiles, merci pour votre soutien inépuisable !

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Samira, Nesma et Nassiha.



Sommaire

| | |
|--|----|
| Introduction | 1 |
| Partie I: Analyse bibliographique | |
| Chapitre 1. Inflammation | 2 |
| 1. Définition..... | 2 |
| 2. Facteurs étiologiques de l'inflammation | 2 |
| 2.1. Agents exogènes..... | 2 |
| 2.2. Agents endogènes..... | 2 |
| 3. Différentes formes des réactions inflammatoires | 2 |
| 3.1. Inflammation aiguë..... | 2 |
| 3.1.1. Phase vasculaire | 2 |
| 3.1.2. Phase cellulaire..... | 3 |
| 3.1.3. Phase de résolution et de cicatrisation | 4 |
| 3.2. Inflammation chronique | 4 |
| 4. Examens biologiques explorant les états inflammatoires..... | 5 |
| 4.1. Protéines de l'inflammation | 5 |
| 4.2. La vitesse de sédimentation (VS) | 5 |
| 4.3. L'hémogramme | 6 |
| 4.4. L'électrophorèse des protéines sériques..... | 6 |
| 5. Antiinflammatoires..... | 6 |
| 5.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) | 6 |
| 5.1.1. Effet génomique des glucocorticoïdes | 7 |
| 5.1.2. Effets anti-inflammatoires des glucocorticoïdes | 7 |
| 5.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... | 8 |
| 5.2.1. Mécanisme d'action des AINS..... | 8 |
| 6. Anti-inflammatoires d'origine végétale | 9 |
| 7. Génération des EORs par le processus inflammatoire | 9 |
| 7.1. Définition | 9 |
| 7.2. Espèces réactives oxygénées (EOR)..... | 9 |
| 7.2.1. Radical superoxyde (O_2^{\cdot})..... | 9 |
| 7.2.2. Radical hydroxyle (HO^{\cdot})..... | 10 |
| 7.2.3. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)..... | 10 |
| 7.2.4. Acide hypochloreux (HOCl)..... | 11 |
| 7.2.5. Radical NO^{\cdot} | 11 |
| 7.2.6. Lipoxygénase et l'acide arachidonique | 11 |
| 7.3. Systèmes de défense antioxydants | 11 |
| 7.3.1. Antioxydants enzymatiques | 11 |
| 7.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD) | 11 |
| 7.3.1.2. Catalase (CAT)..... | 12 |
| 7.3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)..... | 12 |
| 7.3.2. Antioxydants non enzymatiques | 12 |
| 7.3.2.1. Glutathion (GSH) | 12 |
| 7.3.2.2. Vitamine E..... | 12 |
| 7.3.2.3. Vitamine C | 13 |
| 7.3.2.4. β carotène | 13 |
| 7.3.2.5. Polyphénols | 13 |
| 7.4. Dégâts oxydatifs cellulaires des ROS..... | 13 |
| 7.4.1. Peroxydation lipidique | 13 |
| 7.4.2. Oxydation des protéines | 14 |
| 7.4.3. Oxydation d'acide désoxyribonucléique | 15 |
| Chapitre 2: Généralité sur les polyphénols | 16 |
| 1. Définition des polyphénols..... | 16 |

| | |
|--|----|
| 2. Classification des polyphénols | 16 |
| 2.1. Acides phénols..... | 16 |
| 2.2. Flavonoïdes | 16 |
| 2.3. Tannins | 17 |
| 3. Propriétés pharmacologiques des polyphénols..... | 17 |
| 3.1. Action antioxydantes des polyphénols..... | 18 |
| 3.2. Action anti-inflammatoires des polyphénols..... | 18 |
| 4. Les plantes médicinales sélectionnées..... | 19 |
| 4.1. <i>Achillea odorata</i> | 19 |
| 4.2. <i>Eucalyptus globulus</i> | 20 |
| 4.3. <i>Mentha rotundifolia</i> | 21 |
| 4.4. <i>Urtica dioica</i> | 21 |

Partie II: Etude expérimentale

| | |
|--|----|
| 1. Matériel et méthodes | 23 |
| 1.1. Matériel végétal, méthode d'extraction et dosages des polyphénols | 23 |
| 1.1.1. Matériel végétal | 23 |
| 1.1.2. Extraction des polyphénols | 23 |
| 1.1.3. Dosage des polyphénols totaux | 24 |
| 1.1.4. Dosage des flavonoïdes | 24 |
| 1.1.5. Dosage des tannins | 24 |
| 1.2. Animaux et étude <i>in vivo</i> | 25 |
| 1.2.1. Entretien des animaux | 25 |
| 1.2.2. Répartition et traitements des animaux | 25 |
| 1.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques | 25 |
| 1.2.3.1. Mesure du volume de l'œdème induit par la carragénine | 26 |
| 1.2.3.2. Prélèvement du sang et évaluation des indicateurs sanguins de l'inflammation..... | 26 |
| 1.2.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits polyphénolique..... | 26 |
| 1.2.4.1. Prélèvement du foie et extraction du cytosol | 26 |
| 1.2.4.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques | 26 |
| 1.2.4.3. Evaluation de l'activité antalgique des composés phénoliques..... | 27 |
| 2. Evaluation statistique | 28 |

Partie III: Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Etude phytochimique | 30 |
| 1.1. Extraction des polyphénols | 30 |
| 1.2. Teneurs en composés phénoliques des différents extraits..... | 30 |
| 2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques <i>in vivo</i> | 32 |
| 2.1. Mesure de l'œdème de patte arrière droite des souris | 32 |
| 2.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits polyphénoliques et un anti-inflammatoire de référence l'Ibuprofène | 35 |
| 2.3. Evaluation des indicateurs sanguins de l'inflammation..... | 38 |
| 2.3.1. Les résultats des analyses hématologiques..... | 38 |
| 2.4. Evaluation des différents paramètres du statut redox dans le foie | 40 |
| 2.4.1. Dosage de malonyldialdéhyde (MDA)..... | 40 |
| 2.4.2. Evaluation de glutathion hépatique (GSH) | 42 |
| 2.4.3. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes | 43 |
| 2.4.3.1. Evaluation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD) | 43 |
| 2.4.3.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT) | 44 |
| 2.4.3.3. Mesure de l'activité du glutathion S-transférase cytosolique (GST) | 45 |
| 2.5. Etude de l'activité antalgique des extraits polyphénoliques | 47 |

| | |
|-----------------|----|
| Conclusion..... | 50 |
|-----------------|----|

Références bibliographique

Annexes

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Principaux évènements dans la réaction inflammatoire aiguë simple..... | 3 |
| Figure 2: Etapes de la migration des leucocytes dans les tissus..... | 4 |
| Figure 3: Structure chimique de noyau prégnane..... | 6 |
| Figure 4: Effet génomique des glucocorticoïdes schématisé | 7 |
| Figure 5: Cascade arachidonique et site d'action des anti-inflammatoires. | 8 |
| Figure 6 : Principaux sources des EORs | 10 |
| Figure 7: Réactions en chaîne de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux..... | 14 |
| Figure 8: Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire..... | 14 |
| Figure 9: Illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (addition sur les doubles liaisons) avec une base de l'ADN, la guanine..... | 15 |
| Figure 10: Les principaux acides phénoliques..... | 16 |
| Figure 11: Squelette de base des flavonoïdes..... | 17 |
| Figure 12: La structure chimique de certains flavonoïdes..... | 17 |
| Figure 13: Exemples de tannins..... | 17 |
| Figure 14: Inhibition de la lipoxygénases et de la cyclo-oxygénases sous l'action de différents flavonoïdes | 19 |
| Figure 15: <i>Achillea odorata</i> dans son milieu naturel..... | 19 |
| Figure 16: <i>Eucalyptus globulus</i> dans son milieu naturel..... | 20 |
| Figure 17 : <i>Mentha rotundifolia</i> dans son milieu naturel..... | 21 |
| Figure 18 : <i>Urtica dioïca</i> dans son milieu naturel..... | 22 |
| Figure 19 : Résultats de rendement d'extraction au méthanol des feuilles des quatre plantes..... | 30 |
| Figure 20: Effet de l'extrait brut d' <i>A.odorata</i> et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine..... | 32 |
| Figure 21 : Effet de l'extrait brut de <i>E. globulus</i> et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine..... | 33 |
| Figure 22: Effet de l'extrait brut de <i>M. rotundifolia</i> et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine..... | 34 |
| Figure 23: Effet de l'extrait brut de <i>U. dioïca</i> et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine..... | 34 |
| Figure 24 : Le pourcentage des lymphocytes chez les souris traitées par les différents extraits polyphénolique..... | 38 |
| Fig.25 : Le pourcentage des granulocytes chez les souris traitées par des différents extraits polyphénoliques..... | 39 |
| Figure 26 : Le nombre des globules blancs chez les souris traité par les différents extraits polyphénolique..... | 39 |
| Figure 27 : Variation du MDA cytosolique des hépatocytes des différents lots traités ou non par les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées..... | 41 |
| Figure 28: Variation de l'activité du GSH cytosolique des différents groupes traités ou non par les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées..... | 42 |
| Figure 29: Variation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase cytosolique des différents groupes traités ou non par les extraits polyphénoliques..... | 44 |
| Figure 30 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique hépatique chez les différents groupes de souris traités ou non par les extraits polyphénolique..... | 45 |
| Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique du GST cytosolique des hépatocytes des différents groupes de souris traités ou non par les extraits polyphénoliques..... | 46 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I: Électrophorèse des protéines sériques normales..... | 6 |
| Tableau II: Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoires | 9 |
| Tableau III: Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme..... | 18 |
| Tableau IV : Evaluation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins des différents extraits des plantes étudiées..... | 31 |
| Tableau V : Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits polyphénoliques et un anti-inflammatoire de référence l'Ibuprofène..... | 36 |
| Tableau VI: Les résultats des analyses hématologiques de la CRP..... | 40 |
| Tableau VII : Nombre des crampes abdominales chez des lots de souris prétraitées ou non par des extraits méthanoliques après 20min de l'injection de l'acide acétique (1%, IP)..... | 48 |

Liste des abréviations

- 8-OHG:** 8-hydroxy-guanine.
AA: Acide arachidonique.
ACTH: Adénocorticotrophine.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.
AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.
ATP : Adénosine triphosphate.
BBC : Bleu de Coomassie.
BSA : Albumine sérum bovin
CAT : Catalase.
CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée.
COX : Cyclooxygénase.
CRP: Protéine C-Réactive.
DTNB : 5-5'-DiThiobis (2- acide NitroBenzoïque).
EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique.
EORs : Espèces oxygénées réactives.
FLO[•] : Radical flavoxyle.
FNS: Formule de numérotation sanguine
GPx : Glutathion peroxydase.
GR : Glutathion réductase.
GSH : Glutathion.
GST : Glutathion s transférase.
GSSG : Glutathion oxydé.
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.
HO[•] : Radical hydroxyle.
HOCl: Acide hypochloreux.
HSP: Heat Shock Protein.
IL: Interleukines.
IP : Intrapéritonéal
MDA : Malondialdéhyde.
MPO : Myéloperoxydase.
NaCN : Cyanide de sodium.
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
NBT: Nitrobleue-tétrazolium.
NF-κB : Facteur nucléaire -kappa B.
NO[•] : Monoxyde d'azote.
NOS : Nitric Oxide Synthases.
iNOS : synthase inductible de NO
O₂[•] : Radical superoxyde.
OH[•] : Le radical hydroxyl
ONOO[•] : Peroxynitrite
PAF : facteur d'activation plaquettaire.
PNNs: Polynucléaires neutrophiles.
SAA: Sérum amyloïde A.
SOD : Superoxyde dismutase.
TBA : Acide thiobarbiturique.
TCA: Acide trichloracétique.
TEP: Tétraoxypropane
TGF-β1: Transforming growth factor beta.
TNF-α : Facteur de nécrose tumorale alpha.

UI : Unité internationale.

VS: Vitesse de sédimentation.

Analyse Bibliographique

Analyse Bibliographique

L'inflammation est la réponse des tissus vivants à une agression ; elle constitue l'un des mécanismes les plus importants des défenses de l'organisme. Bien que bénéfique, car elle permet d'éliminer l'agent pathogène, l'inflammation peut devenir néfaste notamment en causant de nombreux dommages tissulaires suite à une activité très importante des cellules inflammatoires, une libération accrue d'espèces réactives oxygénées ou à une trop grande agressivité de l'agent pathogène (Russo-Marie et coll., 1998). De nos jours, l'athérosclérose, l'asthme, le cancer et beaucoup d'autres maladies peuvent être associés à une inflammation chronique (Parke et Parke, 1997; Macarthur et coll., 2004).

Le traitement de telles maladies, long, coûteux et parfois inaccessible à la plupart des populations pauvres, nécessite l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdiens (AIS). Les anti-inflammatoires (AINS et AIS) agissent sur les effets initiateurs ou amplificateurs de l'inflammation (migration des cellules inflammatoires, libération de prostaglandines et leucotriènes, ERO...). Toutefois, l'utilisation des molécules anti-inflammatoires, essentiellement d'origine synthétique, n'est pas sans effets nocifs pour l'organisme; notamment, l'usage prolongé des AINS qui peut entraîner des troubles au niveau du tractus gastro-intestinal et des toxicités au niveau du rein et de la peau (Ng, 1992).

Dès lors, la recherche de biomolécules actives dotées de faibles effets secondaires s'avère donc nécessaire. De telles biomolécules sont présentes dans les plantes qui constituent, parfois, la seule source de traitement pour les populations pauvres (OMS, 2002; Kumaraswamy et coll., 2010).

Actuellement, beaucoup de travaux se penchent sur l'étude des métabolites secondaires des plantes ce qui pourrait constituer une alternative dans la thérapeutique notamment la thérapeutique infectieuse, anticancéreuse, antidiabétique et anti-inflammatoire.

Les composés phénoliques, d'un nombre important de métabolites secondaires végétaux, sont connus par leurs larges gammes d'activités biologiques, y compris les propriétés anticancéreuses, antibactériennes, antioxydantes, antidiabétiques et anti-inflammatoires. L'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits des plantes est donc d'un grand intérêt pour la valorisation de la médecine traditionnelle.

Cette problématique représente l'ossature de notre étude et de celle-ci se dégagent plusieurs lignes directrices à savoir :

- L'étude phytochimique des feuilles des quatre espèces végétales, *Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* en réalisant l'extraction de leurs composés phénoliques et les dosages spectrophotométriques des différents groupes polyphénoliques.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits polyphénoliques préparés à différentes concentrations sur l'œdème inflammatoire aiguë de la patte des souris induit par la carragénine.
- L'évaluation du potentiel antioxydant *in vivo* des extraits.
- L'évaluation de l'effet antalgique *in vivo* de différentes concentrations des extraits polyphénoliques par le test de l'acide acétique chez les souris.

Chapitre I : Inflammation

1. Définition

L'inflammation est définie comme une réaction physiologique de l'organisme face à des agressions tels que les infections, les lésions tissulaires, les brûlures, les allergies... (Kindt et *al.*, 2008; Yoon et Baek, 2005). Habituellement, l'inflammation est un processus bénéfique et de courte durée, son but est d'éliminer les agents pathogènes ou de réparer les lésions tissulaires (Hennen, 1996). Ce processus inflammatoire fait intervenir les cellules du système immunitaire, des molécules plasmatiques, des modifications de la matrice extracellulaire et de nombreux médiateurs chimiques pro ou anti-inflammatoires pouvant modifier ou entretenir la réponse inflammatoire (Weill et *al.*, 2003). Quelle que soit la nature de l'agent déclenchant, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs mais avec des intensités, des durées et d'impact lésionnel variables (Verhaeghe, 2007). La réaction inflammatoire est caractérisée par quatre signes cardinaux qui sont rougeur, œdème, chaleur et douleur (Weill et *al.*, 2003; Peltier et *al.*, 1998).

2. Facteurs étiologiques de l'inflammation

2.1. Agents exogènes

L'inflammation peut être causée par des facteurs physiques tels que les brûlures, la chaleur, le froid, l'électricité, piqûre, coupure, contusion et les rayonnements ionisants. Également par des agents chimiques comme les acides, les bases et des substances minérales diverses et aussi par des agents biologiques tels que les microorganismes pathogènes (virus, bactéries, parasites, champignons) et certains produits comme le venin, le pollen et les toxines (Dieng, 1993; Bayes, 1997; Peltier et *al.*, 1998).

2.2. Agents endogènes

Ce sont les antigènes, les auto-antigènes, les complexes immuns circulants et les cristaux formés dans les liquides biologiques (urates, cholestérol...) (Bayes, 1997; Peltier et *al.*, 1998).

3. Différentes formes des réactions inflammatoires

3.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë se développe en quelques minutes, sa persistance relève du type d'agression (Genetet, 1997), sa durée est relativement courte (de quelques minutes à trois jours) (Vaubourdolle, 2007). Elle peut être divisée en trois grandes phases:

3.1.1. Phase vasculaire

L'activation des plaquettes qui survient suite à une lésion tissulaire touchant ou pas les veinules ou les artérioles, constitue la première étape de la phase vasculaire (Steinhubl, 2007). Les mastocytes résidents qui peuvent aussi être activés par un très grand nombre de stimuli, sont également susceptibles d'initier la réaction inflammatoire (Botting et Botting, 2000), (figure 1). Une fois ces deux types de cellules activés, plusieurs médiateurs chimiques tels que la sérotonine, l'histamine et des dérivés de l'acide arachidonique (AA) sont libérés (Hennen, 1996). D'une autre part, l'activation de la cascade de coagulation et du système du complément qui surviennent suite à une agression externe conduit à la génération de divers médiateurs doués d'activités vasodilatatrice et chimioattractante comme le facteur Hageman (facteur XII), la

fibrine, la bradykinine et les anaphylatoxines (C5a, C3a) (Fauve et Hevin, 1998; Polla *et al.*, 1993). Ceci induit une vasodilatation des vaisseaux sanguins avec une augmentation du débit local et une modification de la perméabilité vasculaire. Cette dernière est due à l'augmentation des fenêtres intercellulaires, ce qui permet l'exsudation plasmatique (Weill *et al.*, 2003). Cette dernière induit un œdème par distension des tissus et provoque une hyperpression sur les terminaisons nerveuses locales, ce qui explique les sensations de tuméfactions et de douleur (Weill *et al.*, 2003; Peltier *et al.*, 1998). L'augmentation du débit microcirculatoire au niveau du site enflammé explique partiellement l'apparition de chaleur et de rougeur.

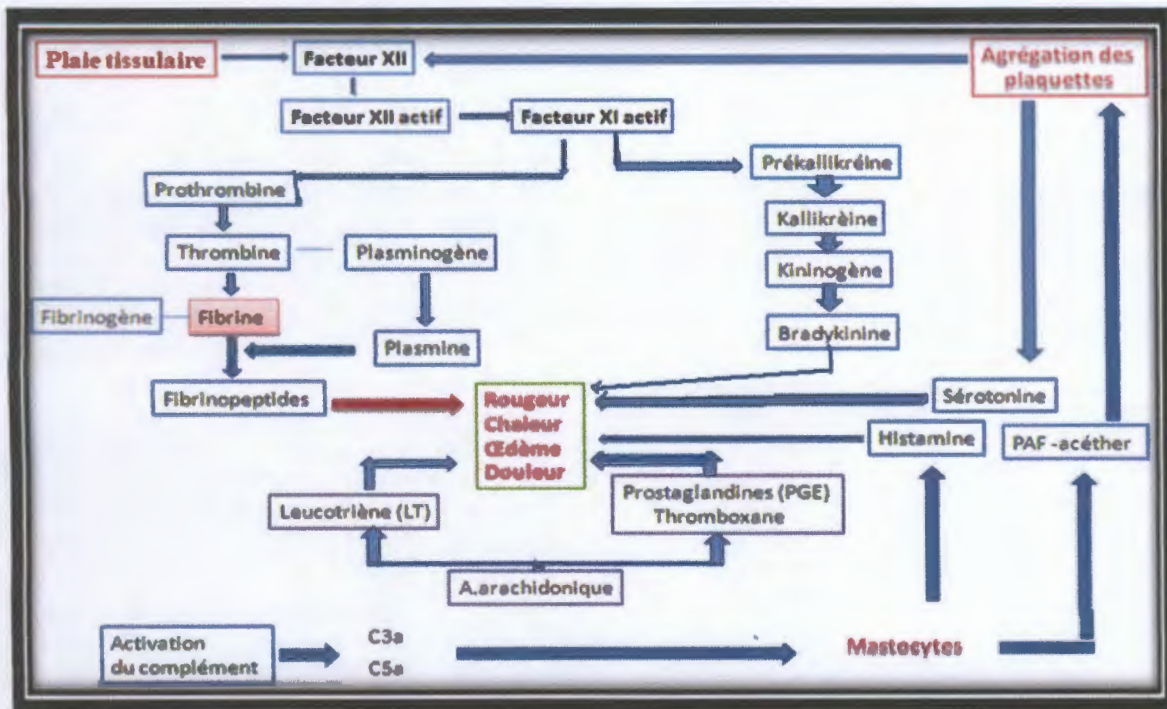


Fig. 1: Principaux événements dans la réaction inflammatoire aiguë simple (Genetet, 1997; Male, 2005).

3.1.2. Phase cellulaire

L'exsudation plasmatique permet l'apparition de plusieurs substances dans les espaces extravasculaires: anticorps, substances bactéricides, facteurs de coagulation, composants du complément, kininogènes, interleukines, interférons et des dérivés de l'acide arachidonique (Hennen, 1996; Polla *et al.*, 1993). Ceci conduit à un afflux extravasculaire des leucocytes attirés par les chimioattractants existants dans l'exsudat et ceux libérés au niveau du site enflammé (Schoroderet, 1992). La première étape de cet afflux consiste en une marginalisation des leucocytes grâce à l'expression d'adhésines (intégrines, sélectines, membres de la superfamille des immunoglobulines) au niveau des cellules endothéliales et des leucocytes activés (figure 2), (Fauve et Hevin, 1998). Ceci permet l'interaction entre l'endothélium et les phagocytes du sang, principalement les polynucléaires neutrophiles (PNNs) et les monocytes, et leur passage à travers les cellules endothéliales contractées sous l'effet de certains médiateurs inflammatoires tel que la bradykinine et certains dérivés de l'acide arachidonique (Schoroderet, 1992; Peltier *et al.*, 1998; Fauve et Hevin, 1998; Hennen, 1996). Guidées par le gradient de concentration des chimioattractants, les leucocytes parviennent au tissu lésé (Weill *et al.*, 2003). Les monocytes achèvent leur différenciation en macrophages et amorcent avec les PNNs la phagocytose des agents, extérieurs et/ou des débris cellulaires (Genetet, 1997). De nombreuses protéases (collagénase, élastase) et des radicaux libres dérivés du métabolisme de l'oxygène et du

monoxyde d'azote sont produits au cours de la phagocytose. Les effets cytotoxiques locaux de ces produits sont très importants (Fauve et Hevin, 1998).

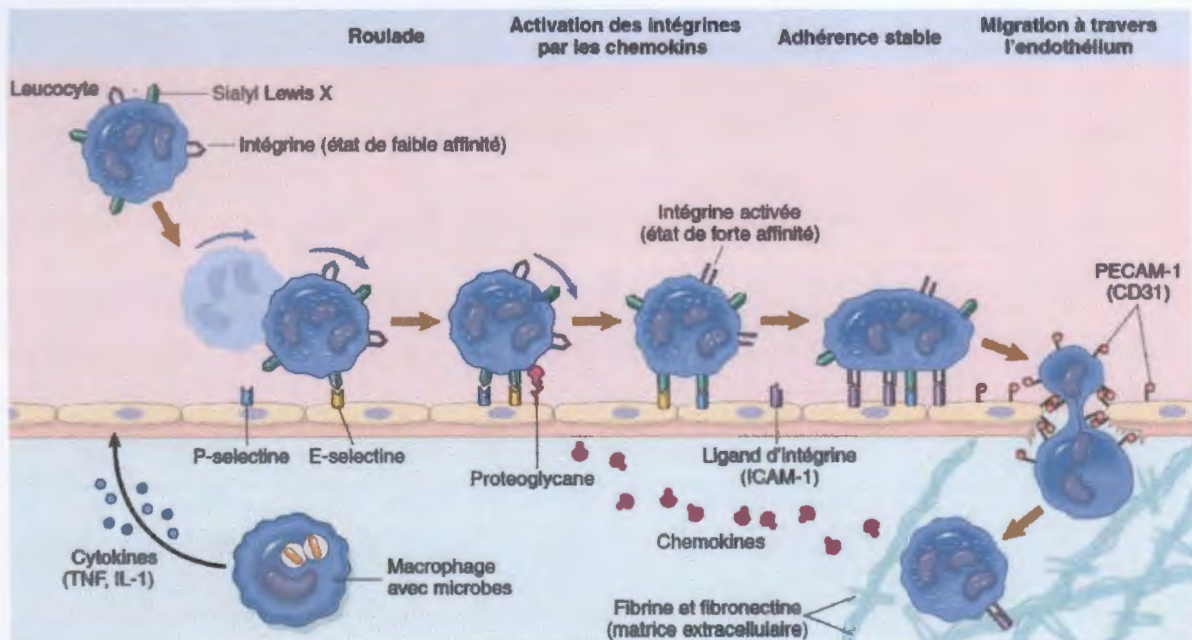


Fig. 2: Etapes de la migration des leucocytes dans les tissus (Male, 2005; Chevalier *et al.*, 2005; Carlos *et al.*, 1994).

3.1.3. Phase de résolution et de cicatrisation

Le rétablissement de l'homéostasie tissulaire après une agression nécessite d'abord l'arrêt de la réponse inflammatoire et ensuite la réparation des tissus lésés (Genetet, 1997). L'arrêt de la réponse inflammatoire fait intervenir plusieurs médiateurs tels que les cytokines anti-inflammatoires (interleukine 10 (IL-10) et tumor growth factor β 1 (TGF- β 1)), l'expression des récepteurs solubles comme le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et l'apoptose des cellules inflammatoires (Eming *et al.*, 2007; Butcher, 1991). La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Peltier, 1998). Dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles. Les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages (Hennen 1996). Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps à la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes (Peltier, 1998). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction tissulaire, ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui produisent les protéines de la matrice intercellulaires comme le collagène, la fibronectine et la laminine, pour permettre la reconstruction des tissus (Weill *et al.*, 2003; Vaubourdolle, 2007).

3.2. Inflammation chronique

Dans sa première étape, ce type d'inflammation ressemble à l'inflammation aiguë, mais les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes (Fauve et Hevin, 1998). Le meilleur critère de chronicité est une durée supérieure à six semaines, elle peut se prolonger tout au long de la vie de l'individu (Weill, 2003; Stevens *et al.*, 2004; Peltier, 1998). Les principales caractéristiques de l'inflammation chronique sont la persistance de la lésion tissulaire, due en général aux cellules inflammatoire de l'infiltrat, la présence d'un infiltrat inflammatoire chronique (constitué des cellules des lignée lymphocytaires et monocytaires) et l'existence d'une fibrose (Stevens *et al.*, 2004; Dombrowicz et Capron, 2001).

4. Examens biologiques explorant les états inflammatoires

Le syndrome inflammatoire correspond au niveau biologique à un ensemble de perturbations qui accompagnent la réaction inflammatoire. Sur le plan des dosages sanguins, l'inflammation va donc se traduire par une augmentation plus ou moins importante du taux des protéines dites de l'inflammation (Protéine C-Réactive (CRP), haptoglobine, fibrinogène, céruloplasmine..). Elle va aussi se traduire par une augmentation de la vitesse de sédimentation (VS) et des anomalies sur l'hémogramme comme l'anémie, l'hyperleucocytose et la thrombocytose (Grasland et Pouchot, 1997; Audia et al., 2008).

4.1. Protéines de l'inflammation

Une protéine de l'inflammation est définie comme étant une protéine dont la concentration est modifiée d'au moins 25% en cas de réaction inflammatoire. La plupart sont synthétisées par le foie, sous la principale influence de l'IL 6 (Audia et al., 2008). Ces protéines sont nombreuses, la plupart voient leur taux augmenter en cas d'inflammation. Tel est le cas du fibrinogène, de la procalcitonine, du sérum amyloïde A (SAA), de l'orosomucoïde, l'alpha-antitrypsine, la ferritinémie, les fractions du complément et la céruloplasmine. Seules quelques unes, dites protéines négatives, ont un taux qui diminue; ce sont la transferrine, la préalbumine, la fibronectine et l'apoprotéine A1 (Chappuis, 2012).

La CRP est le meilleur marqueur biologique disponible actuellement (Chappuis, 2012). C'est une protéine appartenant aux bêtaglobulines et est synthétisée par le foie. Sa concentration sanguine s'élève rapidement dans les premières heures (phase aiguë) de l'inflammation et elle a une cinétique rapide. Sa demi-vie biologique est d'environ 10 heures (Pebret, 2003) et sa valeur normale est inférieure à 6 mg/L (Rouquette, 2000).

4.2. Vitesse de sédimentation (VS)

La mesure de la vitesse de sédimentation est un examen biologique simple, peu onéreux pour détecter un syndrome inflammatoire. Elle consiste à placer du sang anticoagulé dans un tube vertical. Les protéines de l'inflammation, chargées négativement, entraînent la formation de rouleaux de globules rouges. La distance parcourue par les globules rouges sédimentés dans ce tube est alors mesurée en millimètre à une heure (seule donnée prise en compte en pratique), puis à deux heures du début (Audia et al., 2008). Les normes varient selon la technique de mesure, en fonction de l'âge et du sexe, on peut considérer comme normale une VS inférieure ou égale à 10mm à la première heure (Weill et al., 2003).

L'augmentation de la vitesse de sédimentation soit surtout le reflet de l'augmentation du fibrinogène, elle est tributaire de nombreux autres facteurs. La VS peut alors être faussement élevée comme c'est notamment le cas pendant la grossesse, chez les obèses, en cas d'anémie, d'hypercholestérolémie, d'hypergammaglobulinémie et en cas d'insuffisance rénale. Elle peut être aussi faussement normale en cas de polyglobulie, de la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et en cas de cryoglobulinémie. La VS manque ainsi de sensibilité et de spécificité. D'intérêt limitée, elle reste néanmoins, mis à part les réserves sus citées, un bon indicateur de désordres protidiques présents dans le serum, portant sur les protéines de l'inflammation ou les immunoglobulines (Chappuis, 2012).

4.3. Hémogramme

L'hémogramme peut s'accompagner de certaines anomalies au cours d'un syndrome inflammatoire comme l'anémie qui n'apparaît qu'après trois à quatre semaines d'inflammation. Une anémie inflammatoire peut connaître deux phases évolutives; une anémie initialement normochrome normocytaire arégénérative et une anémie et hypochrome quand l'inflammation persiste (Lefrère, 2008). L'hémogramme peut inclure également une hyperleucocytose qui est inconstante, souvent peu marquée, et très dépendante de l'étiologie de la réaction inflammatoire. À l'inverse de certaines réactions inflammatoires qui s'accompagnent d'une leucopénie (Bletry et al., 2005). En effet, l'hémogramme peut s'accompagner d'une hyperplaquettose qui peut atteindre 10^6 plaquette/mm³ au cours du syndrome inflammatoire (Weill et al., 2003).

4.4. Electrophorèse des protéines sériques

L'électrophorèse des protéines est une méthode analytique permettant le fractionnement des protéines sériques, sous l'influence d'un champ électrique, en cinq fractions (l'albumine, les α 1-globulines, les α 2-globulines, les β -globulines, les γ -globulines). Elle a pour objectif d'obtenir un panorama des protéines sériques afin de dépister un déséquilibre important. L'électrophorèse des protéines du sérum est prescrite dans l'exploration de toute augmentation de la vitesse de sédimentation; elle confirmera l'état inflammatoire ou infectieux (Tableau I) (Kubab et al., 2006).

Tableau I: Electrophorèse des protéines sériques normales (Kubab et al., 2006).

| | | |
|--|----------------|-----------------|
| Albumine | 53-68 % | 33-52g/L |
| α1-globulines | 2-5 % | 1-5g/L |
| α2-globulines | 6-10 % | 4-8g/L |
| β-globulines | 8-12 % | 5-11g/L |
| γ-globulines | 13-20 % | 8-15g/L |

5. Antiinflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires, on distingue des médicaments à activité anti-inflammatoire plus spécifiques (Yvan, 1997). Ce sont des hormones stéroïdiques (glucocorticoïdes) dites anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), des substances de synthèse dites anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Cohen, 1986).

5.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les corticoïdes sont caractérisés par une structure stéroïdique dérivée du noyau prégane (21 atomes de carbone), (figure 3).

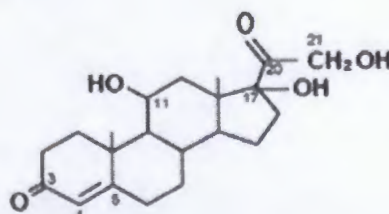


Fig. 3: Structure chimique de noyau prégane (Laviolle, 2007).

5.1.1. Effet génomique des glucocorticoïdes

Les stéroïdes sont des exemples d'hormones activant les gènes. Ils diffusent dans les cellules où ils se lient aux récepteurs cytoplasmiques des glucocorticoïdes. Le récepteur du cortisol est sous forme inactive dans le cytoplasme cellulaire. La forme inactive du récepteur est en fait un complexe formé de plusieurs protéines: le récepteur, des «Heat Shock Protein» (HSP) (l'HSP 90 et l'HSP 70) et une immunophiline (protéine de 56 kDa qui fixe la ciclosporine) (Monassier, 2006). Cette association est nécessaire puisqu'elle met le site de liaison du ligand dans un état de haute affinité pour l'agoniste et favorise donc ainsi sa liaison. La fixation de l'agoniste va conduire à la dissociation du complexe permettant son transfert nucléaire. C'est au sein de ce noyau que le complexe hormone/récepteur va se fixer, au moyen de deux structures dites en « doigts de zinc » (portions très conservées entre tous les récepteurs des hormones stéroïdes), sur les éléments accepteurs du génome où il stimule (ou inhibe) la synthèse des protéines qui exercent des activités comme c'est le cas pour la lipoportine, protéine qui inhibe la phospholipase A₂. Mais, elle induit aussi la répression de gènes tels ceux qui codent pour hormone adénocorticotrophine (ACTH) (phénomène à l'origine du rétrocontrôle négatif exercé par le cortisol), de nombreuses cytokines ou de collagénases et de la stromélysine (enzymes en particulier impliquées dans la destruction des cartilages dans les arthropathies inflammatoires) (Monassier, 2006 ; Laviolle, 2007 ; Neal, 2003). Ce mécanisme est schématisé dans la figure 4.

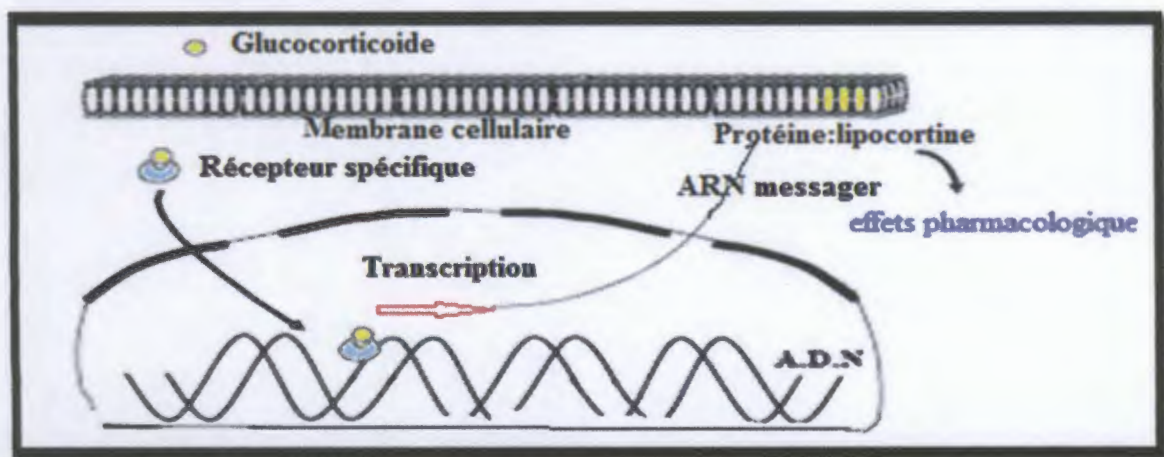


Fig. 4: Effet génomique des glucocorticoïdes schématisé (Laviolle, 2007).

5.1.2 Effets anti-inflammatoires des glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes interviennent dans toutes les étapes de la réponse inflammatoire précoce ou chronique. Le nombre des cellules immunocompétentes circulantes et de macrophages est réduit et la production des médiateurs pro inflammatoires comme les prostaglandines, les leucotriènes et les facteurs d'activation plaquettaire (PAF) est inhibée. Les stéroïdes induisent ces derniers effets en stimulant la synthèse intraleucocytaire d'une protéine, la lipocortine qui inhibe la phospholipase A₂ (figure 5), (Barnes, 1998). Cette enzyme est localisée dans la membrane cellulaire et est responsable de la formation de l'acide arachidonique précurseur de nombreux médiateurs de l'inflammation. Les corticostéroïdes dépriment les gènes codant pour la phospholipase A₂, la cyclooxygénase 2 (COX -2) et les récepteurs pour IL-2 (Monassier, 2006). Les glucocorticoïdes diminuent la fonction des monocytes/macrophages et réduisent le nombre des lymphocytes en particulier T₄ et inhibent aussi la libération de IL-1 et IL-2. Le transport des

lymphocytes au site de stimulation antigénique et la production d'anticorps sont également réduits (Neal, 2003).

5.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS ont été utilisés avec succès pour le soulagement de la douleur, la fièvre et l'inflammation depuis plus de 3000 ans et ils sont toujours utilisés quotidiennement par des millions de patients à travers le monde. Ce sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme COX (Bidaut-Russel, 2001).

5.2.1. Mécanisme d'action des AINS

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent les cyclo-oxygénases (figure 5). Il existe deux types d'inhibition:

* Les AINS qui se fixent sur le site catalytique hydrophobe de l'acide arachidonique de façon compétitive et réversible et bloquent son catabolisme. C'est le cas de l'ibuprofène et de l'indométacine (Swan, 1991). D'autres comme l'aspirine se fixent de façon irréversible sur la cyclo-oxygénase et bloquent son activité même après disparition de l'AINS. Certains AINS, comme le kétoprofène et l'acide tolfénamique, également inhiberaient outre la COX, la lipoxygénase responsable de la formation des leucotriènes, (figure 5). Mais cet effet semble n'avoir que peu d'importance *in vivo* (Grisneaux et al., 1998; Cunningham et al., 1994).

* Les AINS inhibent la migration des leucocytes et des macrophages qui consomment de l'adénosine triphosphate (ATP); en découplant la phosphorylation oxydative ou en modifiant les propriétés membranaires de ces cellules, inhiberaient leur déplacement (Schorderet et al., 1989; Lekeux, 1991; Guelfi et al., 1993; Dawson et al., 1987).

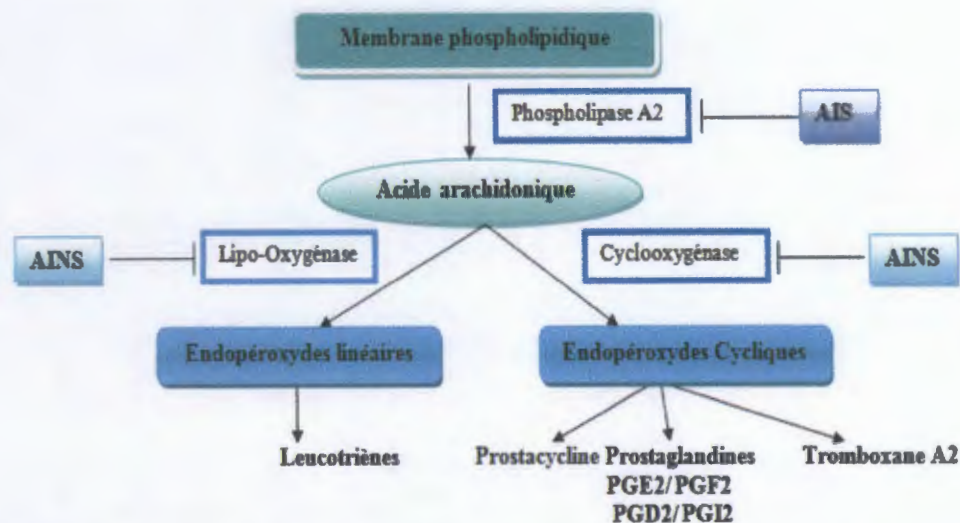


Fig. 5: Cascade arachidonique et site d'action des antiinflammatoires (Moulin et Coquerel, 2002). Sous l'action de phospholipase A₂ les phospholipides membranaire subissent une conversion en acide arachidonique, puis ce dernier converti en Prostacycline, Prostaglandine, Thromboxane et leucotriènes sous l'action de la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase respectivement. Les AINS et AIS exercent des effets bloqueurs (inhibiteur -) sur la synthèse de ses produits finals du métabolisme de l'acide arachidonique.

6. Anti-inflammatoires d'origine végétale

L'activité anti-inflammatoire des plantes médicinales (Tableau II) revient à leur contenu en métabolites secondaires doués d'activités biologiques; polyphénols, stéroïdes, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides... (Setty et Sigal, 2005)

Tableau II : Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoires (Erdemoglu et al., 2003 ; Setty et Sigal, 2005).

| Nom scientifique | Famille | Partie utilisée | Nom commun | Utilisation |
|----------------------------|---------------|--------------------|------------|---|
| <i>Zingiber officinale</i> | Zingiberaceae | rhizome | gingembre | arthrose, migraine, douleur rhumatismales |
| <i>Curcuma longa</i> | Zingiberaceae | Graines rhizome | curcuma | douleurs rhumatismales, lupus |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Lamiaceae | feuilles | basilic | lombalgie, arthrose |

7. Génération des espèces oxygénées réactives par le processus inflammatoire

7.1. Définition

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants au profit de ces derniers, que ce soit par une augmentation de la production d'espèces oxygénées réactives et/ou par une diminution des défenses antioxydantes (Halliwell et Whiteman, 2004; DiVirgilio, 2004; Koechlin-Ramonatxo, 2006). Ceci conduit à des endommagements cellulaires et tissulaires souvent irréversibles (Favier, 2003; Sinha et al., 1989).

7.2. Espèces oxygénées réactives (EORs)

Parmi les EORs générés durant le processus de l'inflammation, on peut citer entre autres :

7.2.1. Radical superoxyde (O_2^-)

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde :



Par ailleurs, ce radical peut être produit par la xanthine oxydase par la réaction :



Le radical superoxyde (O_2^-) est le radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant. Il est hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu et al., 2010), le O_2^- ne traverse pas rapidement la

membrane plasmique et se dismute spontanément au potentiel Hydrogène (pH) physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène (Gardès-Albert *et al.*, 2003) selon la réaction:



La production de ce radical est intense lors du processus inflammatoire par les phagocytes. En effet, pendant la phagocytose il y a production intense des EORs notamment l'anion superoxyde produisant une flambée oxydatif «respiratory burst», destinée à la destruction des bactéries ou des cellules infectées par les virus (Ames *et al.* 1993). Ce processus est assuré par l'activation de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase membranaire induisant le relargage de grandes quantités des EORs, (Figure 6).

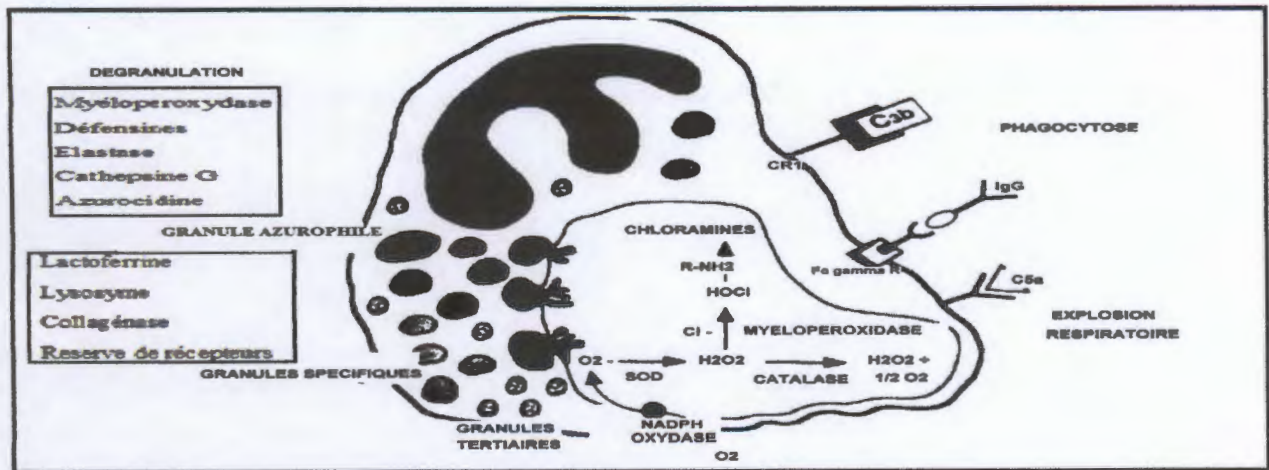


Fig. 6: Principaux sources des EORs (Houée-Levin *et al.*, 2005).

7.2.2. Radical hydroxyle (HO[•])

Le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion superoxyde dans la réaction d'Haber-Weiss (Beaudeau *et al.*, 2006):



Il est produit durant l'inflammation en grande quantité lors des interactions entre l'anion superoxyde et l'acide hypochloreux, entre l'acide hypochloreux et les ions ferreux (Fe²⁺) ou le peroxyde d'hydrogène et le monoxyde d'azote (Kruidenier *et al.*, 2002).

7.2.3. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Les cellules phagocytaires produisent de grandes quantités d'H₂O₂ au cours de l'inflammation. Bien qu'il induise des atteintes aspécifiques et irréversibles des cellules épithéliales (Mulier *et al.*, 1998), le H₂O₂ est généralement considéré comme une ERO relativement faible mais hautement réactive, en particulier dans sa capacité à réagir avec les ions partiellement réduits Fe²⁺ et Cu⁺ formant le radical hydroxyle dans la réaction de Fenton (Wardman *et al.*, 1996):



7.2.4. Acide hypochloreux (HOCl)

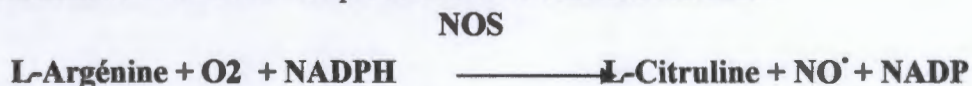
Au cours de l'inflammation, la myéloperoxydase lysosomale des cellules phagocytaires catalyse l'oxydation de l'ion chlorure par le peroxyde d'hydrogène pour former l'acide hypochloreux (HOCl), selon la réaction suivante :



Son activité est directement proportionnelle au nombre de neutrophiles présents dans la muqueuse des rats enflammés (Rodrigues *et al.*, 2002).

7.2.5. Le radical NO[•]

La synthèse de monoxyde d'azote (NO[•]) est catalysée par les NO synthases (NOS) (Beaudeau *et al.*, 2006). Il en existe 3 isoformes canoniques: la première, Neuronale ou nNOS; la deuxième Inductible ou iNOS; la troisième Endothéliale ou eNOS. Les nNOS et les eNOS, constitutives, se caractérisent par une activation rapide et transitoire permettant de faciliter la transmission synaptique ou d'induire la vasodilatation en réponse à des changements du débit sanguin. L'effet de la iNOS est lié quant à la modulation de son expression, par exemple par des médiateurs inflammatoires. Le NO[•] est produit selon la réaction suivante :



Le NO[•] peut interagir rapidement avec l'anion superoxyde et produire du peroxyde d'azote beaucoup plus réactif et délétère que ses précurseurs (Murphy *et al.*, 1998; Valko *et al.*, 2006).



Le peroxyde d'azote favorise la perméabilité vasculaire et la formation d'œdème (Kruidenier *et al.*, 2002).

7.2.6. Lipoxigénase et l'acide arachidonique

La phospholipase A2 hydrolyse la membrane phospholipidique libérant l'acide arachidonique qui est le substrat de la lipoxigénase afin de synthétiser des leucotriènes. Cette synthèse met en jeu nombreuses oxydations qui génèrent la production de EORs qui pourrait jouer un rôle important dans l'initiation de la réponse inflammatoire (Servais, 2004).

7.3. Systèmes de défense antioxydants

Les composés antioxydants sont définis comme : toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat, (Halliwell, 1990).

7.3.1. Antioxydants enzymatiques

7.3.1.1. Superoxydes dismutases (SOD)

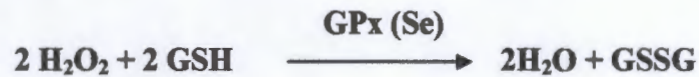
Ils sont des métalloprotéines catalysent la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Halliwell *et al.*, 1999; Valko *et al.*, 2006).

7.3.1.2. Catalase

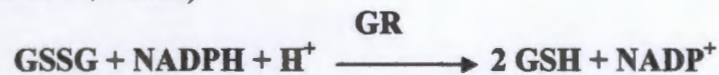
La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Valko *et al.*, 2006; Negre-Salvayre et Salvayre, 2005).

7.3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

Les Glutathions Peroxydases (GPx) jouent le même rôle catalytique que la catalase, à savoir la détoxification du peroxyde d'hydrogène et des peroxydes lipidiques en couplant leur réduction à l'oxydation d'un substrat réducteur, le glutathion (Baudin, 2006). Elles se trouvent dans le cytosol, la mitochondrie, le réticulum endoplasmique et le noyau. (Favier, 2003; Servais, 2004).



La régénération du glutathion (GSH) réduit à partir du glutathion oxydé (GSSG) se fait par l'action de la glutathion réductase (GR) grâce au NADPH utilisé comme donneur d'électrons (Thérond *et al.*, 2005b).



7.3.2. Antioxydants non enzymatiques

En plus des voies enzymatiques, il existe d'autres mécanismes non enzymatiques qui interviennent dans la détoxification des EORs.

7.3.2.1. Glutathion (GSH)

C'est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine), il permet de produire certaines espèces réactives telles qu'ONOO⁻, HOCl.



Il prévient l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur (Baudin, 2006). Il peut également chélater les ions cuivreux Cu⁺² et limiter ainsi leur participation à la réaction de Fenton.



La régénération de la fonction thiol GSH à partir de la forme oxydée se fait grâce à l'activité de la glutathion réductase (GR) (Kruidenier *et al.*, 2002; Thérond *et al.*, 2005 b).

7.3.2.2. Vitamine E

Le terme de vitamine E désigne une famille composée des tocophérols et des tocotriénols. La forme la plus active, l' α -tocophérol, qui est le principal antioxydant liposoluble dans l'organisme. Situé dans les lipoprotéines et les membranes, il est capable de piéger l'oxygène singulet et de réagir avec le radical hydroxyle et former le radical tocophéryle, (Boutabet, 2007; Liu, 2007).



7.3.2.3. Vitamine C

La vitamine C (l'acide ascorbique) est un piègeur très efficace de l'ensemble des EORs (Gardès-Albert et *al.*, 2003). Lors de son oxydation en acide d'hydroascorbique, elle passe par une forme intermédiaire qui est le radical ascorbyl capable de capter certaines espèces radicalaires (Boutabet, 2007) ce qui protège les lipoprotéines et les membranes de la peroxydation lipidique (Podsdek, 2007).

7.3.2.4. β carotène

La β carotène c'est une molécule liposoluble présente dans les membranes biologiques, sa structure chimique hautement insaturée lui favorise adéquatement les liaisons avec les radicaux libres et plus particulièrement l'inactivation de l'oxygène singulet (Tapiero et *al.*, 2004). Les caroténoïdes empêchent les dommages génétiques, et l'expression des oncogènes (Madi, 2010; Liu, 2007).

7.3.2.5. Polyphénols

Les polyphénols en particulier les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes *in vitro*. Les flavonoïdes réagissent avec les radicaux libres les plus prooxydants particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux (Curtay et Robin, 2000; Nkhili, 2009). Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la consommation de fruits et légumes riches en flavonoïdes est associée à la prévention de nombreuses maladies chroniques et dégénératives telles que le cancer, le vieillissement, la perte de mémoire, l'inflammation et l'infection (Pham-Huy et *al.*, 2008).

7.4. Dégâts oxydatifs cellulaires des EORs

7.4.1. Peroxydation lipidique

La réaction de peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Houée-Levin et *al.*, 2005), (figure 7). Ce processus génère des hydroperoxydes qui peuvent continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) (Favier, 2003; Guichardant et *al.*, 2006). Le radical peroxyde peut, quant à lui, libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) ou l'hydroxynonéal (Kruidenier et *al.*, 2002; Théron et *al.*, 2005a; Valko et *al.*, 2006).

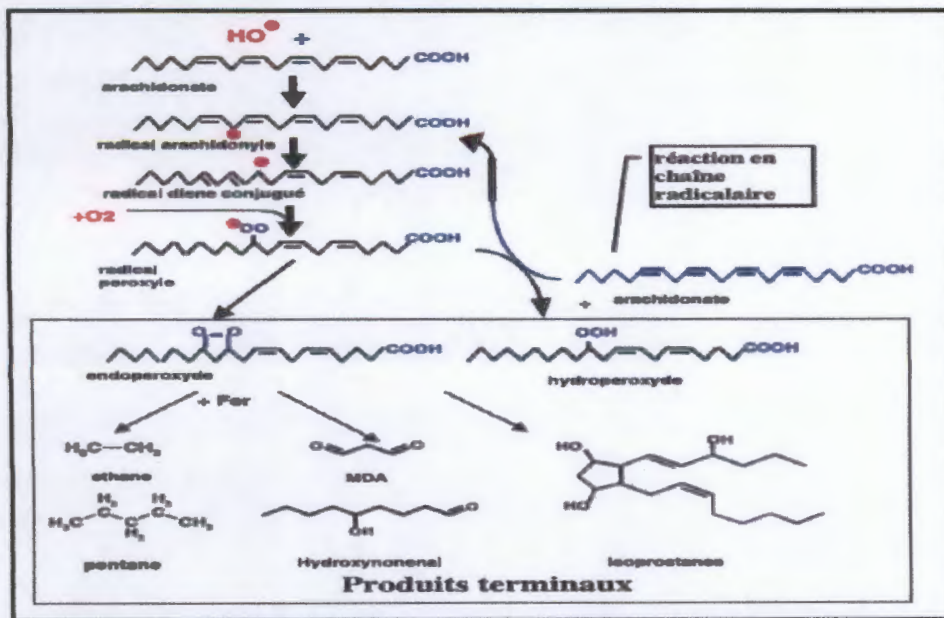


Fig. 7: Réactions en chaîne de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux (Favier, 2003).

7.4.2. Oxydation des protéines

Les EORs attaquent les acides aminés, par addition d'un groupement lysine sur le groupement carbonyle d'une protéine oxydée (figure 8), (Baudin, 2006), par oxydation d'un groupement sulfhydryle des résidus cystéine formant ainsi des ponts disulfures ou par oxydation des résidus tyrosine formant des ponts Tyr-Tyr (Baudin, 2006; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

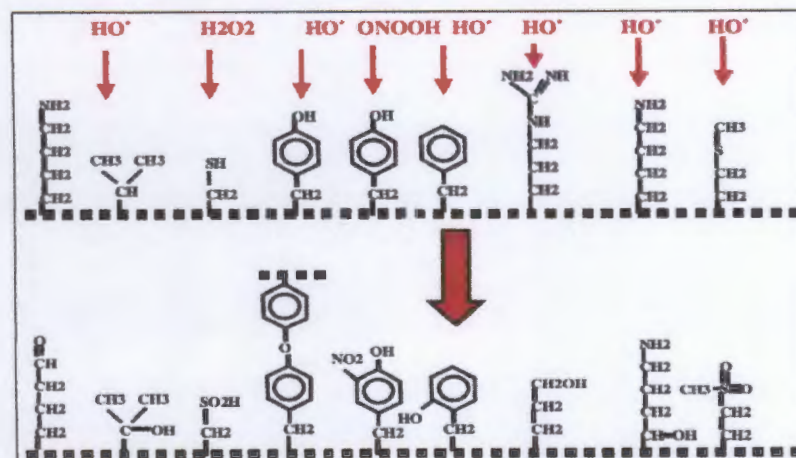


Fig. 8: Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

7.4.3. Oxydation d'acide désoxyribonucléique (ADN)

Les altérations les plus communes de l'ADN sont l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose provoquant le clivage des brins et des mutations génétiques (Valko et al., 2006). Une des altérations fréquentes de l'ADN est l'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle formant la 8-hydroxy-guanine (8-OHG) (Valko et al., 2006; Favier, 2003) par une transversion (figure 9) (passage d'une base purique à une base pyrimidique) (Servais, 2004).

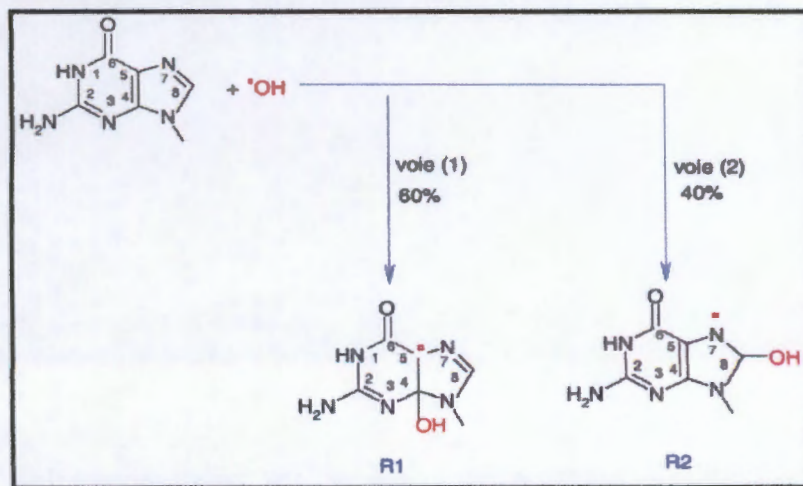


Fig. 9: Illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (addition sur les doubles liaisons) avec une base de l'ADN, la guanine (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

Chapitre II : Généralité sur les polyphénols

1. Définition des polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, constituant un des groupes de substances largement distribuées dans le règne végétal (Awika et al., 2004; Dicko et al., 2005). Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considéré. Ces composés regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth, 2000). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tannins condensés) (Macheix et al., 2005; Chira et al., 2008; Balasundram et al., 2006).

2. Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances. Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins.

2.1. Acides phénols

Les acides phénoliques ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils se divisent en deux catégories: Les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (figure 10) (Macheix et al., 2005; Bruneton, 1999).

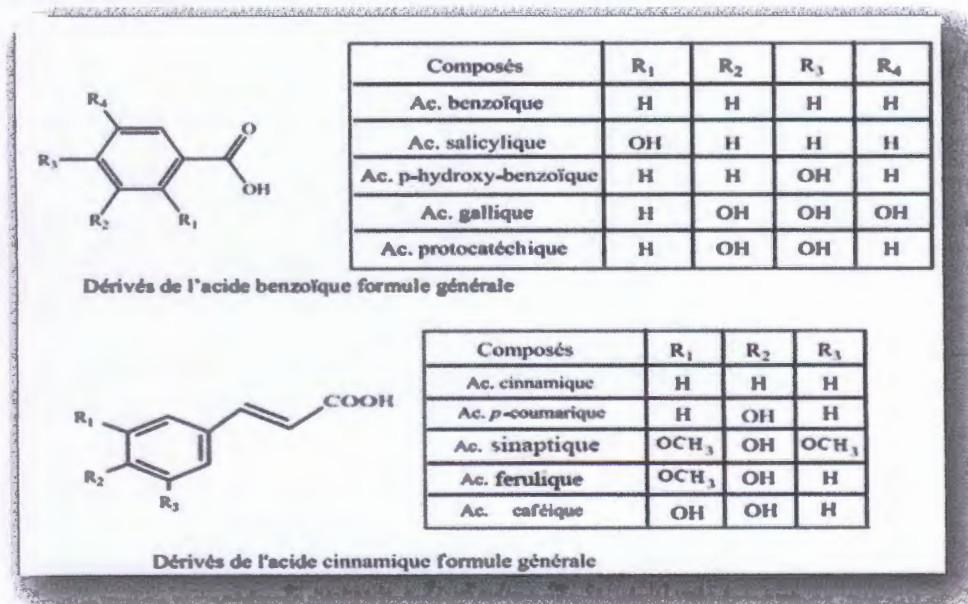


Fig. 10: Les principaux acides phénolique (Macheix et al., 2005; Liu, 2007).

2.2. Flavonoïdes

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés (Heim et al., 2002), ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (figure 11), (Bruneton, 1999).

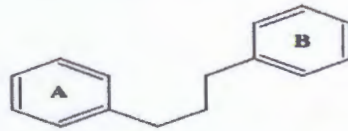


Fig. 11: Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (Figure 12), (Bruneton, 1999; Hendrich, 2006). Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides.

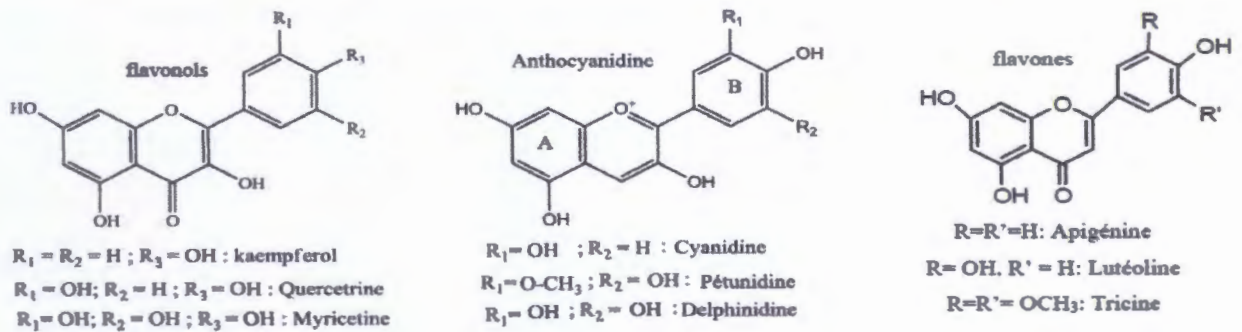


Fig. 12: La structure chimique de certains flavonoïdes (Bruneton, 1993; Chira et al., 2008).

2.3. Tannins

Les tannins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Khababae et Van Ree, 2001; Makkar, 2003). Les tannins se divisent selon leur structure en deux groupes principaux (Ribéreau-Gayon, 1968): Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (figure 13), (Olatunji, 2000; Maiga et al., 2005).

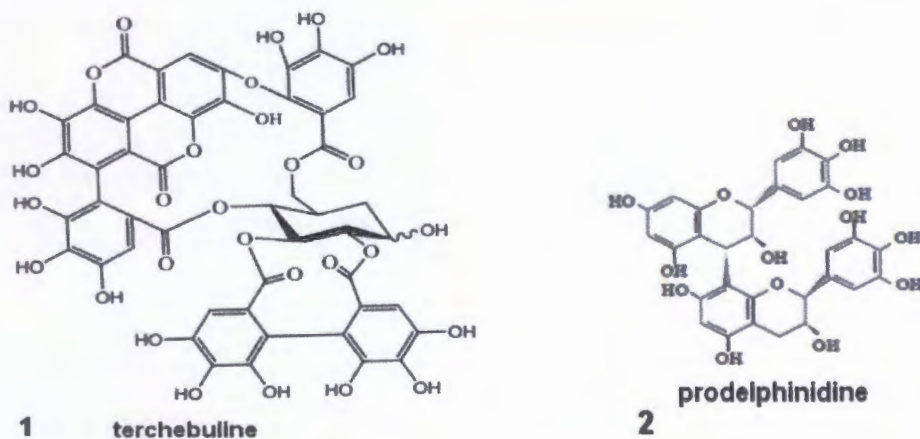


Fig. 13: Exemples de tannins: 1- tannin hydrolysable ; 2- tannin condensé, (Olatunji, 2000; Maiga et al., 2005; Brandao et al., 1992).

3. Propriétés pharmacologiques des polyphénols

Les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antioxydantes, antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, anticancéreuses et cardioprotectives liés à leur capacité de piéger les radicaux

libres (Tripoli et al., 2007; Smyth et al., 2009; Okamura et al., 1993; Chira et al., 2008), (Tableau III).

Tableau III: Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme (Muanda, 2010; Nebeling, 2002; Bruneton, 1993; Tripoli et al., 2007; Chira et al., 2008).

| Polyphénols | Activités biologiques |
|--|--|
| Acides phénols (cinnamiques et benzoïques) | Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antioxydantes antiparasitaires antifongiques, |
| Coumarines | Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti œdémateuses |
| Flavonoïdes | Antitumorale, anti parasitaires, vasodilatateurs, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergique |
| Anthocyanes | Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant |
| Proanthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène, antioxydantes, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires |
| Tannins galliques et catéchiques | Antioxydantes |
| Lignanes | Anti-inflammatoires, analgésiques |
| Saponines | Antitumorale, anticancérigène,... |
| Phytostérols | Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons |

3.1. Action antioxydante des polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants puissants (Van Acker et al., 1995), les flavonoïdes (FL-OH) sont capables de réduire les radicaux libres (R[•]) oxydants en formant des radicaux flavoxyles (FL-O[•]) moins réactifs par transfert d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction suivante:



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO[•]), ce dernier peut réagir avec un autre radical pour former des molécules de faible réactivité par rapport aux R[•]. En outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs selon les réactions représentées ci-dessous (Amić et al., 2003) :



3.2. Action anti-inflammatoires des polyphénols

Les polyphénols et leurs métabolites agissent sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (Lenoir, 2011). Ils peuvent agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA): phospholipase A2,

cyclooxygénase et lipoxygénase et sur la production de NO en modulant l'activité des NOS. Une inhibition de ces enzymes réduit ainsi la production d'AA, de NO', de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation (Kim *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2009). De plus, les polyphénols exercent leur activité anti-inflammatoire en agissant sur l'activation du facteur de transcription NF-kB (figure 14) (Santangelo *et al.*, 2007).

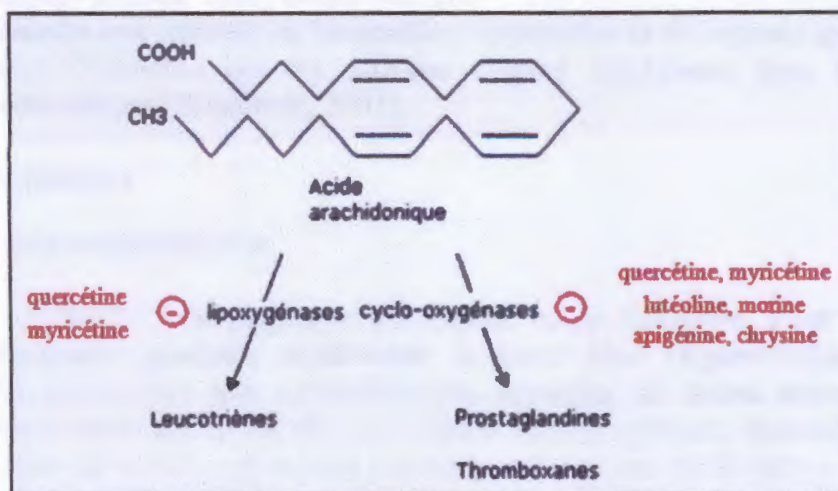


Fig. 14 : Inhibition de la lipoxygénases et de la cyclo-oxygénases sous l'action de différents flavonoïdes (Kim *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2009)

4. Les plantes médicinales sélectionnées

Achillea odorata, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* sont les quatre plantes étudiées dans cette étude. Leur sélection s'est faite sur la base de leur très grande présence et très large utilisation traditionnelle dans les régions méditerranéennes et plus particulièrement en Algérie (Beloued, 1998; Ernest, 2000; Damien *et al.*, 2003).

4.1. *Achillea odorata*

📌 Description et classification

Achillea odorata (Figure15) est une plante herbacée vivace d'environ 30cm d'hauteur qui s'étend très rapidement et peut devenir envahissante. Ses feuilles sont persistantes, duveteuses de couleurs grises très odorantes et très découpées. Les fleurs sont petites, blanches et disposées en un corymbe terminal (Laurent et Miller, 1787). La floraison se fait de Mai à Juillet.

- La systématique d'*Achillea odorata* est la suivante (Ernest, 2000) :

Règne: *Plantae*

Classe: *Equisetopsida*

Famille: *Asteraceae*

Ordre: *Asterales*

Genre: *Achillea*

Espèce: *Achillea odorata*.

Nom français: Achillée odorante



Fig. 15: *Achillea odorata* dans son milieu naturel

4.3. *Mentha rotundifolia*

🌿 Description et classification

Mentha rotundifolia (figure 17) dont le nom vernaculaire est « timarssat » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha* alors que pour d'autres auteurs *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce *suaveolens* (Kokkini, Papageorgiou, 1988; Lorenzo et al., 2002). *Mentha rotundifolia* est une plante herbacée, vivace. Ses feuilles sont sessiles, ovales, crénelées, épaisses, pubescentes sur le dessus, blanches ou mauve clair, en épis denses, terminaux, très odorantes, La floraison se fait à la fin de l'été (Lamarck et Candolle, 1815; Villars, 1787). On trouve la plante dans les milieux humides surtout en Afrique du nord, en Asie et en Europe (Brada et al., 2007).

- La systématique de *Mentha rotundifolia* est la suivante: (Brada et al., 2007)

Règne: *Plantae*.

Classe: *Magnoliopsida*.

Famille: *Lamiaceae*.

Ordre: *Lamiales*.

Genre: *Mentha*.

Espèce: *Mentha rotundifolia*.

Nom commun : Menthe à feuilles rondes.



Fig. 17: *Mentha rotundifolia* dans son milieu naturel

🌿 Utilisation thérapeutique

Mentha rotundifolia possède des effets cardiovasculaires (activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), une activité sur les centres nerveux sympathiques (relaxant, stimulant, dépressant), des propriétés antibactériennes, antifongiques (Damien et al., 2003 ; Tripathi et al., 2004) et antiseptiques (Hans, 2007).

4.4. *Urtica dioïca*

🌿 Description et classification

Urtica dioïca (figure 18) est une plante herbacée, vivace, d'un vert sombre, à tiges robustes dressées, rameuses, carrées et très fibreuses, ses feuilles sont opposées, pétiolées, lancéolées, cordiformes, recouvertes de poils urticants et hérissés. La pointe de ces poils durs et coniques se brise lors d'un contact et injecte les substances urticantes contenues dans un massif cellulaire situé à leur base. Le bord de la feuille est pourvu de dents aiguës. Les fleurs unisexuées, verdâtres, portées par des pieds différents, forment de longues grappes dressées, rameuses à l'aisselle des fleurs, plus longues que les pétioles. Le fruit est un akène (Ticli, 1999).

- La systématique d'*Urtica dioïca* est la suivante: (Draghi, 2005; Bertrand, 2010; Beloued, 1998).

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Urticale*

Famille : *Urticaceae*

Genre : *Urtica*

Espèce : *Urtica dioïca*

Nom français: Grande Ortie, Ortie dioïque.



Fig. 18: *Urtica dioïca* dans son milieu naturel

Utilisation thérapeutique

Plusieurs propriétés médicinales d'*Urtica dioïca* sont attribuées: adaptogène, nutritive, astringente, tonique, stimulante, dépurative, diurétique, antiasthmatique, antiallergique, contre l'inflammation des voies urinaires, contre l'anémie, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foies. En outre l'ortie est utilisée pour traiter les entorses, la tendinite, la névralgie, soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales, traiter les maladies de peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné, les infections et l'hyperplasie bénigne de la prostate (Draghi, 2005).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Partie II: Etude expérimentale

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal, méthode d'extraction et dosages des polyphénols

1.1.1. Matériel végétal

Achillea odorata, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* sont les quatre plantes étudiées dans cette étude. La récolte de ces plantes a été effectuée en mois d'Avril et de Mai au niveau de trois régions de la wilaya de Jijel (Algérie), *Urtica dioïca* et *Eucalyptus globulus* sont récoltés de la région de Jijel, *Achillea odorata* est récoltée de la région de Texenna et *Mentha rotundifolia* est récoltée de la région de Beni Belaid.

1.1.2. Extraction des polyphénols

- **Séchage, broyage et tamisage**

Après avoir été bien nettoyés et débarrassés des particules et de la poussière, les feuilles des quatre plantes étudiées ont été séchées dans une étuve de type Memmert, à une température de 37°C pendant une semaine. Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car les cellules végétatives contiennent des enzymes susceptibles de provoquer des modifications dans la composition phénolique de la plante. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide du matériel végétal, aussitôt après sa récolte (Ribéreau-Gayon, 1968).

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type Sub permettant d'obtenir des poudres très fines. Plus le diamètre de la poudre est petit, plus la surface d'échange entre celle-ci et le solvant d'extraction est grand; donc le rendement d'extraction est meilleur.

Une fois broyées, les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de type AFNOR-ASTM dont le diamètre des pores est inférieur à 100 µm. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, bien hermétique, à l'abri de la lumière (Ribéreau-Gayon, 1968).

- **Extraction proprement dite**

L'extraction a été réalisée par une méthode solide-liquide selon la procédure d'Owen et Johns (1999). 50 g de poudre de chacune des quatre plantes sont macérés dans 500 ml de méthanol aqueux (80 %) sous agitation mécanique pendant 48 h à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydations. Après macération, les quatre solutions sont filtrées à l'aide de papier Whatman N° 3. Chaque filtrat obtenu est affronté à l'hexane pour la délipidation. Les mélanges sont par la suite décantés pour recueillir les phases méthanoliques. Ces dernières sont évaporées à l'aide d'un rotavapeur (Heidolph, Germany) à une température de 40°C.

- **Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement des extraits méthanoliques est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_S / P_P \times 100$$

Où : P_e : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

P_p : Poids de la poudre en gramme (g)

1.1.3. Dosage des polyphénols totaux

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux des feuilles d'*Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* a été réalisée selon la méthode de Folin Ciocalteu (Heilerova et al., 2003). Pour le principe de l'analyse, le réactif Folin Ciocalteu, consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions formés à partir d'hétéropolyacides phosphomolybdiques ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphotungstiques ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ce dernier oxyde les phénols en ions phénolates en milieu alcalin et réduit partiellement ces hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe molybdotungstique bleu (Heilerova et al., 2003).

Pour le dosage, 0,2 ml de l'extrait méthanolique dilué (250 μ g/ml) ont été additionnés avec 1,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10). Le mélange est laissé reposer 5 minutes à l'obscurité. Par la suite, 1,5 ml de la solution Na_2CO_3 (7,5 %) a été ajouté à l'ensemble. Après 90 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 750 nm au spectrophotomètre (JASCO V-360, Japon).

La concentration en composés phénoliques des extraits bruts est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (*Annexe 1*) et la teneur moyenne en polyphénols est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g EB).

1.1.4. Dosage des flavonoïdes

La teneur des extraits en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996).

Pour cela, un volume de 1,5 ml de chaque extrait (2 mg/ml) a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $AlCl_3$ (2 %). Les différentes solutions ont été laissées au repos, à l'abri de la lumière pendant 60 min. La lecture a été faite à 430 nm.

La concentration en flavonoïdes des extraits bruts est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine comme standard (*Annexe 2*). Les résultats sont exprimées en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g EB).

1.1.5. Dosage des tannins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de Hagerman and Butler (1978). Ce dosage est basé sur la formation des complexes tannins/ protéines qui peuvent être dosés en utilisant le chlorure ferrique qui forme avec eux un complexe donnant une coloration violette mesurable par spectrophotométrie à 510 nm.

Brièvement, un volume de 2 ml de BSA (1mg/ml) préparé dans le tampon acétate (pH 5; 0,20 M) est mélangé avec 1 ml de l'extrait à 1mg/ml. Après 24 h d'incubation à 4°C, les solutions ont été centrifugées à 5000 rpm pendant 20 min centrifugeuse (Bioblock scientific, Italiy). Le précipité débarrassé du surnageant est ensuite solubilisé et hydrolysé avec 4 ml de SDS/TEA et le mélange est agité vigoureusement par le vortex (Heidolph, Germany). Enfin, 1 ml de $FeCl_3$ préparé dans HCl 0,01 M, a été ajouté pour donner avec les tannins une couleur pourpre pendant 15 min de contact.

Les absorbances à la longueur d'onde de 510 nm sont traduites en milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait brute (mg EAT/g EB) à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide tannique (*Annexe 3*).

1.2. Animaux et étude *in vivo*

1.2.1. Entretien des animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 75 souris femelles et 70 souris male de souche *Swiss Albinos* provenant de l'institut Pasteur d'Alger (Algérie), dont le poids initial varie entre 22 et 30 g. Les animaux sont installés dans des cages métalliques avec accès libre à la nourriture standard (Crockette) et à l'eau, à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité, au sein de l'animalerie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel. Les animaux sont passés par une période d'adaptation de 10 jours après leur réception avant d'être utilisés.

1.2.2. Répartition et traitements préventif des animaux

Les souris ont été mises à jeun 18 heures avant l'essai et sont réparties en 15 lots de cinq souris comme suit (Winter et *al.*, 1962):

Le lot 1 : reçoit une solution physiologique (NaCl 0.9 %) par gavage gastrique ;

Le lot 2 : reçoit une solution de la carragénine à 1 % sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite ;

Le lot 3 : reçoit l'Ibuprofène à 200 mg /kg, par gavage gastrique avant 30 min de l'injection de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite ;

Les lots 4,5 et 6 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Achillea odorata* par gavage gastrique avant 30 min de l'injection de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite ;

Les lots 7,8 et 9 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Eucalyptus globulus* par gavage gastrique avant 30 min de l'injection de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite ;

Les lots 10,11 et 12 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Mentha rotundifolia* par gavage gastrique avant 30 min de l'injection de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite ;

Les lots 13,14 et 15 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Urtica dioïca* par gavage gastrique avant 30 min de l'injection de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.

1.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts obtenus à partir des feuilles d'*Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* sur l'œdème inflammatoire aiguë de la patte arrière droite de souris induit par la carragénine 1% (Winter et *al.*, 1962). L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par le pied à coulisse (Digital Caliper) ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire et de comparer cette activité à celle d'un anti-inflammatoire de référence, l'Ibuprofène chaque 30 min pendant 4 heures.

1.2.3.1. Mesure du volume de l'œdème induit par la carragénine

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire, le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème des pattes arrières droites, traitées par rapport au lot 2, est mesuré, en utilisant la formule suivante (Sy *et al.*, 2008; Szekely *et al.*, 1997).

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 (V_{Tf} - V_{Tp}) / V_{Tf}$$

Où :

V_{Tf} : le volume de l'œdème chez les souris témoins ayant reçu uniquement la carragénine 1%.

V_{Tp} : le volume de l'œdème chez les souris traitées avec les extraits et l'Ibuprofène

Le volume de l'œdème V_T à un temps t donné est calculé comme suit: (Agbonon *et al.*, 2001)

$$V_T = V_t - V_0$$

Où :

V_0 : le volume initial du pied.

V_t : le volume du pied au temps t .

1.2.3.2. Prélèvement du sang et évaluation des indicateurs sanguins de l'inflammation

Juste après quatre heures d'induction de l'inflammation, les animaux sont décapités, 0.5 ml du sang sur 100 μ l de l'EDTA est récupéré pour les analyses hématologiques (FNS) et 0.5 ml du sang récupéré est immédiatement centrifugé à 3000 rpm pendant 3 minutes, le serum récupéré est prêt pour évaluer le paramètre biochimique (CRP).

1.2.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits polyphénoliques

1.2.4.1. Prélèvement du foie et extraction du cytosol

Le foie chirurgicalement extrait, a été pesé, étiqueté et conservé dans un congélateur à -20°C jusqu'à la réalisation des différents tests.

Les fractions cytosoliques sont extraites selon la méthode d'Iqbal *et al.*, (2003). 1 gramme de foie a été homogénéisé avec 3 volumes du tampon phosphate (0.1M, pH = 7.4) contenant du KCl à 1.17% à l'aide d'un Potter de DOUNCE. Une première centrifugation de l'homogénat à 800 rpm pendant 15min à 4°C , permet d'éliminer les débris nucléaires et le surnageant obtenu subi à son tour une deuxième centrifugation pendant 45 min à 9600 rpm et à 4°C . Ce qui permet de récupérer le surnageant final contenant les enzymes cytosoliques.

1.2.4.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques

- **Dosage des protéines cytosoliques**

La quantité des protéines présentes dans la fraction cytosolique du foie est déterminée selon la méthode de Bradford (1976), en utilisant le bleu de Coomassie (BBC) comme réactif. Cette méthode est basée sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie après complexation avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant donc la concentration en protéines dans l'échantillon.

Les protéines des échantillons ont été dosées en faisant réagir 4 ml de BBC avec 100µl de la fraction cytosolique. Après agitation, la lecture des absorbances a été effectuée par spectrophotomètre (JASCO V-360, Japon) à 595 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Les concentrations des protéines en mg/g de foie sont obtenues à l'aide d'une courbe d'étalonnage par l'albumine sérum bovin (BSA) (*Annexe 4*).

- **Dosage de MDA**

Le taux du MDA hépatique a été évalué par la méthode d'Okhawa et *al.*, (1979). Pour le dosage, un gramme de foie congelé est lavé par le NaCl (0.9 %) puis coupé et homogénéisé avec trois volumes du KCl 1.15 % à l'aide d'un broyeur de DOUNCE. Puis à 0.5 ml de l'homogénat sont ajoutés 0.5 ml de TCA 20% et 1ml de TBA (0.67%). Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15min, refroidi à l'eau de robinet pour stopper la réaction puis 4 ml de n-butanol sont ajoutés et le tout est centrifugé pendant 15min à 3000 rpm. L'absorbance du surnageant est lue à 530 nm contre un blanc préparé avec 0.5 ml du KCl 1.15% traité de la même façon. Le MDA est exprimé en µmol/g de tissu et calculé à partir d'une gamme préparé sous les mêmes conditions avec une solution de 1, 1, 3,3-tetraoxypropane qui donne le MDA après son hydrolyse (*Annexe 5*).

- **Dosage du GSH**

Le dosage de glutathion réduit est effectué selon la méthode d'Ellman (1959) . Pour cela un gramme de foie est homogénéisé avec trois volumes de l'acide trichloracétique TCA (5 %) à l'aide d'un broyeur de DOUNCE et centrifugé à 2000 rpm pendant 15 min, ensuite 50 µl du surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH = 8). 20 µl de DTNB (0.01 M) sont ajoutés à 3 ml du mélange de dilution. Après 15 min d'incubation, la lecture de densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5 %).

Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion (*Annexe 6*) préparée dans les mêmes conditions. Les concentrations sont exprimées en millimole de glutathion par gramme de foie (mmol/ g de tissu).

- **Mesure de l'activité de la CAT**

L'activité de la catalase a été déterminée en adaptant la méthode de Clairbone (1985) avec quelques modifications. Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25°C. En bref, dans une cuve de mesure en quartz, une solution substrat composée de 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4), 0.950 ml de peroxyde d'hydrogène (0.019 M), 0.025 ml de la source enzymatique. L'activité de la catalase est calculée en suivant la décomposition du peroxyde d'hydrogène mesurée comme une décroissance de l'absorbance à 240 nm chaque minute pendant deux minutes. L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en UI/mg de protéines selon la relation suivante :

$$\text{UI/mg de protéine} = (2,3033/ T) \log (A_1/A_2) / \text{mg protéines.}$$

Sachant que :

A₁: Absorbance au temps 0 min

A₂: Absorbance au temps 1 min

T : Intervalle de temps en min

- **Mesure de l'activité de glutathion s transférase (GST)**

L'activité enzymatique de la GST hépatique est estimée par une méthode photométrique selon Habig et al. (1974). En résumé, 100 µl de CDNB 20 mM sont additionnés à 1,7 ml du tampon phosphate KH_2PO_4 (0,1 M ; pH = 6,5) et incubés à 37°C pendant 10min. Après incubation, 100µl du glutathion 20 mM sont ajoutés. Enfin, 100 µl du cytosol dilué au $1/10^{\text{ème}}$ sont ajoutés à la cuve de mesure au temps zéro. L'absorbance est suivie pendant 5 min avec une minute d'intervalle contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate. Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{GST activité } (\mu\text{moles/min}) = \frac{(\Delta A_{340}/\text{min Test} - \Delta A_{340}/\text{min Blanc})}{V_e} \times \frac{1}{9,6} \times \frac{1}{F}$$

Sachant que :

$\Delta A_{340}/\text{min Test}$: différence de l'absorbance

V_t : volume total de cuvette par ml

V_e : volume de fraction cytosolique ajouté par ml

F : facteur de dilution

9,6 : coefficient d'extinction millimolaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340 nm.

Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines.

- **Mesure de l'activité de la SOD**

L'activité enzymatique de la SOD est évaluée selon la méthode de Beauchamp et Fridovich (1971). Pour le dosage de la SOD, un milieu réactionnel est préparé contenant: la riboflavine 2×10^{-6} M, le Cyanide de Sodium (NaCN) 2×10^{-5} M, la méthionine 10^{-2} M, EDTA 6.6×10^{-3} M et la solution nitrobleu de tétrazolium (NBT) 1.76×10^{-4} M dans le tampon phosphate (pH 7.8). Puis 5µl de la fraction cytosolique sont ajoutés à 2 ml de ce milieu réactionnel. Le mélange est irradié pendant 10 min avec une lampe de 15 Watt. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 560 nm. Un tube control est préparé dans les mêmes conditions, mais en absence de la fraction cytosolique. La quantité d'enzyme, qui inhibe la réduction du NBT par 50% est prise comme unité d'activité de la SOD.

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{DO}_{\text{Control}} - \text{DO}_{\text{Echantillon}} / \text{DO}_{\text{Control}}) \times 100$$

$$\text{SOD UI/mg} = \% \text{ d'inhibition} \times 6.35$$

1.2.4.3. Evaluation de l'activité antalgique des composés phénoliques

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antalgique des extraits bruts obtenus à partir des feuilles séchées d'*Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca*, pour cela l'objectif visé dans ce travail est d'effectuer la méthode de Koster (1959). Elle consiste à induire une action algogène par l'administration de l'acide acétique (0.6 %), par voie intrapéritonéale (IP). Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales. L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes chaque cinq minute pendant 25 min après l'injection de l'agent algogène et de comparer cette activité à celle d'un analgésique utilisé en thérapeutique l'aspirine (Aspégic®).

Pour cela Les souris sont réparties en 14 lots de cinq souris comme suit :

- Le lot 1 : reçoit une solution physiologique (NaCl 0.9%) par gavage gastrique 20 min avant l'injection de l'acide acétique (0.6%) par voie IP.
- Le lot 2 : reçoit l'aspirine (Aspégic®) à 250 mg/ Kg par gavage gastrique avant 20 min de l'injection de l'acide acétique 0,6 % par voie IP.
- Les lots 3,4 et 5 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Achillea odorata* par gavage gastrique avant 20 min de l'injection de l'acide acétique 0.6% par voie IP.
- Les lots 6,7 et 8 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Eucalyptus globulus* par gavage gastrique avant 20 min de l'injection de l'acide acétique 0.6% par voie IP.
- Les lots 9,10 et 11 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Mentha rotundifolia* par gavage gastrique avant 20 min de l'injection de l'acide acétique 0.6% par voie IP.
- Les lots 12,13 et 14 reçoivent respectivement 200 mg/ kg, 400 mg/ kg et 600 mg/ kg d'extrait polyphénolique de la plante *Urtica dioica* par gavage gastrique avant 20 min de l'injection de l'acide acétique 0.6 % par voie IP.

Le pourcentage d'inhibition des crampes est calculé selon la formule suivante: (Chatter Riahi et al., 2011)

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = [\text{Moyenne témoin} - \text{Moyenne essai}] / \text{Moyenne témoin}.$$

2. Evaluation statistique

Les résultats des différentes évaluations effectuées *in vivo* sont donnés sous forme de moyenne \pm écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test *t* de Student à l'aide du logiciel 2003. La valeur trouvée par le calcul du *t* peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur *p* tel que :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative (ns);
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative (*);
- $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative (**);
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative (***).

Résultats et discussion

1. Etude phytochimique

1.1. Extraction des polyphénols

Le rendement d'extraction d'*A. odorata*, *E. globulus*, *M. rotundifolia* et *U. dioïca* sont calculés et présentés dans la figure 19.

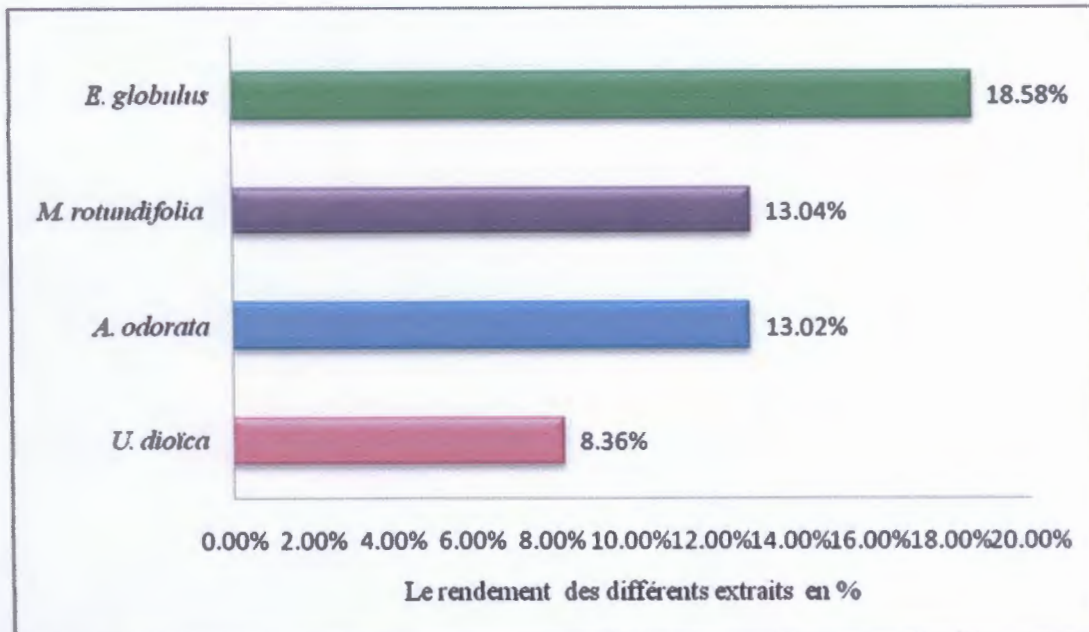


Fig. 19 : Résultats de rendement d'extraction au méthanol des feuilles des quatre plantes.

D'après les chiffres obtenus, on constate que le rendement varie d'une plante à une autre. *E. globulus* a montré un meilleur rendement, soit 18,58% contre 13,04% pour *M. rotundifolia*, 13,02% et 8,36% pour *A. odorata* et *U. dioïca* respectivement.

L'extraction des composés phénoliques à partir du matériel végétal est influencée par leur structure chimique, la méthode d'extraction, la taille des particules formant l'échantillon, le temps et les conditions de stockage ainsi que la présence d'interférents (Naczki and Shahidi, 2004). De plus, il est difficile de développer une procédure d'extraction souhaitable pour ces métabolites secondaires ou pour une classe spécifique de ces composés (Naczki and Shahidi, 2004; Robbins, 2003). Le solvant est aussi l'un des paramètres qui peut affecter l'extraction des polyphénols (Troszynska et al., 2002). L'extraction peut s'effectuer par plusieurs solvants tels que: l'eau, le méthanol, l'éthanol et l'acétone (Ribéreau-Gayon, 1968; Spignoni et al., 2007). Par ailleurs, les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants absolus (Ribéreau-Gayon, 1968; Spignoni et al., 2007). Il a été aussi montré que parmi les trois solvants, chloroforme, éthyle acétate, et méthanol, le méthanol est le plus utilisé pour l'extraction des composés polyphénoliques (Osawa and Namiki, 1981).

1.2. Teneurs en composés phénoliques des différents extraits

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins des différents extraits méthanoliques sont affichés dans le tableau IV.

D'après les résultats obtenus, les polyphénols sont présents dans les différentes plantes étudiées mais avec des teneurs variables d'une espèce à une autre. La teneur la plus élevée est notée pour *M. rotundifolia* ($745,67 \pm 1,67$ mg EAG/ g EB) suivi de celle d'*E. globulus*, d'*A. odorata* et

enfin d'*U. dioïca* ($643,94 \pm 0,98$ mg EAG/ g EB); ($448,80 \pm 1,04$ mg EAG/ g EB); ($52,35 \pm 2,87$ mg EAG/ g EB), respectivement.

Le tableau IV montre que le *E. globulus* possède la teneur la plus importante en flavonoïdes avec $153,54 \pm 1,12$ mg EQ/ g EB suivie de *M. rotundifolia* ($102,17 \pm 0,57$ mg EQ/ g EB) puis d'*A. odorata* ($97,77 \pm 0,91$ mg EQ/ g EB) et à la fin de *U. dioïca* ($41,25 \pm 1,51$ mg EQ/ g EB) qui présente le taux le plus faible.

Pour le dosage des tannins, les résultats obtenus montrent clairement que *E. globulus* possède la teneur la plus élevée en tannins ($37,00 \pm 2,81$ mg EAT/ g EB) suivie de celle d' *A. odorata* ($20,08 \pm 0,52$ mg EAT/ g EB), d'*U. dioïca* ($12,18 \pm 0,52$ mg EAT/ g EB) et *M. rotundifolia* qui présente la teneur la plus faible ($5,87 \pm 2,24$ mg EAT/ g EB).

Tableau IV : Evaluation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins des différents extraits des plantes étudiées.

| Partie utilisée : les feuilles séchées | | | |
|--|--|---|--|
| Extraits de plantes | Polyphénols (mg équivalent d'acide gallique/ g d'extrait brut) | Flavonoïdes (mg équivalent de quercétine/ g d'extrait brut) | Tannins (mg équivalent d'acide tannique/ g d'extrait brut) |
| <i>M. rotundifolia</i> | $745,67 \pm 1,67$ mg EAG/ g EB | $102,17 \pm 0,57$ mg EQ/ g EB | $5,87 \pm 2,24$ mg EAT/ g EB |
| <i>E. globulus</i> | $643,94 \pm 0,98$ mg EAG/ g EB | $153,54 \pm 1,12$ mg EQ/ g EB | $37,00 \pm 2,81$ mg EAT/ g EB |
| <i>A. odorata</i> | $448,80 \pm 1,04$ mg EAG/ g EB | $97,77 \pm 0,91$ mg EQ/ g EB | $20,08 \pm 0,52$ mg EAT/ g EB |
| <i>U. dioïca</i> | $52,35 \pm 2,87$ mg EAG/ g EB | $41,25 \pm 1,51$ mg EQ/ g EB | $12,18 \pm 0,52$ mg EAT/ g EB |

La méthode de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes adoptées dans la plupart des travaux concernant les antioxydants naturels, elle est considérée comme étant la meilleure méthode pour la quantification des polyphénols totaux (Spignou et al., 2007). Cette méthode repose sur la capacité d'un phénol à réduire le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune constitué de l'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolibdique en milieu alcalin, en un mélange de tungstène et de molybdène de couleur bleue, dont l'absorbance maximale est comprise entre 700 et 760 nm (Ribéreau-Gayon et al., 1982 ; Siger et al., 2008). Les résultats obtenus ont révélé que *M. rotundifolia* et *E. globulus* possèdent les teneurs les plus élevées en polyphénols ($745,67 \pm 1,67$ mg EAG/ g EB et $643,94 \pm 0,98$ mg EAG/ g EB respectivement) en comparaison avec les autres extraits méthanoliques. Atoui et ses collaborateurs (2005) ont trouvé une teneur en polyphénols plus faible ($113 \pm 1,33$ mg EAG/ g EB) à partir des feuilles d'*E. globulus*.

2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques *in vivo*

2.1. Mesure de l'œdème de la patte arrière droite des souris

Les résultats de mesure de l'œdème des pattes des souris traitées ou non par les extraits polyphénoliques en fonction du temps sont représentés graphiquement par les figures 20, 21, 22 et 23.

Le volume de l'œdème a diminué d'une façon très hautement significative chez le lot traité par l'extrait d'*A. odorata* à 200 mg/kg, qui passe d'une moyenne de 2.88 ± 0.18 mm chez le standard à 1.26 ± 0.08 mm chez le lot traité après 30 min du traitement. Par ailleurs, ce volume passe d'une valeur de 3.31 ± 0.034 mm chez le lot standard contre 0.23 ± 0.11 mm après 240 min du traitement. Pour le reste des résultats obtenus avec les doses de 400 et 600 mg/kg du même extrait, les valeurs de la régression des œdèmes sont hautement et très hautement significative après des intervalles de temps de 30 min pendant 240 min (figure 20).

Le volume de l'œdème a régressé significativement chez le lot traité par l'extrait d'*E. globulus* (600 mg/kg), qui passent d'une moyenne de 2.88 ± 0.18 mm chez le standard à 2.13 ± 0.31 mm chez le lot traité après 30 min du traitement. Par ailleurs, ce volume passe d'une valeur de 3.31 ± 0.034 mm chez le lot standard contre 0.5 ± 0.09 mm après 240 min du traitement. Pour le reste des résultats obtenus avec les doses de 200 et 400 mg/kg du même extrait, les valeurs de la diminution des œdèmes sont variables dans les intervalles de temps utilisés (figure 21).

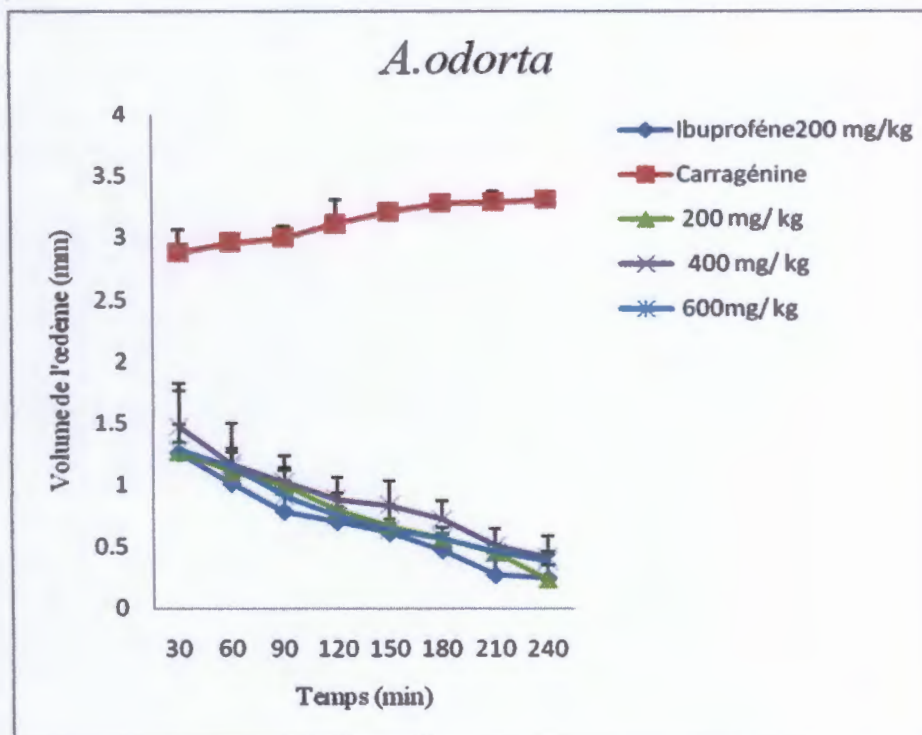


Fig.20 : Effet de l'extrait brut d'*A. odorata* et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.

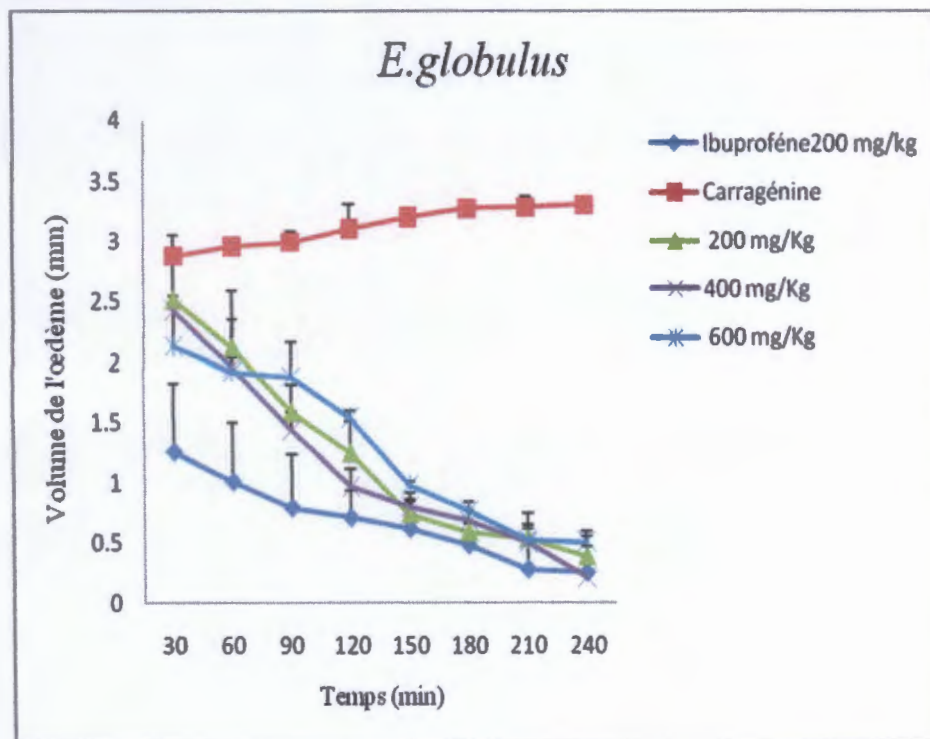


Fig.21 : Effet de l'extrait brut d'*E.globulus* et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.

Le volume de l'œdème a régressé significativement chez le lot traité par l'extrait de *M. rotundifolia* (200 mg/kg), qui passent d'une moyenne de 2.88 ± 0.18 mm chez le standard à 1.34 ± 0.12 mm chez le lot traité après 30 min du traitement. Par ailleurs, ce volume passe d'une valeur de 3.31 ± 0.034 mm chez le lot standard contre 0.72 ± 0.04 mm après 240 min du traitement. Pour le reste des résultats obtenus avec les doses de 400 et 600 mg/kg du même extrait, les valeurs de la régression des œdèmes sont hautement et très hautement significative dans les intervalles de temps utilisés (figure 22).

Le volume de l'œdème a diminué significativement chez le lot traité par l'extrait d'*U.dioïca* (600 mg/kg), qui passent d'une moyenne de 2.88 ± 0.18 mm chez le standard à 1.41 ± 0.28 mm chez le lot traité après 30 min du traitement. Par ailleurs, ce volume passe d'une valeur de 3.31 ± 0.034 mm chez le lot standard contre 0.37 ± 0.24 mm après 240 min du traitement. Pour le reste des résultats obtenus avec les doses de 200 et 400 mg/kg du même extrait, les valeurs de la régression des œdèmes sont hautement et très hautement significative dans les intervalles de temps utilisés (figure 23).

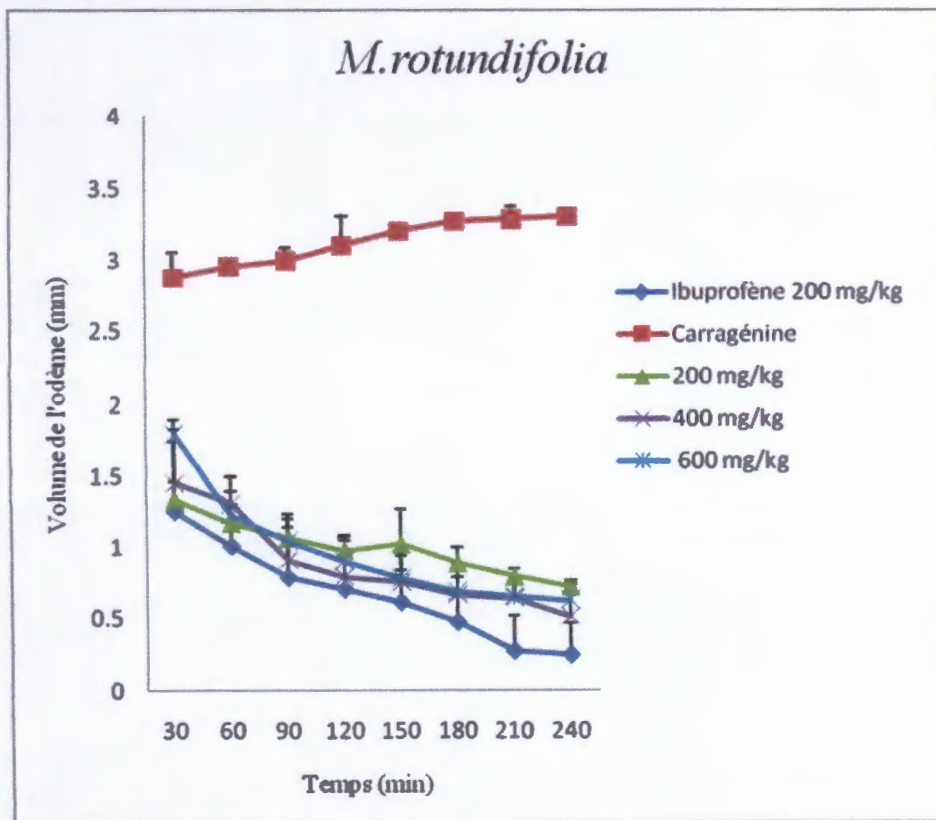


Fig.22 : Effet de l'extrait brut de *M. rotundifolia* et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.

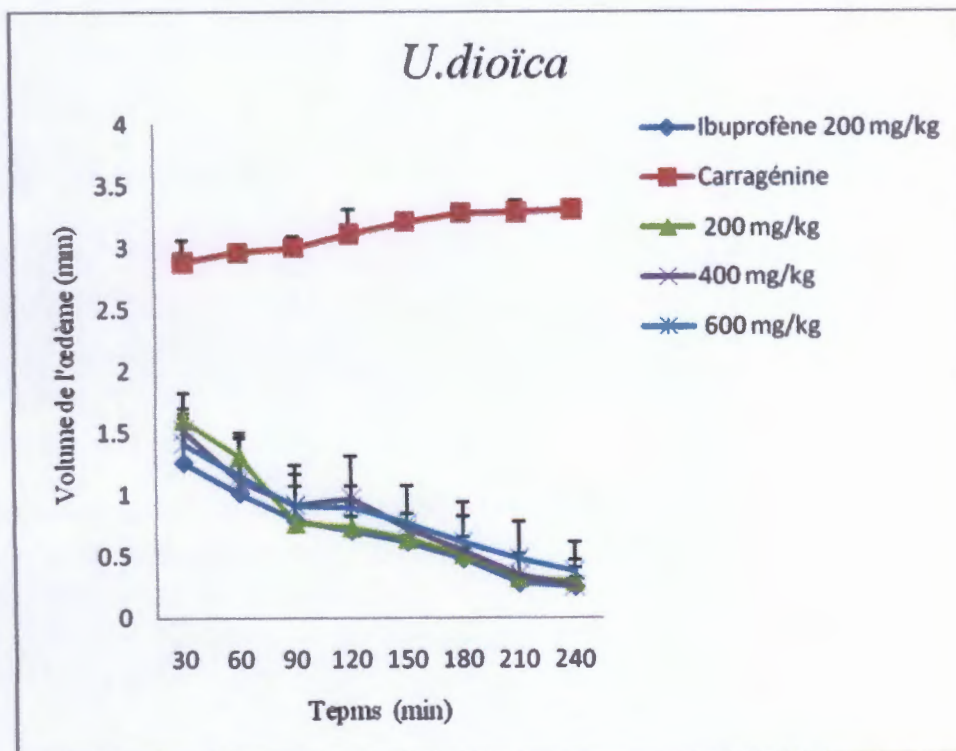


Fig.23: Effet de l'extrait brut d' *U.dioïca* et du l'ibuprofène sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.

Dans notre étude l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques des feuilles d'*Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica* à différentes doses (200 mg/kg, 400 mg/kg et 600 mg/kg) a été évaluée par la mesure de l'œdème dans un modèle *in-vivo* en utilisant la carragénine comme molécule pro-inflammatoire. Ce modèle est le plus étudié pour tester l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de n'importe quelle molécule (Gerhard, 2002). Cette activité est souvent représentée sous forme de volume d'augmentation de la taille de l'œdème et en pourcentage d'inhibition de l'œdème, ce dernier traduit l'activité anti-inflammatoire proprement dite. Dans notre screening, les résultats obtenus ont été comparés à un anti-inflammatoire de référence, l'ibuprofène à 200 mg/kg.

2.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits polyphénoliques et un anti-inflammatoire de référence l'Ibuprofène

Les pourcentages d'inhibition des mesures de l'œdème dans un intervalle de temps allant de 30 min à 240 min sont illustrés dans le tableau V.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème le plus élevé est observé avec l'extrait d'*A. odorata* à 200 mg/kg après 30 min du traitement avec une valeur de $56,13 \pm 0,02$ % par contre le pourcentage le plus faible est marqué avec *E. globulus* à 200 mg/kg avec une valeur de $12,73 \pm 0,14$. Par ailleurs, après 240 min du traitement le pourcentage d'inhibition de l'œdème le plus élevée est observé avec l'*E. globulus* à 400 mg/kg avec une valeur de $93,75 \pm 0,04$ % qui dépasse celle enregistrée avec l'Ibuprofène, par contre le pourcentage le plus faible est marquée avec *M. rotundifolia* à 200mg/kg avec une valeur de $78,15 \pm 0,01$ %.

Tableau V : Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits polyphénoliques et un anti-inflammatoire de référence l'Ibuprofène.

| Temps(min) Traitement | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 210 | 240 |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Ibuprofène | 1.25±0.56 (56,37%) | 1.01±0.49 (65,88%) | 0.79±0.44 (73,67%) | 0.70±0.22 (77,28%) | 0.61±0.22 (80,79%) | 0.47±0.18 (85,47%) | 0.27±0.23 (91,59%) | 0.25±0.21 (92,45%) |
| A.odorta | | | | | | | | |
| 200 mg/kg | 1.26±0.08 (56,13%)ns | 1.10±0.04 (62,61%)ns | 0.98±0.12 (67,11%)ns | 0.80±0.02 (74,17%)ns | 0.67±0.06 (79,13%)ns | 0.57±0.04 (82,62%)ns | 0.45±0.06 (86,12%)ns | 0.23±0.11 (92,85%)ns |
| 400 mg/kg | 1.47±0.28 (48,84%)ns | 1.17±0.09 (60,47%)ns | 1.02±0.1 (65,89%)ns | 0.88±0.16 (71,49%)* | 0.84±0.18 (73,83%)* | 0.72±0.15 (77,95%)* | 0.50±0.14 (84,6%)* | 0.41±0.17 (87,51%)* |
| 600 mg/kg | 1.28±0.20 (55,56%)ns | 1.14±0.14 (61,37%)ns | 0.91±0.11 (69,56%)ns | 0.75±0.01 (75,78%)ns | 0.64±0.05 (80,06%)ns | 0.57±0.02 (82,52%)ns | 0.45±0.02 (86,12%)ns | 0.38±0.04 (88,42%)ns |
| E.globulus | | | | | | | | |
| 200 mg/kg | 2.51±0.41 (12,73%)* | 2.12±0.46 (28,15%)* | 1.59±0.21 (47%)* | 1.25±0.26 (59,80%)* | 0.74±0.12 (76,94%)ns | 0.58±0.08 (82,11%)ns | 0.53±0.1 (83,68%)ns | 0.38±0.1 (88,41%)ns |
| 400 mg/kg | 2.42±0.12 (15,85%)* | 1.96±0.07 (33,67%)* | 1.44±0.14 (52%)* | 0.97±0.14 (68,81%)ns | 0.79±0.12 (75,28%)ns | 0.67±0.09 (79,47%)ns | 0.49±0.24 (84,90%)ns | 0.20±0.15 (93,75%)ns |
| 600 mg/kg | 2.13±0.31 (25,92%)* | 1.92±0.42 (35,13%)* | 1.88±0.28 (37,33%)* | 1.54±0.06 (50,48%)* | 0.98±0.02 (69,47%)* | 0.76±0.06 (76,62%)* | 0.51±0.09 (84,29%)ns | 0.5±0.09 (84,89%)ns |
| M.rotundifolia | | | | | | | | |
| 200 mg/kg | 1.34±0.12 (53,47%)ns | 1.17±0.12 (60,36%)ns | 1.07±0.07 (64,33%)ns | 0.98±0.1 (68,49%)ns | 1.02±0.24 (68,12%)ns | 0.89±0.11 (72,87%)* | 0.79±0.05 (75,79%)* | 0.72±0.04 (78,15%)* |
| 400 mg/kg | 1.45±0.29 (49,54%)ns | 1.30±0.08 (55,86%)ns | 0.91±0.23 (69,67%)ns | 0.79±0.25 (74,49%)ns | 0.75±0.26 (76,53%)ns | 0.66±0.21 (79,78%)ns | 0.64±0.20 (80,55%)ns | 0.51±0.19 (84,49%)ns |
| 600 mg/kg | 1.79±0.10 (37,62%)* | 1.23±0.06 (58,45%)ns | 1.04±0.16 (65,22%)ns | 0.9±0.17 (71,06%)ns | 0.78±0.16 (75,7%)* | 0.68±0.10 (79,07%)* | 0.65±0.10 (80,04%)* | 0.62±0.11 (81,17%)* |
| U.dioca | | | | | | | | |
| 200 mg/kg | 1.60±0.01 (44,33%)ns | 1.31±0.15 (55,74%)ns | 0.77±0.04 (74,33%)ns | 0.73±0.09 (76,42%)ns | 0.64±0.02 (80,06%)ns | 0.51±0.04 (84,35%)ns | 0.32±0.008 (90,27%)ns | 0.29±0.02 (91,24%)ns |
| 400 mg/kg | 1.52±0.13 (47,11%)ns | 1.11±0.17 (62,27%)ns | 0.91±0.24 (69,44%)ns | 0.97±0.34 (68,81%)ns | 0.72±0.34 (77,47%)ns | 0.53±0.28 (83,64%)ns | 0.34±0.17 (89,56%)ns | 0.24±0.15 (92,55%)ns |
| 600 mg/kg | 1.41±0.28 (50,93%)ns | 1.15±0.3 (60,92%)ns | 0.91±0.15 (69,67%)ns | 0.9±0.17 (71,06%)ns | 0.76±0.3 (76,12%)ns | 0.62±0.31 (81,1%)ns | 0.48±0.30 (85,41%)ns | 0.37±0.24 (88,62%)ns |

Les valeurs du volume de l'œdème sont données en moyenne \pm Ecart type. Comparaisons faites entre les groupes prétraités par les différents extraits à tester et le groupe traité par l'ibuprofène. Les valeurs entre parenthèses sont les pourcentages d'inhibitions de l'œdème. Pour $p > 0,05$ la différence n'est pas significative (ns); * $P < 0.05$ représente une différence significative; ** $P < 0.01$ représente une différence hautement significative; *** $P < 0.001$ représente une différence très hautement significative.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition a montré que les extraits polyphénoliques des feuilles des quatre plantes étudiées possèdent une activité anti inflammatoire remarquable. En effet, à 30 min les extraits d'*Achillea odorata* (200 mg/kg), *Mentha rotundifolia* (200 mg/kg) et *Urtica dioica* (600 mg/kg) ont montré respectivement un pourcentage d'inhibition de (56,13 \pm 0,02), (53,47 \pm 0,05) et (50,93 \pm 0,12) similaire à celui de l'ibuprofène (200 mg/kg) (56,37 \pm 0,19). Par ailleurs à 240 min, l'*E. globulus* a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé (93,75 \pm 0,04).

Les modèles de criblage de l'évaluation des activités anti-inflammatoires fournissent des données préliminaires importantes pour aider à la sélection d'extrait des plantes à propriétés anti-inflammatoires potentiel pour les futurs travaux. Plusieurs espèces végétales riches en polyphénols en particulier les flavonoïdes sont rapportés ayant des propriétés préventives et thérapeutiques. Cette observation est d'une importance particulière puisque les flavonoïdes sont des ingrédients de nombreux fruits et légumes et que l'association de ces biomolécules avec la réduction de l'inflammation a été rapportée par plusieurs études (Ramos, 2007; Ren et al., 2003). Donc il devrait y avoir une corrélation étroite entre la teneur en composés phénoliques et les activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Bravo, 1998).

En effet, des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes diminueraient la production de NO par l'inhibition des protéines induisant la synthèse de iNOS (synthase inductible de NO) notamment par inhibition de l'activation de NF- κ B (Mladinka et al., 2010), la lutéoline, l'apigénine, la catéchine, la quercétine, le kaempférol et la myricétine ont une action inhibitrice sur la cyclo-oxygénase (COX) enzyme synthétiques des molécules impliquées fortement dans le processus inflammatoire (Girotti, 2006; Tapas et al., 2008). La quercétine aussi inhibe l'enzyme de synthèse; la lipo-oxygénase pour les leucotriènes qui sont des médiateurs de l'inflammation (Middleton et Drzewiecki, 1984).

L'analyse de l'expression des gènes et de la sécrétion de plusieurs cytokines dans des mastocytes humains (cellules HMC-1) a révélé que la fisétine, la quercétine et la rutine diminuaient l'expression et la production du TNF- α , de l'IL-1- β , de l'IL-6 et de l'IL-8. La myricétine, quand à elle, a diminué celles du TNF- α et de l'IL-6 mais pas celles de l'IL-1- β ou de l'IL-8. La fisétine, la myricétine et la rutine ont supprimé l'activation de NF- κ B (Park et al., 2008). Des études menées *in vitro* ont montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'apigénine inhibaient la production de cytokines telles que IL-4, IL-5 et IL-13 et que le Kaempférol inhibe l'expression et la sécrétion du TNF- α de l'IL-1 β ou de l'IL-6 dans les mastocytes (Gonzalez-Gallego et al., 2010). Les flavonoïdes sont capables de moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs de l'inflammation (González-Gallego et al., 2007). D'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim et al., 2004).

Ainsi, l'activité anti-inflammatoire enregistrée dans cette étude peut être expliquée par la présence de ces métabolites secondaires puisque notre screening phytochimique a révélé la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des quatre plantes.

2.3. Evaluation des indicateurs sanguins de l'inflammation

2.3.1. Les résultats des analyses hématologiques

- Le pourcentage des lymphocytes et des granulocytes ainsi que le dénombrement des globules blancs dans le sang des souris traitées ou non par les extraits polyphénoliques des différentes plantes étudiées dans notre travail, est illustré par les figures 24, 25 et 26. Les résultats de notre étude montrent qu'il y a une diminution hautement significative des lymphocytes et des granulocytes ($p < 0.01$) dans l'ensemble de globules blancs qui diminue très hautement significativement ($p < 0.001$) aussi dans le sang des souris traitées par *L'E.globulus* par rapport au groupe témoin positif.

- Les résultats de ce travail montrent aussi qu'il y a une diminution très hautement significative des lymphocytes, des granulocytes et des globules blancs ($p < 0,001$) dans le sang des souris traitées par *A. odorata*, *U. dioïca* et *M. rotundifolia* et *E. globulus* à différentes concentrations par rapport au groupe témoin positif.

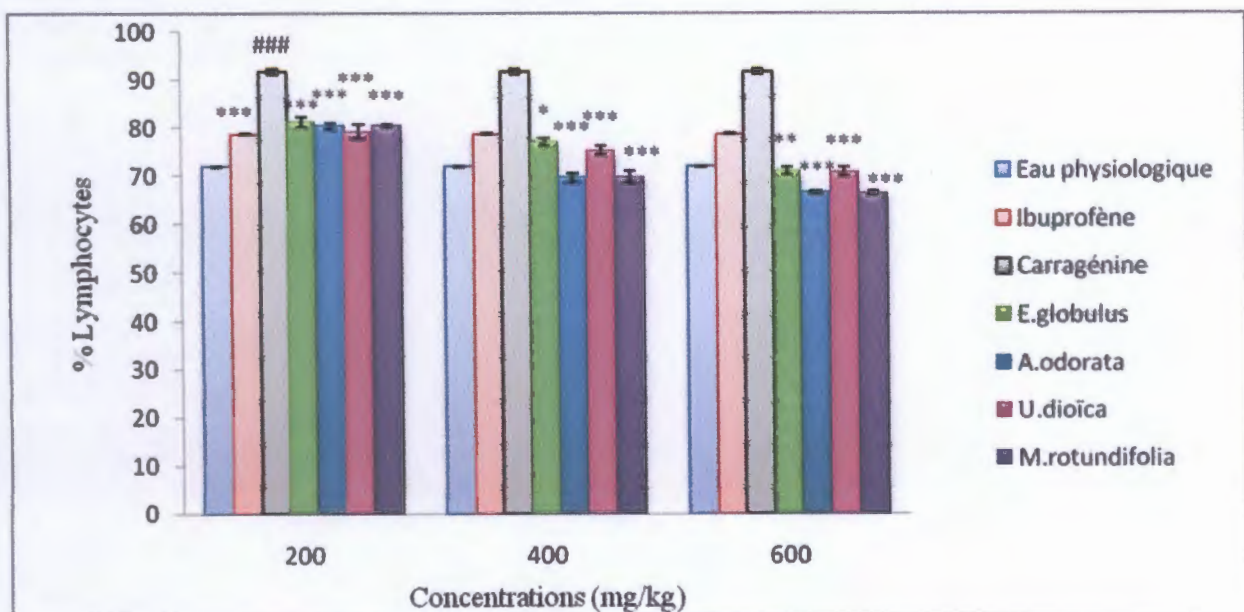


Fig.24 : Le pourcentage des lymphocytes chez les souris traitées par des différents extraits polyphénoliques.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ### $p < 0.001$ très hautement significative comparaison par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ très hautement significative, ** $p < 0.01$ hautement significative et $p < 0.05$: différence significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

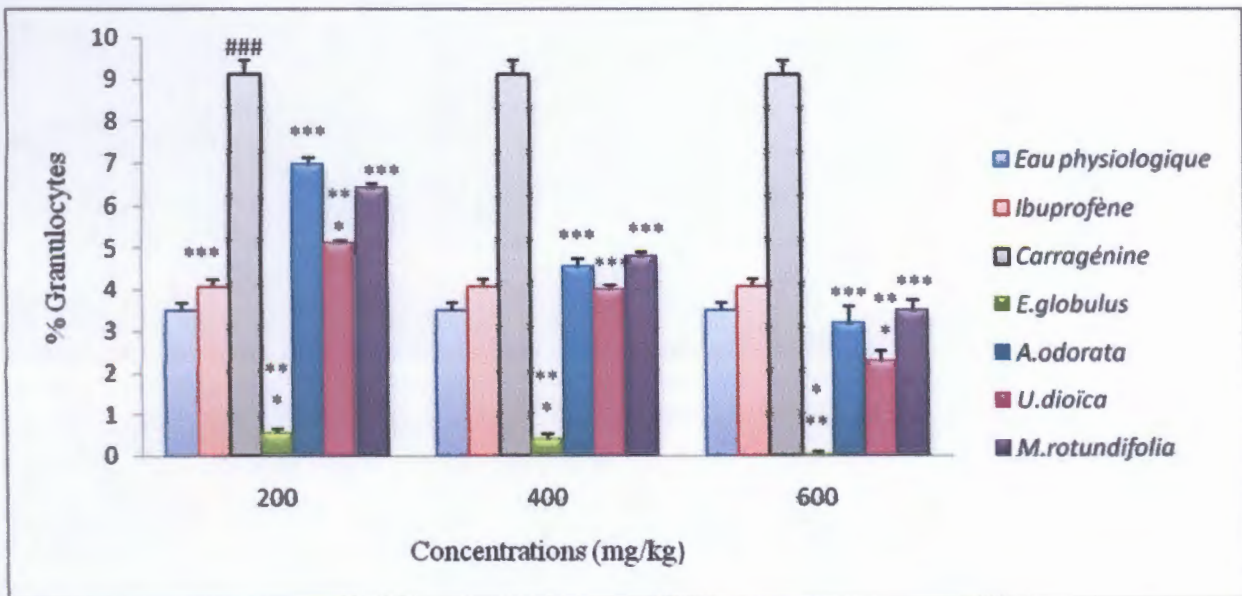


Fig.25 : Le pourcentage des granulocytes chez les souris traitées par des différents extraits polyphénoliques.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ### $p < 0.001$ très hautement significative comparaison par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ différence très hautement significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

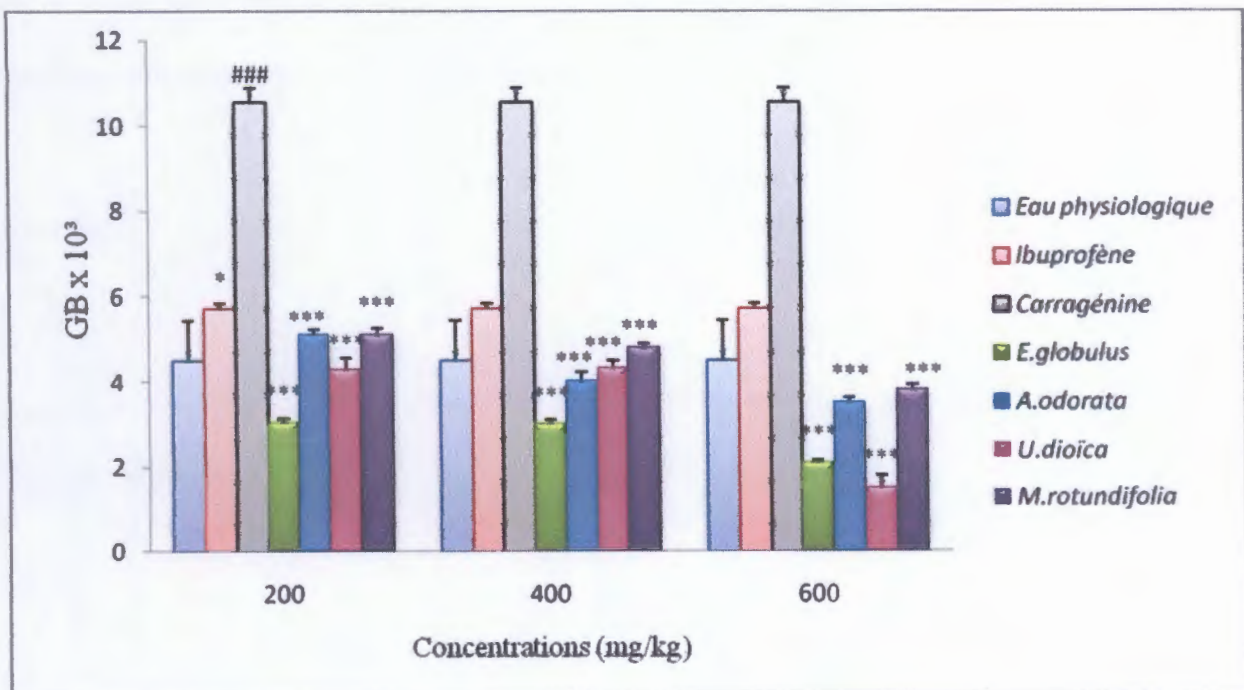


Fig.26 : Le nombre des globules blancs chez les souris traitées par les différents extraits polyphénolique.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ### $p < 0.001$ très hautement significative comparaison par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ différence très hautement significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

- L'indicateur biochimique sanguin de l'inflammation mesuré est la CRP. Sa présence dans le sang des souris traitées ou non par les différents extraits polyphénoliques est mentionnée ou non dans le tableau VI. Ces résultats montrent l'absence de cet indicateur dans le sang de toutes les souris traitées par les extraits sauf chez les souris traitées par *A.odorata* et *M.rotundifolia* à 200mg/kg.

Tableau VI : Les résultats des analyses hématologiques de la CRP

| Dose (mg/kg) | 200 | 400 | 600 |
|------------------------|----------|----------|----------|
| Lot | | | |
| Eau physiologique | négative | | |
| Carragénine | positive | | |
| Ibuprofène 200 mg/kg | négative | | |
| <i>A. odorata</i> | positive | négative | négative |
| <i>E. globulus</i> | négative | négative | négative |
| <i>M. rotundifolia</i> | positive | négative | négative |
| <i>U. dioïca</i> | négative | négative | négative |

Les polyphénols auraient une action sur les populations lymphocytaires impliquées dans la réponse immunitaire ainsi que sur les médiateurs de l'inflammation associés comme les cytokines. Il a également été décrit que ces micronutriments étaient capables de protéger les structures cellulaires des altérations oxydatives et stimulaient l'expression et l'activité des défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques face au stress oxydant associé à l'inflammation (Lenoir, 2011).

2.4. Evaluation des différents paramètres du statut redox dans le foie

2.4.1. Dosage de malonyldialdéhyde (MDA)

Les résultats de la quantification du MDA cytosolique chez les différents lots des souris traitées ou non par les extraits polyphénoliques sont illustrés par la figure 27. Le dosage de ce paramètre montre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez le témoin carragénine par rapport au témoin négatif. Une diminution significative, hautement et très hautement significative est constatée chez tous les lots de souris ayant reçu les différents extraits polyphénoliques des différentes plantes étudiées.

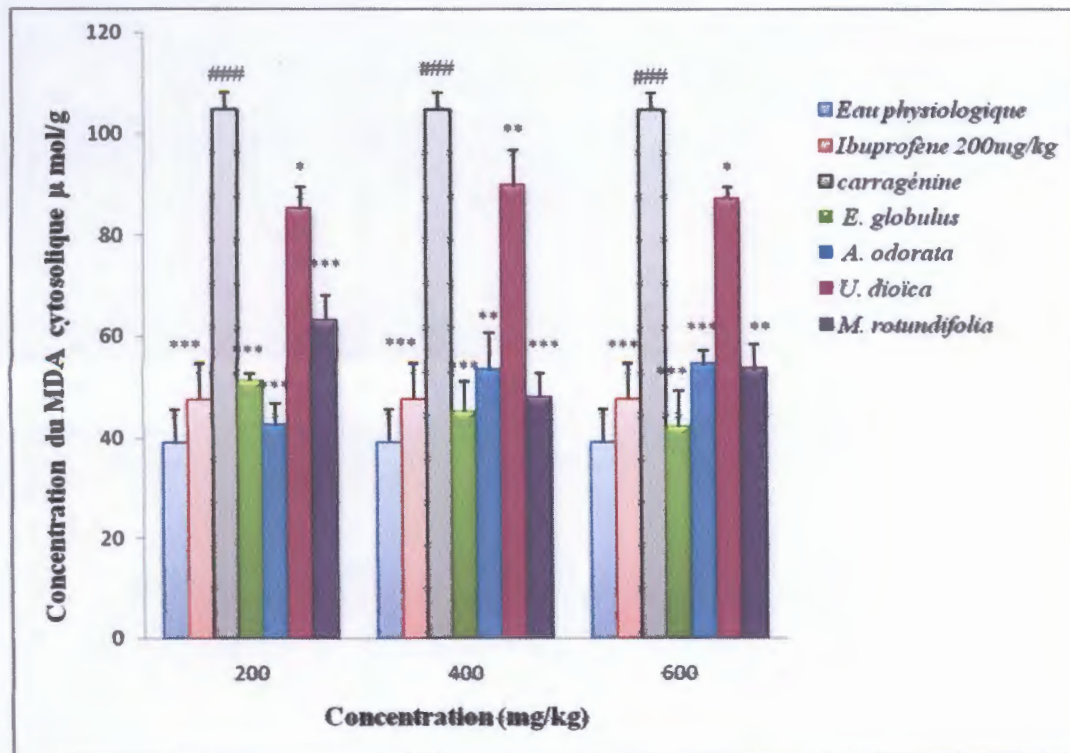


Fig. 27 : Variation du MDA cytosolique des hépatocytes des différents lots traités ou non par les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ### $p < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ très hautement significative, ** $p < 0.01$ hautement significative et * $p < 0.05$ significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

La peroxydation lipidique est un unique évènement oxydatif qui peut altérer de nombreuses molécules lipidiques et induire une accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les membranes ce qui réduira leur fluidité (Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006). Elle est déterminée principalement par la mesure du MDA. L'augmentation de taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ROS qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (Limaye et al., 2003). Notre étude a révélé une augmentation très hautement significative des MDA cytosoliques chez le groupe des souris recevant la carragénine par rapport au groupe témoin négatif. Cette augmentation s'explique par une production excessive de radicaux libres, en particulier le H_2O_2 . Ce dernier a été décrit dans la muqueuse de rats enflammés (Shi et al. 2011) et également dans le plasma d'un modèle azoxyméthane (AOM) chez la souris (Ashokkumar et al. 2008). Par ailleurs, les lots recevant les différents extraits polyphénoliques de différentes plantes utilisées ont montré une diminution significative, hautement et très hautement significative de taux des MDA cytosoliques. Babu et al., (2006) ont rapporté que les polyphénols du thé vert peuvent inhiber la formation des EORs par inhibition de l'enzyme xanthine oxydase. Ils ont aussi rapportés que les polyphénols exercent une activité antioxydante en chélatant les métaux de transition qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres via la réaction de fenton. Les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour capturer les radicaux libres, ainsi plusieurs études ont montré la capacité de capture des radicaux libres par les composés phénoliques (Babu et al., 2006 ; Santos-Gomes et al., 2002).

2.4.2. Evaluation de glutathion hépatique (GSH)

Les résultats de quantification de la teneur cytosolique en glutathion dans les hépatocytes chez les différents lots des souris traités ou non par les extraits polyphénoliques sont illustrés dans la figure 28. Une diminution hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux de GSH cytosolique de ces cellules est constatée chez le groupe recevant la carragénine seule par rapport au groupe témoin. Une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) est marquée chez les groupes de l'ibuprofène et d'extrait polyphénolique d'*U. dioïca* à 400 et 600 mg/kg par rapport au groupe recevant la carragénine. Une augmentation significative ($p < 0.05$) chez les groupes des souris traités par les extraits polyphénoliques d'*E. globulus* 200, 400 et 600 mg/kg, d'*Achillea odorata* 400 mg/kg et de d'*Urtica dioïca* 200 mg/kg à été remarquée. Par ailleurs, une augmentation non significative est constatée chez les groupes recevant les extraits polyphénoliques de *M. rotundifolia* à 200, 400 et 600 mg/kg et d'*A. odorata* à 200 et 600 mg/kg par rapport au groupe recevant la carragénine.

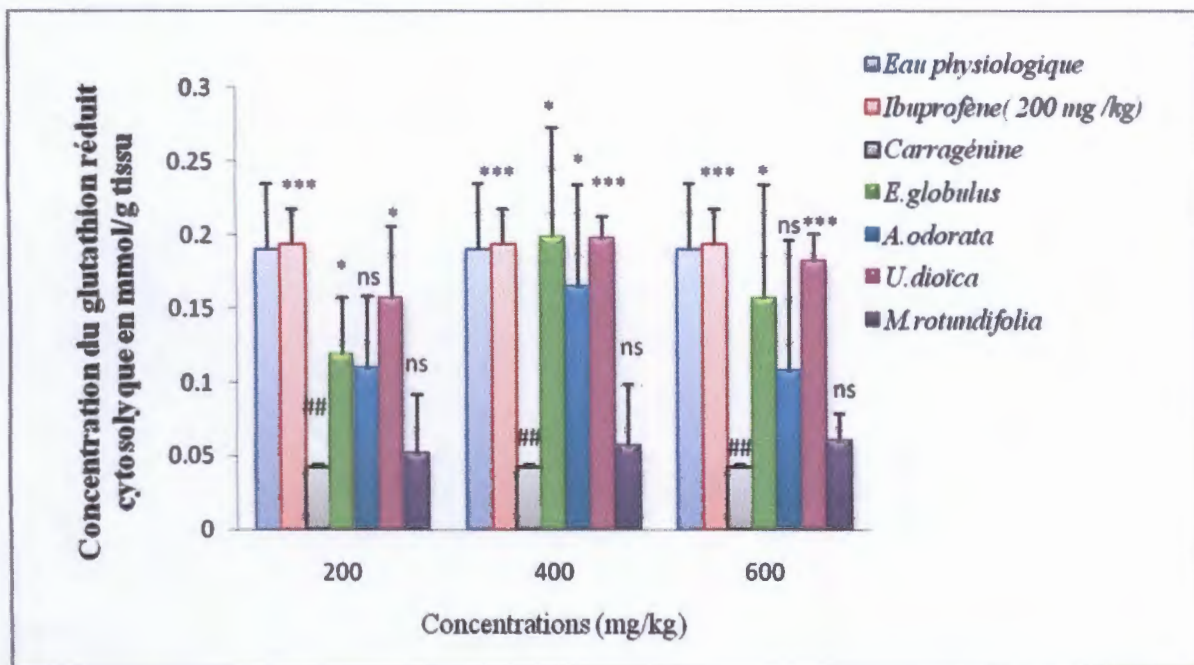


Fig. 28 : Variation de l'activité du GSH réduit cytosolique des hépatocytes des différents groupes traités ou non par les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées.

Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ## $p < 0.01$ hautement significative comparaison par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ très hautement significative, * $p < 0.05$ significative et ns : différence non significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant (Sathishsekar and Subramanian, 2005). La cellule dispose pour sa protection le GSH porteur d'une fonction thiol par la quelle il se complexe aux métabolites toxiques (Morin et al., 2001). C'est un piègeur direct des radicaux libres, un cosubstrat nécessaire pour l'activité GPx et la GST (Ravi et al., 2004) et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée (Dominguez et al., 1998). Par conséquent, les changements dans l'état redox du GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant (Taleb-Senouci et al., 2009).

Dans notre étude une diminution très hautement significative du taux de glutathion a été observée chez le groupe traité par la carragénine par rapport au groupe témoin sain. La déplétion de GSH pourrait être due à sa consommation lors des réactions de la conjugaison avec les métabolites de la carragénine, avec les produits de la peroxydation lipidique et avec le peroxyde d'hydrogène qui est produit au cours de l'inflammation responsable des lésions tissulaire (Mulier

et *al.*, 1998). Des travaux ont montré que les lésions tissulaires induites par différents stimuli sont couplées avec déplétion importante de GSH (Paller and Patten, 1992; Sener et *al.*, 2003).

Oz et *al.* (2005) ont rapportés que chez des souris enflammées, une diminution du GSH et du ratio GSH/GSSG est observée dans le plasma, montrant ainsi un état oxydatif systémique. Au cours du phénomène inflammatoire, il a été montré que les autres antioxydants non enzymatiques tels que les vitamines C et E étaient également diminués (Ashokkumar et *al.* 2008). Une augmentation significative et très hautement significative et l'autre non significative des concentrations de GSH dans les cytosols des animaux traités par les extraits polyphénoliques des plantes suggèrent que ces extraits ont pu soit augmenter la biosynthèse du glutathion soit réduire le stress oxydatif conduisant à une baisse de sa dégradation ou bien en influençant les deux mécanismes en même temps (Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005). Autrement dit, les composés des extraits administrés ont un effet scavenger, les radicaux libres vont être captés par ces composé et non pas par le GSH (Quinlan et gutteridge, 1988). D'autre part, les composés polyphénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres cela peut donc participer directement dans la réduction de l'utilisation du GSH (Babu et *al.*, 2006).

2.4.3. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes

2.4.3.1. Evaluation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

Les résultats de l'évaluation de l'activité du superoxyde dismutase cytosolique dans les cellules hépatiques chez les différents groupes des souris traités ou non par les extraits polyphénolique sont représentés dans la figure 29. Une baisse non significative du taux cytosolique de la SOD est observée chez le groupe recevant la carragénine seule par rapport au groupe témoin. De même, une augmentation non significative chez les groupes de l'ibuprofène et des extraits polyphénoliques d'*U. dioica* 200, 400 et 600 mg/kg par rapport au groupe carragénine a été observée. Par contre, pour l'*E.globulus* on a constaté une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe recevant l'extrait polyphénolique à 400 mg/kg et hautement significative ($p < 0.01$) chez les groupes recevant l'extrait à 200 et 600 mg/kg. Pour *A. odorata*, on a constaté une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez le groupe recevant l'extrait polyphénolique à 200 mg/kg et significative ($p < 0.05$) chez les groupes recevant l'extrait à 400 et 600 mg/kg. Pour *M. rotundifolia*, on a remarqué une augmentation significative ($p < 0.05$) chez les groupes recevant l'extrait polyphénolique à 400 et 600 mg/kg et non significative ($p > 0.05$) chez le groupe recevant l'extrait à 200 mg/kg.

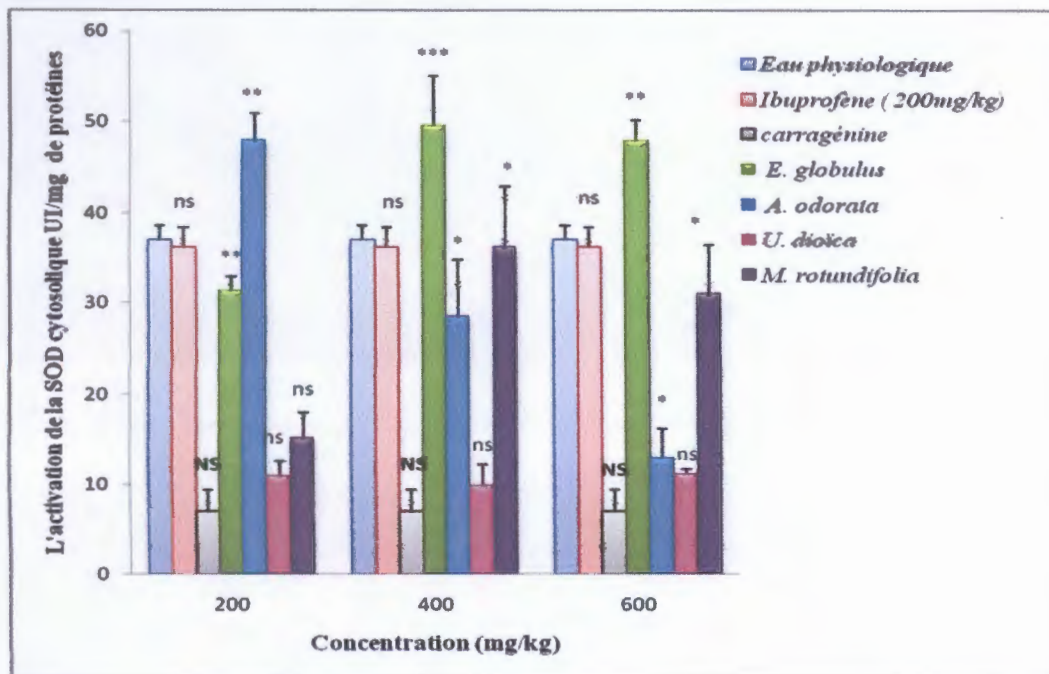


Fig. 29 : Variation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase cytosolique des hépatocytes des différents groupes traités ou non par les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées.

Les résultats sont donnés en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: NS : non significative comparaison par rapport au témoin négatif. ns : non significative, *** $p < 0.001$ très hautement significative, ** $p < 0.01$ hautement significative, * $p < 0.05$ différence significative et ns : non significative comparaison par rapport au groupe carragénine.

La SOD est l'une des plus importantes enzymes antioxydantes du système de défense de l'organisme. La fonction majeure de la SOD est de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et donc réduire les effets toxiques dus à ce radical libre ou des autres radicaux qui dérivent des réactions secondaires (Yue et al., 2005). Cette étude a montré une baisse non significative du taux cytosolique de la SOD chez le groupe recevant la carragénine sachant que la cellule utilise cette enzyme comme étant première barrière enzymatique antioxydante d'où sa diminution. L'augmentation de l'activité de la SOD chez les groupes traités par les extraits polyphénoliques de différentes plantes laisse penser que cette défense oxydante pourrait être réactivée par des principes actifs présents dans l'extrait, qui ont pu provoquer une augmentation de la capacité de détoxication par l'amélioration de la capture des radicaux libres.

2.4.3.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT)

L'activité de la catalase a présenté une diminution très hautement significative ($p < 0.01$) dans le lot de la carragénine par rapport au témoin négatif (figure 30). Par contre, une augmentation significative ($p < 0.05$) a été marquée dans les lots recevant les extraits d'*A.odorata* (200 et 400 mg/kg), *E. globulus* (400 mg/kg), *U. dioica* et *M. rotundifolia* (600 mg/kg). Par contre, une augmentation non significative a été constatée chez le reste des lots (*E. globulus* 200 et 600 mg/kg; *U. dioica* et *M. rotundifolia* 200, 400 mg/kg et *A. odorata* 600 mg/kg).

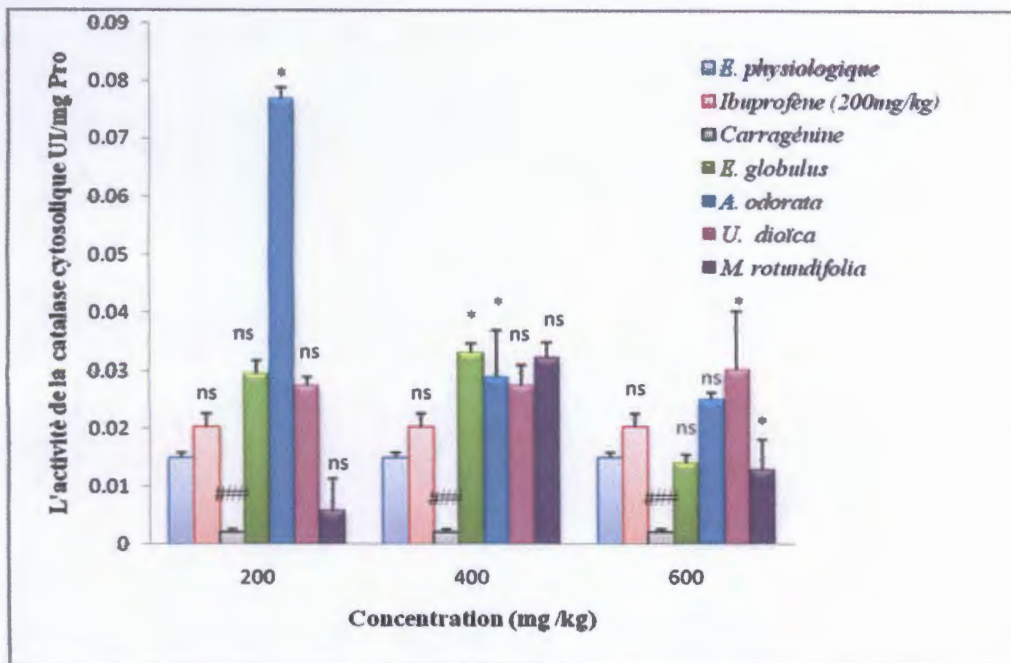


Fig. 30 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique hépatique chez les différents groupes de souris traités ou non par les extraits polyphénolique.

Les résultats sont donnés en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: ### $p < 0.001$ comparaison par rapport au témoin négatif. * $p < 0.05$ la différence est significative comparaison par rapport au groupe témoin positif. ns : non significative.

Tout composé, naturel ou synthétique, avec des propriétés antioxydantes, pourraient contribuer à l'atténuation partielle ou totale des dommages qui peuvent être provoqués par les EORs. L'anion superoxyde et les radicaux hydroxyles induisent de diverses lésions dans les organes et peuvent jouer un rôle important dans certaines altérations cliniques. Par conséquent, la suppression de $O_2^{\cdot-}$ et $\cdot OH$ est probablement l'un des moyens les plus efficaces de défense contre les maladies (Pari & Latha, 2005). Cependant, ce processus peut entraîner la peroxydation lipidique si l' H_2O_2 n'est pas décomposé immédiatement (Taleb-Senouci et al., 2009). La catalase (CAT) est une hémoprotéine qui catalyse la réduction des peroxydes d'hydrogène en H_2O et en oxygène et protège les tissus des radicaux hydroxyles qui sont très réactifs (Sathishsekar and Subramanian, 2005). Dans la présente étude, nous avons constatée une diminution très hautement significative de l'activité de la catalase chez le lot recevant seulement la carragénine par rapport au lot témoin négatif. Cependant, la plupart des auteurs penchent pour l'hypothèse selon laquelle la diminution des taux de la superoxyde dismutase et de la catalase serait due à une augmentation de la peroxydation lipidique (Ramakrishna et al., 2007 ; Vinodhkumar et al., 2006). Par contre l'activité de la catalase est augmentée significativement ou non significativement chez les lots recevant les extraits. Cette élévation pourrait être due à une réponse adaptative à la génération des radicaux libres (Akhgari et al., 2003).

2.4.3.3. Mesure de l'activité du glutathion S-transférase cytosolique (GST)

L'activité du glutathion S-transférase cytosolique a été déterminée chez les différents groupes de souris traités ou non par les extraits polyphénoliques des plantes sélectionnées (figure 31). Une diminution non significative ($p > 0.05$) est constatée chez le lot recevant la carragénine par rapport au lot témoin négatif. Une augmentation non significative ($p > 0.05$) est observée chez le lot de l'Ibuprofène et des lots recevant l'extrait polyphénolique d'*A. odorata* à dose 200 et 400 mg/kg par rapport au lot carragénine. Par contre, une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le lot recevant l'extrait polyphénolique d'*A. odorata* à dose 600mg /kg et hautement significative ($p < 0.01$) chez les lots de *M. rotundifolia* 400 et 200mg/kg; *U. dioica* 600, 400

et 200 mg/kg et chez le lot de l'*E. globulus* 200mg/kg par rapport au lot carragénine ont été marqué. Les lots de l'*E. globulus* 600 et 400 mg/kg et de *M. rotundifolia* 600mg/kg présentent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au lot carragénine.

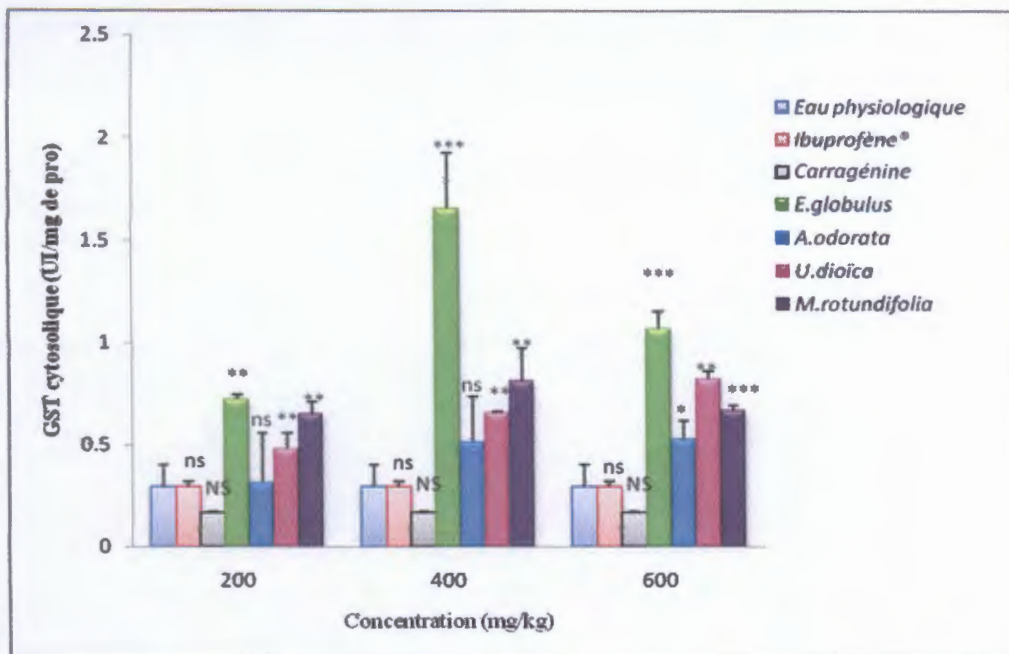


Fig. 31 : Variation de l'activité enzymatique du GST cytosolique des hépatocytes des différents groupes de souris traités ou non par les extraits polyphénoliques.

Les résultats sont donnés en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: NS comparaison non significative par rapport au témoin négatif. *** $p < 0.001$ très hautement significative, ** $p < 0.01$ hautement significative, $p < 0.05$ différence significative et ns : non significative comparaison par rapport au groupe témoin carragénine.

Le glutathion s- transférase est une enzyme qui catalyse la conjugaison de GSH avec diverses substances électrophiles (Khan and Kour, 2007 ; Cnubeen et al., 2001). Cette conjugaison est impliquée dans la détoxification de beaucoup des xénobiotiques. Elle joue un rôle important dans la protection des tissus contre le stress oxydatif (Dorts et al., 2009). D'après les résultats obtenus une chute non significative est enregistrée pour le taux de GST chez le groupe recevant la carragénine par rapport au témoin négatif. Cette diminution de l'activité du glutathion s-transférase cytosolique est imputable à la formation possible, au cours du métabolisme oxydatif, de produits réactifs tels que des alcènes, des dérivés époxydes et des hydroperoxydes organiques, qui sont des substrats pour la GST (Mannervik et Danielson, 1988). Au contraire, une augmentation significative, hautement et très hautement significative et même non significative a été constatée chez les groupes recevant les extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées. Ces derniers ont réussi de maintenir l'activité du GST à son niveau normale. Des études antérieures ont montré que des composés polyphénoliques comme l'acide gallique, la quercétine, le resvératrol, la myricitrine et la curcumine sont des substrats et des inhibiteurs efficaces de la MPO (Kato et coll., 2003 ; Kohnen et coll., 2002 ; Meotti et coll., 2008 ; Shiba et coll., 2008). Par des techniques de modélisation informatique, Shiba et coll. (2008) suggèrent que l'effet inhibiteur de la quercétine et sa forme glycosylée (quercétine 3-O-glucuronide) serait dû à leur interaction avec le site actif de la MPO au niveau de la région hydrophobe située à l'entrée de la cavité de l'hème distal. L'effet inhibiteur est d'autant plus important que le flavonoïde possède une fonction catéchol sur le noyau B, une double liaison entre les carbones 2 et 3, des groupements hydroxyles en position 3-, 4- et 5- (Meotti et coll., 2008 ; Shiba et coll., 2008).

2.5. Etude de l'activité antalgique des extraits polyphénoliques

Dans les conditions expérimentales de notre travail, l'injection d'acide acétique 1% par voie intra-péritonéale provoque une moyenne de 125 crampes comptabilisées au bout de 25 minutes chez le lot témoin. Les différents extraits méthanoliques à différentes doses ont réduit les crampes avec des pourcentages variables allant de 90,20% pour *M. rotundifolia* (400 mg/ kg) pour atteindre les 90,48% pour *U. dioïca* (400 mg/ kg) à 25min. Les résultats de l'activité antalgique des extraits polyphénoliques de différentes plantes étudiées sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Nombre des crampes abdominales et % d'inhibition des crampes chez des lots de souris prétraitées ou non par des extraits méthanoliques après 20 min de l'injection de l'acide acétique (1%, IP).

| Lot | Dose en mg/ kg | Nombre des crampes abdominales et % d'inhibition des crampes | | | | |
|------------------------|----------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min | 25 min |
| Eau physiologique | — | 27 ± 0,816 | 29 ± 0,817 | 31 ± 0,742 | 33 ± 0,816 | 35 ± 0,790 |
| Aspirine | 250 | 0 ± 0,00 (100%) *** | 7,66 ± 0,211 (74%) *** | 6,66 ± 2,013 (78%) *** | 9 ± 0,282 (73%) *** | 6,33 ± 2,500 (82%) *** |
| <i>M. rotundifolia</i> | 200 | 14 ± 2,943 (72,84%) *** | 11,33 ± 1,699 (70,85%) *** | 10 ± 1,414 (75,27%) *** | 7,66 ± 1,247 (79,61%) *** | 5,66 ± 0,869 (85,60%) *** |
| | 400 | 8 ± 2,160 (66,67%) *** | 9 ± 2,828 (71,43%) *** | 7 ± 0,816 (78,49%) *** | 6,33 ± 0,471 (86,46%) *** | 5 ± 1,673 (90,20%) *** |
| | 600 | 21,66 ± 4,189 (19,75%) ** | 15,66 ± 2,494 (45,98%) *** | 13,33 ± 3,299 (56,99%) *** | 11,33 ± 4,642 (65,66%) *** | 7,33 ± 2,180 (79,05%) *** |
| <i>A. odorata</i> | 200 | 5,33 ± 0,942 (80,25%) *** | 6,33 ± 1,247 (78,16%) *** | 6 ± 0,816 (80,65%) *** | 6 ± 1,414 (81,82%) *** | 5,66 ± 1,090 (83,81%) *** |
| | 400 | 10,33 ± 0,942 (61,73%) | 6,66 ± 0,471 (77,01%) | 5,33 ± 1,247 (82,80%) | 4,66 ± 0,942 (85,86%) *** | 3,66 ± 1,312 (89,52%) *** |
| | 600 | 8,33 ± 0,471 (69,14%) *** | 5,66 ± 0,471 (80,46%) *** | 7,66 ± 1,699 (75,27%) *** | 6,66 ± 2,357 (79,80%) *** | 6 ± 2,302 (82,86%) *** |
| <i>E. globulus</i> | 200 | 6,33 ± 0,942 (76,54%) *** | 13,66 ± 0,471 (52,87%) *** | 8,66 ± 0,942 (72,04%) *** | 9,66 ± 0,471 (70,71%) *** | 4,33 ± 0,505 (87,62%) *** |
| | 400 | 8,66 ± 2,624 (67,90%) *** | 12,66 ± 1,247 (56,32%) *** | 9,66 ± 0,471 (68,82%) *** | 8 ± 0,816 (75,76%) *** | 5,66 ± 1,501 *** |
| | 600 | 11 ± 2,160 (59,26%) *** | 4,66 ± 0,471 (83,91%) *** | 8,66 ± 0,471 (72,04%) *** | 4,66 ± 1,247 (85,86%) *** | 4 ± 1,673 (88,57%) *** |
| <i>U. dioica</i> | 200 | 8,33 ± 1,699 (69,14%) *** | 8,33 ± 1,247 (71,26%) *** | 7,66 ± 1,699 (75,27%) *** | 6,66 ± 1,699 (79,80%) | 5 ± 1,303 (85,71%) *** |
| | 400 | 9 ± 2,160 (66,67%) *** | 8 ± 0,816 (72,41%) *** | 6,66 ± 1,247 (78,49%) *** | 4,33 ± 1,247 (86,87%) | 3,33 ± 1,090 (90,48%) *** |
| | 600 | 8 ± 0,000 (70,37%) *** | 6,33 ± 0,471 (78,16%) *** | 5,33 ± 1,247 (82,80%) *** | 9,66 ± 0,942 (82,83%) *** | 4,33 ± 0,505 (90,48%) *** |

Les valeurs des crampes abdominales sont données en moyenne \pm Ecart type. Comparaisons faites entre les groupes prétraités par les différents extraits à tester et le groupe positif. Pour * $P < 0.05$ représente une différence significative; ** $P < 0.01$ représente une différence hautement significative ; *** $P < 0.001$ représente une différence très hautement significative. Les valeurs entre parenthèses sont les pourcentages d'inhibitions des crampes.

En parallèle, l'activité antalgique a été réalisée par le test de l'acide acétique, très répandu pour sa haute sensibilité et sa capacité de mettre en évidence les molécules aussi bien à effet périphérique que centrale (Koster et al., 1959). Une injection IP d'un produit algogène: l'acide acétique, provoque une lésion tissulaire responsable de la libération d'un certain nombre de médiateurs chimiques tels que la bradykinine, l'histamine, la sérotonine, l'acétylcholine et les prostaglandines. Ces dernières sensibilisent les nocicepteurs aux stimuli douloureux et en résulte une douleur plus tardive et diffuse (Le Bars et al., 2001; Collier et al., 1968; Raj., 1996). Cette douleur se manifeste chez les souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale. D'après les résultats obtenues, les différents extraits polyphénoliques des quatre plantes à 200 mg/ kg et 400 mg/ kg ont révélé un effet antalgique similaire à celui du médicament de référence, l'Aspirine. Le meilleur pourcentage d'inhibition des crampes est constaté chez *U. dioica* 400 mg/kg et 600mg/ kg de 90.48%. L'activité antalgique d'*U. dioica* est consolidé par les travaux de Wen (Gulcin at al., 2004) et valiollah et Vahid (2013) avec des doses de 100 mg/ kg, 200mg/kg et 400 mg/kg par un pourcentage d'inhibition de 41 %, 64% et 81% respectivement. Ces effets peuvent être le résultat de la présence des composés phénoliques. Silva et al., (2003) a confirmé l'effet antalgique par des extrait des huiles essentiels d'*E. globulus* 100mg/ kg et un autre espèce *E. citriodora* de 100 mg/ kg. Le mécanisme de l'effet antalgique des extraits polyphénoliques peut être lié au processus impliqué dans la prévention de la sensibilisation des nocicepteurs, dans la régulation de nocicepteurs sensibilisés et / ou le blocage de les nocicepteurs au niveau périphérique et/ ou central (Ferreira, 1990). D'après Juergens et al., (1998) l'effet antalgique est expliquer par l'inhibition de la production de prostaglandines et de thromboxanes similaires à l'acide acétylsalicylique.

Conclusion

La médecine traditionnelle constitue parfois l'unique source de soins pour de nombreuses populations à travers le monde (OMS, 2002). Une des caractéristiques majeures de la médecine traditionnelle est qu'elle a des composantes spirituelle et non spirituelle; cette dernière fait habituellement référence à l'utilisation des plantes médicinales (Nyika, 2009).

Le présent travail a porté sur l'évaluation des activités anti-inflammatoire, antioxydante et antalgique des extraits polyphénoliques de quatre plantes médicinales, *Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica*, largement utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Jijel pour le traitement de nombreuses maladies dont l'allergie, le diabète, les maladies infectieuses, l'anémie, le rhume, les maladies de peau comme l'eczéma, l'acné et les maladies inflammatoires.

D'après les résultats, il semble bien claire que les extraits polyphénoliques des plantes étudiées possèdent une importante activité anti-inflammatoire. L'extrait d'*Eucalyptus globulus* a donné le meilleur pourcentage d'inhibition de l'œdème supérieur à celui du standard.

Parallèlement, ces extraits polyphénoliques ont révélés un effet antalgique très important. L'extrait d'*Urtica dioica* a montré un meilleur pourcentage d'inhibition des crampes par rapport à celui de l'aspirine.

Nos résultats ont permis de démontrer que les extraits étudiés possèdent la capacité de moduler la production des espèces réactives oxygénées produites lors de l'inflammation.

Les résultats de cette étude confirment que ces plantes sont des sources prometteuses de molécules à activité antioxydante et anti-inflammatoire naturelles. Des recherches plus approfondies sur l'isolement et l'identification des composants antioxydants et anti-inflammatoires contenant dans les extrait bruts peuvent conduire à l'obtention de biomolécules présentant une éventuelle application clinique.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abreu I. A. and Cabelli D.E., (2010).** Superoxide dismutases-a review of the metal associated mechanistic variations. *Biochim. Biophys. Acta.* **1804**: 263-274.
- Adedapo A.A., Sofidiya M.O., Maphosa V., Moyo B., Masika P.J. and Afolayan A.J., (2008).** Anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extract of *Cussonia paniculata* stem Bark. *Rec. Nat. Prod.* **2**, 46-53.
- Agbonon A., Aklikokou K., Akpagana, et Gbeassor M., (2001).** Etude des propriétés antiinflammatoires de la racine de *PLUCHA OVALIS* (PERS)DC.(ASTERACEAE) chez le rat. *Pharm.Méd .Trad.Afr.* Vol.11,pp.1-11.
- Akhgari M., Abdollahi M., Kebrryaezaddeh A., Hosseini R. and Sabzevari O., (2003).** Biochemical evidence for free radical- induced lipid peroxydation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human and Experimental Toxicology.* **22**: 205-211.
- Ames B. N., Shigenaga M.K. and Hagen T.M., (1993).** Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**: 7915-7922.
- Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D. and Trinajstić N., (2003).** Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica. Chemica. Acta. Ccaca.* **76** (1): 55-61.
- Ashokkumar P. and Sudhandiran G., (2008).** Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *Biomed Pharmacother.* **62**: 590-597.
- Atoui, A.K., A. Mansouri, G. Boskou, et al. (2005).** Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem* **89**: 27-36.
- Audia S., Leguy V. et Bonotte B., (2008).** Syndrome inflammatoire: Diagnostic difficiles en médecine interne. 3^{ème} éd. Maloine. pp: 863-876.
- Awika J.M. and Rooney L.W., (2004).** Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry.* **65**: 1199-1221.
- Babu P.V.A., Sabitha K.S., Shyamaladevi C.S., (2006).** Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions.* **162**: 114 - 120.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M. and Gazin M., (1996).** Oxygene species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch/drug Res*;1:6.
- Balasundram N., Kalyana S. and Samman S., (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxydant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry.* **99**: 191-203.
- Bamforth C.W., (2000).** Perceptions of beer foam. *J. Inst. Brew.* **106**: 229-38

- Barnes P.J., (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*. **94**: 557-572.
- Baudin B., (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt. cardio*. **2**: 43-52
- Bayes Ould M., (1997).** Contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de la pulpe de fruit de *Balanites aegyptiaca* L. (*Zygophyllaceae*). Thèse pharmacie, Bamako. 67p.
- Beauchamp C. and Fridovich L., (1971).** Assay of superoxide dismutase. *Anal Biochem*. **44**: 276-287.
- Beaudeau J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. et Peynet J., (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse and Biologie specialize*. **21**:144-150.
- Beloued, A. (1998).** *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications univ. PP: 88 152.
- Bertrand B. 2010.** *Les secrets de l'Ortie*. 10^{ème} éd: Editions de Terran. PP: 16-176.
- Bidaut-Russell M., (2001).** Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. **15**: 739-753.
- Bletry O., Kahn J-E. and Somogyi A., (2005).** *Immunopathologie: Réaction inflammatoire*. 2^{ème} ed. Masson, Paris. pp: 5-9.
- Botting R.M. and Botting J.H., (2000).** Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: overview. *Clinical Drug Investigation*. **19**: 1-7.
- Boudjerda A. (2007).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'*Achillea ligustica* (Anthemideae) et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae). Thèse de doctorat. Université Mentouri, Constantine. 342p.
- Boullard B. (2001).** *Plantes médicinales du monde: croyances et réalités*. ESTEM. PP: 218-636.
- Boutabet K., (2007).** Etude pharmacochimique de l'extrait de propolis au cours d'un stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. Thèse de Magistère. Université de Jijel.
- Brada M, Bezzina M, Marlier M, Carlier A. 2007.** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. **11** : 3-7.
- Bradford M.M., (1976).** A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principale of protein-Dye binding. *Anal Biochem*. **72**: 248-254.
- Bravo L., (1998).** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Review*. **56**: 317-333.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2^{ème} ed. Lavoisier TEC et DOC, Paris. pp: 197-334.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 3^{ème} ed. Lavoisier TEC et DOC, Paris. pp: 250-270.

- Chappuis D., (2012).** Prise en charge des syndromes inflammatoires inexplicés en médecine générale. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier à Grenoble. pp: 13-15.
- Chatter Riahi R., Tarhouni S et R. Kharrat .2011.** Criblage de l'effet antiinflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée *Archs. Inst. Pasteur Tunis, 88 (1-4).*
- Chevalier X., Flipo R., Goupille P. et Schaefferbeke T., (2005).** Rhumatologie. Elsevier Masson, France. pp: 340.
- Chira K., Suh J.H. et Teissède P.L., (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie. 6:* 75-82.
- Clairborne A., (1985).** Catalase activity, In: Greenwald R.A., CRP handbook of methods for oxygen radical research. CRP Press, Boca Raton, FL. pp: 283-284.
- Cnubeen N.H.P., Rietjens I.M.C.M., Wortelboer H., Van Zanden J. and Van Bladeren P.J., (2001).** The interplay of glutathione- related processes in antioxydant defense. *Environmental Toxicologie and pharmacology. 10:* 141- 152.
- Cohen Y. (1986).** Abrégé de pharmacologie. 2^{ème} ed. Masson, Mexico. pp: 240-265.
- Collier H.D.J. , L.C. Dinnin, C.A. Johnson, C. Schneider (1968).** The abdominal response and it suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br. J. Pharmacol. Chemother., 32,* 295-310.
- Cunningham F.M. and Lees P., (1994).** Advances in anti-inflammatory therapy. *British Veterinary Journal. 150 (2):* 115-134.
- Curtay J. et Robin., (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. *Centre d'étude et de d'éveloppement de la nutrithérapie.* pp: 1-4.
- Damien D.H.J., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. et Hiltunen R., (2003).** Antioxydant properties and Composition of aqueous Extracts from Mentha Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *J. Agric. Food Chem. 51:* 4563-4569.
- Dawson J., Lees P. and Sedgwick A. D., (1987).** Influence of non steroidal anti inflammatory drugs on equine leucocyte locomotion in vitro. *Br. J. Pharmacol. 99:* 624-628.
- Delattre J., Beaudoux J.L. and Bonnefont-Rousselot., (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier (TEC & DOC), Paris.* pp: 1 - 405.
- Dicko MH, Gruppen H, Traoré AS, Van Berkel WJH et Voragen AGJ. (2005).** Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxydant activities in sorghum varieties. *J. Agric. Food Chem. 53;* pp: 2581-2588.
- Dieng C., (1993).** Contribution à l'étude de *Khaya senegalensis* (DESR.) A. JUSS (*Meliaceae*). Thèse pharmacie. Université de Dakar. pp: 10-109.
- Diouf A., (1991).** La réaction inflammatoire, étude des médiateurs et leurs rôles physiopathologiques. Thèse de doctorat. Université de Dakar. pp: 1-44.

- DIVirgilio, F. (2004).** New pathway for reactive oxygen species generation in inflammation and potential novel pharmacological targets. *Curr Pharm Des.* **10**: 1647-52
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N., (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* **97**: 654-660.
- Dombrowicz D. and Capron M., (2001).** Eosinophils, allergy and parasites. *Current Opinion in Immunology.* **13**: 716-720.
- Dominguez Z., Ruiz E., Gussinye M. and Carrascosa A., (1998).** Oxidative stress at onset and in early stages of type diabetes in children and adolescents. *Diabetes care.* **21**: 1736 - 1742.
- Dorts J., Silvestre F., Tu H.T., Tyberghein A.E., Phuong N.T. and Kestemont P., (2009).** Oxidative stress, protein carbonylation and heat shock proteins in the black tiger shrimps, *penaeusmonodon*, following exposure to endosulfan and deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* **28**: 302-310.
- Draghi F. 2005.** L'ORTIE DIOIQUE (*Urtica dioica* L.): Etude Bibliographique. Thèse de Doctorat. Université *Henri Poincare Nancy 1*. PP: 6-36.
- Ellman G.L., (1959).** Plasma antioxidants. *Arch. Biochem and Biophysics.* **82**: 70-77.
- Eming S.A., Krieg T. and Davidson J.M., (2007).** Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology.* **127**: 514-525.
- Ernest S.Paul M.2000.***Cultures médicinales Canadiennes* .Conseil National de la recherche de Canada.pp :1-222.
- Erdemoglu N, Kupeli E, silada E Y (2003).** Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**, 123–129.
- Fauve R.M. et Hevin M., (1998).** Reaction inflammatoire et réactions immunitaires. In: inflammation. Russo- Marie F, Peltier A, Polla B S. John Libbey Eurotext, France. pp: 10-19.
- Favier A., (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Review. L'actualité chimique novembre.* pp: 108-115
- Ferreira A, Proenc C, Serralheiro M L M, Ara´ujo M E M (1990).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, **108**, 31–37
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D. et Abedinzadeh Z., Jore D., (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique, - novembre-décembre.* pp: 91-96.
- Genetet N., (1997).** Immunologie. 3^{ème} ed. Médicales Internationales, France. pp: 219-231.

- Girotti C., (2006).** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon.
- González-Gallego J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M.J. (2007).** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricion hospitalaria*, **22**(3):287-293.
- Gonzalez-Gallego, J., M.V. Garcia-Mediavilla, S. Sanchez-Campos, et al. (2010).** Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr*, **104**:15-27.
- Gosh M.N., (1981).** Fundamental of Experimental Pharmacology, Scientific Book Agency, Calcutta, India. 153p.
- Grasland A. et Pouchot J., (1997).** Syndrome inflammatoire biologique persistant: orientation diagnostique. *La revue du praticien*. **47**: 75-79.
- Grisneaux E. et Pibarot P., (1998).** La place des anti-inflammatoires non stéroïdiens dans l'analgésie post-opératoire. *Med. Vet. Québec*. **128** (1):19-22
- Guelfi J. F. et Vilcot C., (1993).** Les fonctions des polynucléaires neutrophiles du chien et leurs anomalies. *Point Vet*. **154**(25): 299-307
- Guichardant M., Bacot S., Molière O. et Lagarde M., (2006).** Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *OCL*. **13**: 31-34.
- Guo W.E., Kong H. and Meydani M., (2009).** Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutr Cancer*. **6**: 807-810.
- Habig WH., Pabst and Jakoby WB., (1974).** Glutathione S-Transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *JOP Bromo ~cn~ CHEMY*; **249** (22): 7130-7139.
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C., (1999).** Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford, Clarendone press. 936 p.
- Halliwell B., (1990).** How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*. **9**: 1-32
- Halliwell B. and Whiteman M., (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol*. **142**: 231-255.
- Hans W. (2007).** *1000 plantes médicinales*. Intexte, Toulouse. 210p.
- Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacol. Ther.* **96**, 67-202.
- Heilerova L, Buckova M, Tarapcik P, Silhar S, Labuda J. (2003).** Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.), and agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech Journal of Food Sciences* **21** (2) : 78 – 84 .2003

- Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **13**; pp: 572-584.
- Hendrich A.B., (2006).** Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta pharmacologica Sinica*. **27**: 27-40.
- Hennen G., (1996).** Biochimie humaine : introduction biochimique à la médecine interne. De Boeck, Belgique. pp: 247-255
- Houée-Levin C., Sicard-Roselli C. et Bergès J., (2005).** Introduction à la biochimie radicalaire. In Chimie et biochimie radicalaires, Echelles. pp:86-102.
- Iqbal M., Som D.S., Yasumasa O., Masayoshi F. and Shigero O., (2003).** Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology and toxicology*. **92**: 33-38.
- Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Delesalle-Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Bortel A., (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins.
- Kato, S., K. Itoh, M. Ochiai, et al. (2008).** "Increased pentosidine, an advanced glycation endproduct, in urine and tissue reflects disease activity in inflammatory bowel diseases." *J Gastroenterol Hepatol* **23**: S140-S145.
- Khababae K. and Van Ree T., (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.* **18**: 641-649.
- Khan S.M. and KourG., (2007).** Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and the protective effect of green tea extract. *Pest. Biochem. Phys.* **89**: 118-123.
- Kim H.P., Son K.H., Change H.W., et al., (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. **96**(3): 229-245.
- Kindt T.J., Goldsby R.A., Osborne B.A. et Fridman C., (2008).** Immunologie: Le cours de Janis Kuby. 6^{ème} ed. Dunod, Paris. 684p.
- Koechlin-Ramonatxo C., (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. **20**: 165-177.
- Kohnen R., and Nyska A., (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena antioxidants, redox reaction, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* **30**: 620-650.
- Kokkini S et Papageorgiou VP. (1988).** Constituents of Essential Oils from *Mentha X rotundifolia* Growing Wild in Greece. *Planta Med.* **38**: 166-167.
- Koster R, Anderson M et E.J. Beer (1959).** Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, **18**, 412-417.

- Kruidenier L. and Verspaget H.W., (2002).** Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease- radicals or ridiculous? » *Aliment Pharmacol Ther.* **16**: 1997-2015.
- Kubab N., Hakawati I. et Alajati-Kubab S., (2006).** *Guide des examens biologiques.* 4^{ème} éd. Wolters Kluwer. France ; pp: 41-42.
- Kumaraswamy, M.V., Raghavendra, M.P., Satish, S. (2010).** Antioxidant and anti inflammatory activity of isolated phytoconstituent from *Woodfordia fruticosa* Kurz. *J. Pharm. Res.* **3**, 1492-1495.
- Lamarck JBPAM. Candolle A P. (1815).** Flore française, ou Descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France. 3^{ème} éd. H. Aggasse. Paris. 1815p.
- Laurent M et Miller P. (1787).** *Supplément au dictionnaire des jardiniers.* Guillot, Paris. 731p.
- Laviolle B., (2007).** Les anti inflammatoires stéroïdiens. CHU de Rennes- Université de Rennes. pp: 2-6.
- Le Bars D., M. Gozariu et S. Cadden (2001).** Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, **53**(4), 597-652.
- Lefrère F., (2008).** Hématologie et transfusion. 6^{ème} éd. Estem deBoeck Diffusion ; pp : 5-12.
- Lekeux P., (1991).** Pharmacodynamie des AINS. In: *Le grand livre des AINS.* Ségré. Schering Plough Santé Animale. pp: 29-37
- Lenoir L, (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de doctorat. Université d'Auvergne. pp: 7-95.
- Limaye PV., Raghuram N., Sivakami S., 2003.** Oxidative stress and gene expression of antioxydant enzymes in the renal cortex of streptozotocin induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* **243**: 147-152
- Liu R.H., (2007).** Whole rain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science.* **46**:207-219.
- Lorenzo D, Paz D, Dellacassa E, Davies P, Vila R et Canigueral S. (2002).** Essential Oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Bras. Arch. Boil. Technol.* **45**(4): 519-524.
- Macarthur, M., Hold, G.L., El-Omar, E.M. (2004).** Inflammation and Cancer. II. Role of chronic inflammation and cytokine gene polymorphisms in the pathogenesis of gastrointestinal malignancy. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **286**, 515-520.
- Macheix J.J, Fleuriet A. et Jay-Allemand C., (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. pp: 2-40.
- Madi A., (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de Magister. Université de Mentouri Constantine.

- Maiga A., Diallo D., Fane S., Sanogo R., Paulsen B.S. and Cisse B., (2005).** A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. 96: 183-193.
- Makkar H.P.S., (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 49: 241-256.
- Mannervik B. et Danielson U.H., (1988).** Glutathione transferases. Structure and catalytic activity. *CRC. Crit. Rev. Biochem*. 23: 283-337.
- Male D., (2005).** Immunologie: Aide-mémoire illustré. 3^{ème} ed. DeBoeck supérieur, Paris. 79p.
- Meotti, F.C., Senthilmohan, R., Harwood, D.T., Missau, F.C., Pizzolatti, M.G., Kettle, A.J.(2008).** Myricitrin as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase: implications for the pharmacological effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med* 44, 109-120.
- Mitich L W. (1990).** Intriguing world of weeds– Yarrow– The herb of Achilles. *Weed Technology* . 4:451-453.
- Monassier L., (2006).** Les anti-inflammatoires stéroïdiens: Module de Pharmacologie Clinique. Faculté de Médecine de Strasbourg.
- Moulin M., Coquerel A. (2002).** Pharmacologie. 2^{ème} Edition entièrement refondue. pp. 393-394
- Morin D., Thiery H., Spedding M., Tillement J., P.(2001).** Mitochondria as target for antiischemic drug. *J Physiol Pharmacol*. 13: 22-67.
- Mladinka P., Zatloukalova L., Filipisky T. and Hrdina R. (2010).** Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology & Medicine*. 49:963-975
- Muanda F.N., (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques .Thèse de doctorat. Université P. Verlaine-Metz, France. 238p.
- Mulier B., Rahman T. and Watchorn et al., (1998).** Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: the protective role of intracellular non protein thiols (NPSH). *Eur Respir J*. 11: 384-391
- Murphy M.P., Packer M.A. and Scarlett J.L., et al. (1998).** Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *Gen Pharmacol*. 31: 179-186.
- Nacz M. and Shahidi F., (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*. 1054: 95-111.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., Krishna, D.R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol*. 33, 2-16.

- Neal M., (2003). Pharmacologie médicale par Livia Giurgea. 2^{ème} ed. De Boek Université, Belgique. pp : 70-73
- Negre-Salvayre A. et Salvayre R., (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiologie vasculaire. *OCL*,12:433-437.
- Ng, S.C. (1992). Non-steroidal anti-inflammatory drugs- uses and complications. Singapore Med. J. 33, 510-513.
- Nkhili E., (2009). Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat. Université A. CADI de Semlalia Marrakech et Université d'Avignon de Montpellier. pp: 31-33.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M. et Takahara Y., (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*. 33: 557-561.
- Okhawa H., Ohishi N. and Yagi K., (1979). Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Anall Bioch.* 95: 351-358.
- Olatunji G., (2000). Diterpene lactone from the heartwood of *Daniella Oliveri*. *Cellulose chemistry and technology*. 34: 505-507.
- Ollier.C. (2011). *Le conseil en phytothérapie*. 2^{ème} éd. Wolter Kluwer France.
- Organisation Mondiale de la Santé (2002). Stratégies de l'OMS pour la médecine traditionnelle. 78p.
- Osawa T., Namiki M.A., (1981). A novel type of antioxidants isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agric Biol Chem.* 45, 725-739.
- Owen P.L. and Johns T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 64: 149-160.
- Oz, H.S., T.S. Chen, C.J. McClain, et al. (2005). Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis. *J Nutr Biochem* 16: 297-304.
- Paller M.S. and Patten M., (1992). Protective effects of glutathione, glycine, or alanine in an *in vitro* model of renal anoxia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2: 133-1344
- Pari L, Latha M (2005). Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *Gen Physiol Biophys*, 24 : 13 - 26.
- Parke, A., Parke, D.V. (1995). The pathogenesis of inflammatory disease: Surgical shock and multiple system organ failure. *Inflammopharmacology*, 3, 149-168.
- Park HH, Lee S, Son HY, Park SB, Kim MS, Choi EJ, Singh TS, Ha JH, Lee MG, Kim JE, Hyun MC, Kwon TK, Kim YH, Kim SH. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharm. Res*, 31(10) :1303-11.
- Pebret F., (2003). Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels études médicales ou paramédicales. Edition heures de France. pp: 9-48.

- Peltier A.P., Russo-Marie F. et Polla B.S., (1998).** L'inflammation. John libbey eurotext, Paris. pp: 142-171.
- Pham C.T., (2006).** Neutrophil serine protease:specifique regulators of inflammation. *Nat Rev Immunol.* 6: 541-550.
- Pham-Huy L.A., He H. and Pham-Huy C., (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of Biomedical science.* 4: 89-96.
- Podsedeck A., (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. *A review.LWT.* 40: 1-11
- Quinlan G et gutteridge J. (1988).** Hydroxyradical generation by the tetracycline antibodies with free radical damage DNA, lipid, carbohydrates in the presence of iron and copper salts. *Biol Med,* 5: 341-8
- Raj P.P. (1996).** Pain mechanisms. In *Pain medicine: a comprehensive review*, 1 st ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, USA: 12-24.
- Ramakrishna G., Raghavendran H.R. and Devaki T., (2006).** Suppression of N-nitrosodierhylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats. *Chem. Biol. Interact.* 161 (2): 104-14.
- Ramos, S., (2007).**Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.*18, 427-442.
- Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S. (2004).** Effect of Eugenia Jambolana seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences,* 75 : 2717 – 2731.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L.,(2003).** Flavonoids: promising anticancer agents. *Med Res Rev.*23, 519-534.
- Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques du raisin et du vin. Les flavonosides et les anthocyanosides. *Ann. Physiol. Vég.* 6: 211-242
- Rodrigues M R, Rodriguez D, Russo M, Campa A (2002).** Macrophage activation includes high intracellular myeloperoxidase activity. *Biochemical and biophysical research communications,* 292, 869-873.
- Rouquette C., (2000). *Médecine chirurgie et soins infirmiers. Groupe liaisons sa.* PP: 5- 27
- Roussel A.M., Nève J. and Hininger I., (2005).** Antioxydants et nutrition. Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier. Paris: p 261-280.
- Russo-Marie, F., Peltier, A., Polla, B. (1998).** L'inflammation. Editions John Libbey Eurotext: 565 pages.
- Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B., et al. (2007).** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita.* 43: 394-405.

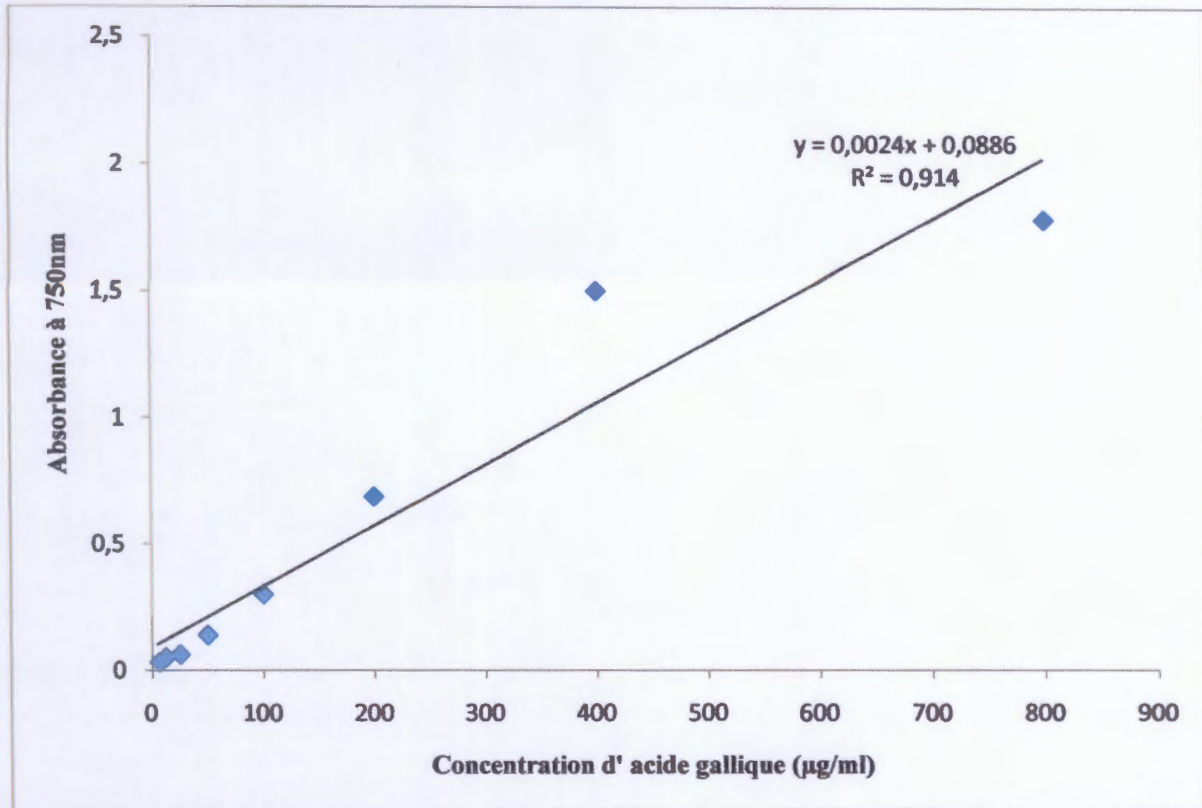
- Santos-Gomes PC, Seabra RM, Andrade PB, Fernandes-Ferreira M (2002).** Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis L.*). *Plant Science*, **162** : 981-987.
- Sathishsekar D, Subramanian S (2005).** Antioxidant properties of Momordica Charantia (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*, **14** (2) : 153 - 158.
- Schorderet M. et Dayer J. M., (1989).** *Analgesiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et substances apparentées. In: Pharmacologie, des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques.* Paris: Frisson-Roche-Slatkine: 535-55
- Schorderet M. (1992).** Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 2^{ème} Ed. Editions. Frison – Roche. (Paris) et Slatkine (Geneve). pp.529 -561
- Sener G., Sehirli A.O. and Ayanog lu-Du lger., et al.,(2003).** Protective effects of melatonin, vitamine E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: A comparative study. *J. Pineal. Res.* **35**: 61-68
- Servais S., (2004).** Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse l'ozone: effet de l'âge et d'une supplémentsations de l'oméga -3. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard de Lyon1. 161p.
- Setty A R, Sigal L H (2005).** Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **34**, 773-784
- Shi, X. Z., J.H. Winston and S.K. Sarna (2011).** Differential immune and genetic responses in rat models of Crohn's colitis and ulcerative colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **300**: 41-51.
- Shiba, Y., Kinoshita, T., Chuman, H., Taketani, Y., Takeda, E., Kato, Y., Naito, M., Kawabata, K., Ishisaka, A., Terao, J. Kawai Y., (2008).** Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase:molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem. Res. Toxicol.* **21**, 1600-1609.
- Sinha B.K., Mimnaugh E.G. and Myers C.E., (1989).** Adryamicin activation and oxygen free Radical formation in human breast tumor cells. *Cancer Res.* **49**: 3844-3848.
- Smyth T., Ramachandran V.N. et Smyth W.F., (2009).** A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents.* **33**: 421-426.
- Sorg O., (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, **327**, 649-662.
- Steinhuibl S.R., (2007).** Platelets as Mediators of inflammation. *Hematology / Oncology Clinics of North America.* **21**: 115-121.
- Stevens A., Lowe J. et Young B., (2004).** *Anatomie pathologique: Atlas de wheater.* De Boeck université, Paris. 304p.

- Swan G.E., (1991). Non steroidal anti inflammatory drugs in domestic animals *J. South Afr. Vet. Med. Ass.* 62: 35-38
- Sy G.y., Wélé A., Ndiaye M., Diatta W., Barbosa F.S., Dièye A.M., Touré M.T., Bassène E. et Faye B. (2008). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*Annona reticulata* (annonacées) sur l'œdème aiguë de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaine.* 15: 23-25.
- Szekely, J.I.; Kedves, R; Mate, I.; Torok, K.; Tarnawa, I. Apparent antinociceptive and anti-inflammatory effects of GYKI 52466. (1997). *European Journal of Pharmacology*; 336,143-154.
- Taleb-Senoucia D, Ghomaria H, Kroufa D, Bouderbalaa S, Prostb J, Lacaille-Dubois MA, Bouchenaka M (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 25 : 221-235.
- Tapas A.R., Sakarkar D.M. et Kakde R.B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals. *Topical Journal of pharmaceutical research.* 7(3):1089-1099
- Tapiero H., Townsend D.M. and Tew K.D., (2004). The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 58:100-110.
- Taubert, D., Breitenbach, T., Lazar, A., Censarek, P., Harlfinger, S., Berkels, R., (2003). Reaction rate constants of superoxide scavenging by plant antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine.* 35, 1599-1607.
- Thérond P. and Blache D., (2005a). Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote. Effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier, Paris. pp:113-146.
- Thérond P. and Bonnefont-Rousselot D., (2005b). Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier, Paris. pp : 87-111.
- Ticli B., (1999). Les herbes médicinales les plus puissantes et les plus efficaces, Milan, De Vecchi S.A. pp: 2-95
- Tripathi AK, Prajapati V, Ahmad A, Aggarwal KK et Khanuja SPS. (2004). Piperitenone oxide as Toxic, Repellent and Reproduction Retardant Toward Malarial Vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae). *J. Med. Entomol.* 41 (4): 691-698.
- Tripoli E., Guardia M.L., Giammanco S., Majo D.D. et Giammanco M., (2007). Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food chemistry.* 104: 466 - 479.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., et al., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 160: 1 - 40.
- Van Acker S., Tromp M., Haenen G.R.M.M., Van der Vijgh W. and Bast A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 214(3): 755- 9.
- Vaubourdolle M., (2007). *Biochimie hématologie.* 3^{ème} ed. Wolters Kluwer, France. pp: 664-665.

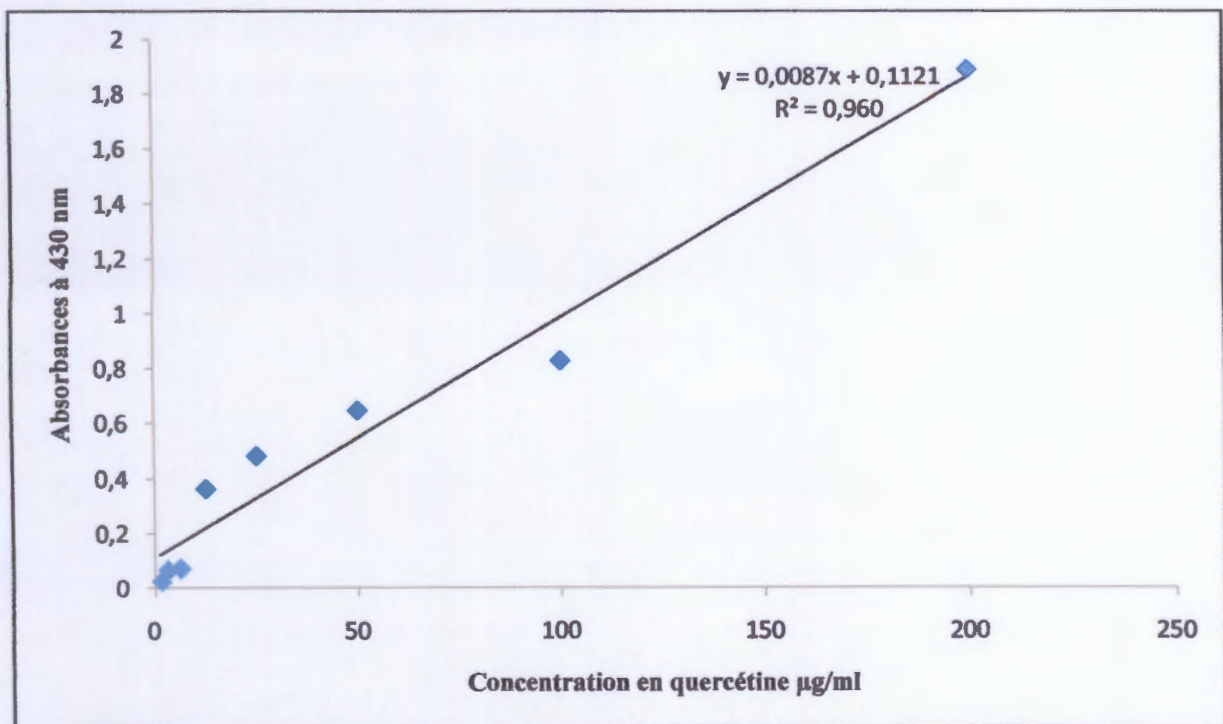
- Verhaeghe C., (2007).** Etude des mécanismes moléculaires responsables d'un état inflammatoire intrinsèque dans la mucoviscidose. Thèse de doctorat. Université de Liège. pp: 20-98.
- Vinodh Kumar R., Ravikumar V., Shivashangari K.S., Kamaraj S. et Devaki T. (2006).** Chemopreventive Role of Lycopene and D-arginine in Benzo (a) Pyrene Induced Lung Cancer with Reference to Lipid Peroxidation, Antioxidant System and Tumor Marker Enzymes, *Int.J.cancer Res*; 2:224-233.
- Villars D. (1787).** *Histoire des plantes de Dauphiné: Contenant les Espèces, les Caractères, les Synonymes et les Vertus générales des cinq premières classes.* Paris. 690p.
- Wardman P. and Candeias L.P., (1996).** Fenton Chemistry: An Introduction. *Radiat Res.* 145: 523-531
- Weill B. Batteux F., (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. De Boeck , Paris. pp: 12-27
- Winter C.A., Risley EA., And Nuss G.W., (1962).** Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 111: 544-7.
- Yoon J.H. et Baek S.J., (2005).** Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. *Yonsei Med J.* 31. 46 (5): 585-596.
- Yue KKM, Leung SN, Man PM, Yeung WF, Chung WS, Lee KW, Leung AWN, Cheng CHK (2005).** Alterations in antioxidant enzyme activities in the eyes, aorta and kidneys of diabetic rats relevant to the onset of oxidative stress. *Life Sciences,* 77: 721 - 734.
- Yven G.C., Chen H.Y. et Peng H.H., (1997).** Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J.Agr. Food Chem.* 45: 30-34.

Annexes

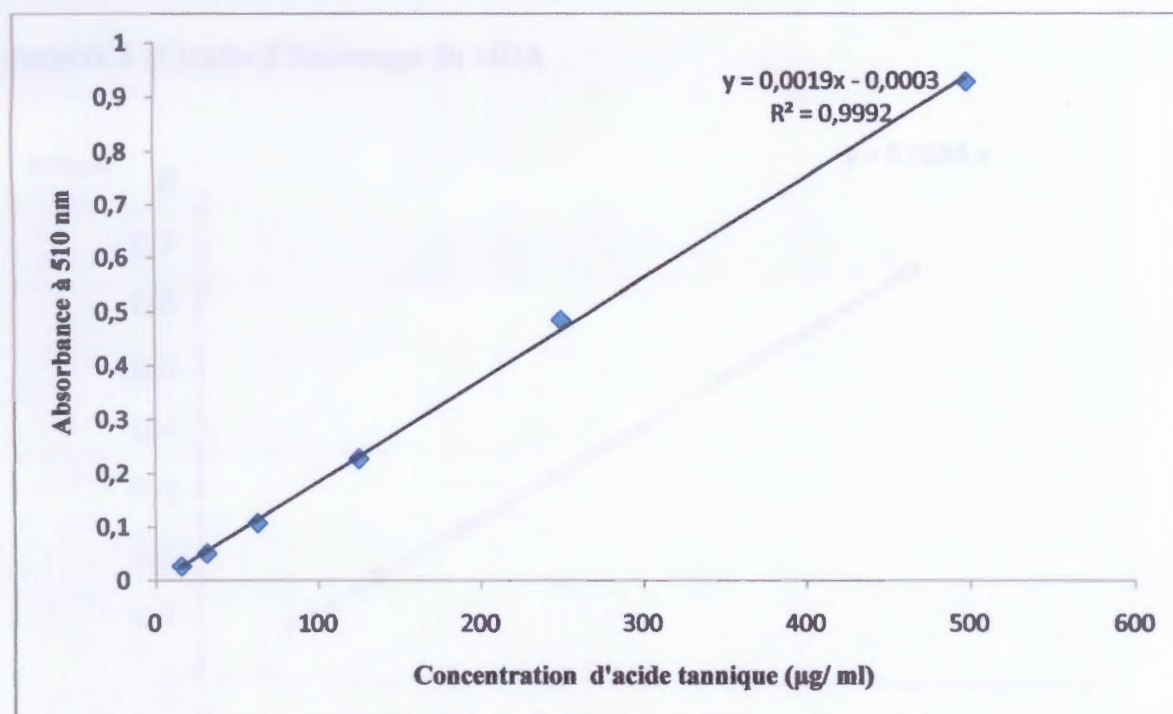
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



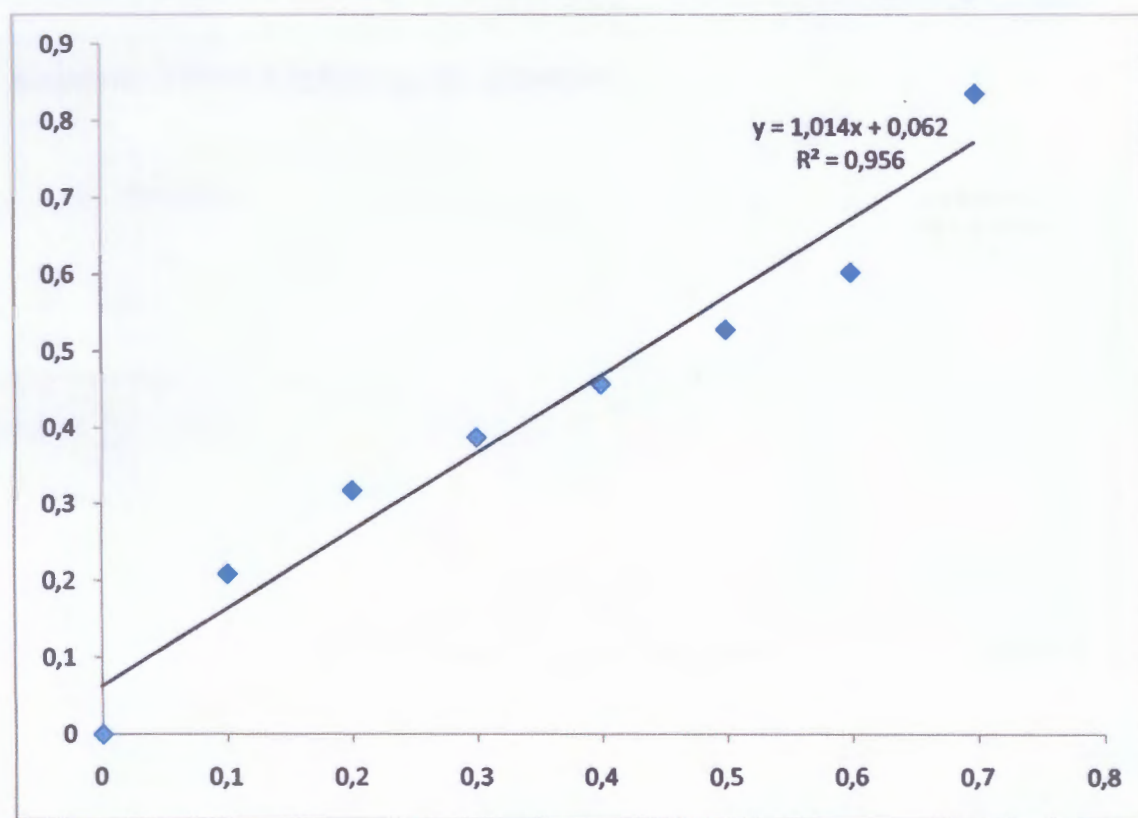
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.



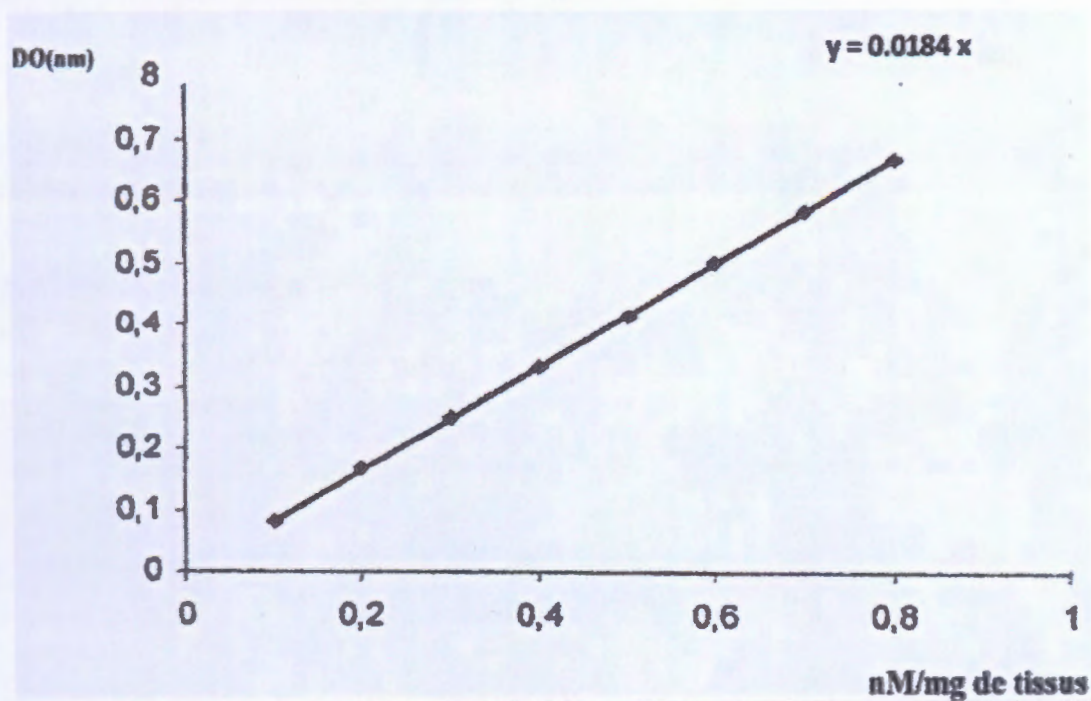
Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique



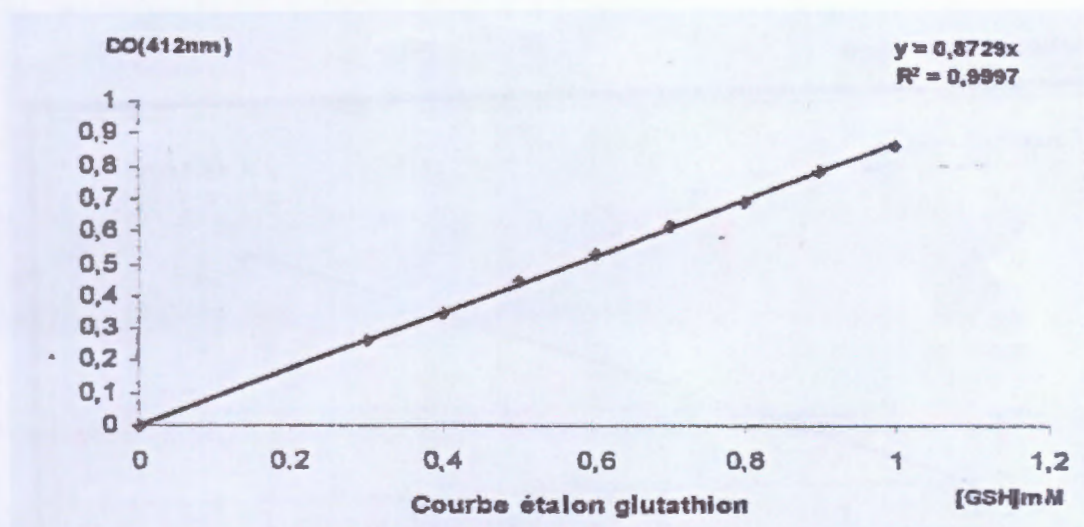
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine



Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du MDA



Annexe 6 : Courbe d'étalonnage du glutathion



Présenté par : BELHIMER Nassiha
BOULAHIDID Nesma
LATIOUI Samira

Encadreur : Dr. KEBIECHE Mohamed

Date de soutenance : 04/07/2013

Intitulé

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antalgique des extraits polyphénoliques de quelques plantes chez la souris

Résumé

Notre étude avait pour but d'évaluer *in vivo* l'activité anti-inflammatoire réalisée sur le modèle de l'œdème aiguë de la patte de la souris induit par la carragénine ainsi que les effets antioxydants et antalgiques qui peuvent être apportés par les extraits méthanoliques d'*Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica*. L'évaluation du pourcentage d'inhibition de l'œdème a montré que les extraits polyphénoliques des feuilles des quatre plantes étudiées possèdent une activité anti-inflammatoire remarquable. Par ailleurs à 240 min, l'*E. globulus* a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé ($93,75 \pm 0,04$) qui a été supérieur à celui d'un anti-inflammatoire de référence ; l'ibuprofène. Les extraits polyphénoliques ont modulé le potentiel redox *in vivo* induit par l'inflammation qui a été mis en évidence par le dosage du MDA, SOD, CAT, GSH et GST. Enfin, l'étude de l'activité antalgique des quatre extraits polyphénoliques a révélé une activité antalgique très puissante avec un pouvoir d'inhibition des crampes abdominales comparable à celui de l'aspirine. Ces résultats sont très encourageants pour une éventuelle application clinique.

Mots clés : anti-inflammatoire, antioxydant, antalgique, polyphénols.

Abstract

Our study was designed to evaluate the *in vivo* anti-inflammatory activity carried out on the model of acute paw edema in mice induced by carrageenan and the antioxidant and analgesic effects that can be provided by the methanol extracts of *Achillea odorata*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha rotundifolia* and *Urtica dioica*. The evaluation of edema inhibition percentage showed that leaves polyphenolic extracts from of four plants studied have a remarkable anti-inflammatory activity. Moreover, at 240 min, *E. globulus* showed the highest inhibition percentage (93.75 ± 0.04) which was higher than that of an anti-inflammatory reference; ibuprofen. Polyphenolic extracts modulated the *in vivo* potential redox inflammation induced which was evaluated by MDA, SOD, CAT, GSH and GST estimation. Finally, the study of the analgesic activity of the four polyphenolic extracts showed a very potent analgesic activity with an ability to inhibit abdominal cramps similar to that of aspirin. These results are very encouraging for potential clinical application.

Keywords: anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, polyphenols.

المخلص

هدف دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للالتهاب، المضاد للاكسدة، وكذا المسكن للألم للمستخلصات الميثانولية لـ *Achillea odorata*، *Eucalyptus globulus*، *Mentha rotundifolia* و *Urtica dioica* في الوسط الحيوي بعد التسبب بأزمة في قدم الفأر إثر حقنها بالكاراجنين. إن تقييمنا لنسبة تثبيط الأذمة قد أثبت أن المستخلصات البوليفينولية لأوراق النباتات الأربعة المدروسة تمتلك نشاطا معتبرا مضادا للالتهاب. بعد 240 د، تبين أن *E. globulus* مسؤول عن أعلى نسبة تثبيط (93.75 ± 0.04) والتي تفوق النسبة المرجعية للإيبوبروفان. إضافة إلى ذلك، قامت المستخلصات متعددة الفينولات بتعديل النشاط المؤكسد الناجم عن الإلتهاب الذي تسبب به الكاراجنين، وقد استدلنا على ذلك بقياس تركيز SOD، CAT، MDA، و GSH. وفي الأخير، دراستنا للنشاط المسكن للألم للمستخلصات الأربعة قد أثبتت أن جميعها تمتلك نشاطا مسكنا للألم جذ فعال مع القدرة على تثبيط التشنجات البطنية إذا ما قارناها بالأسبرين. تعتبر هذه النتائج مشجعة للغاية لتطبيقات سريرية محتملة.

كلمات مفتاحية : مضاد للالتهاب، مضاد للاكسدة، مسكن للألم، البوليفينولات.