

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- جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

**Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des
extraits de *Marrubium vulgare* et *Salvia verbenaca* de
la région de Jijel *in vivo* et *in vitro*.**

Membre de jury :

Présidente : M^{me} HIRECHE Saliha.

Examinatrice : M^{me} REZZAGUI Abir.

Encadrante : M^{me} BOUTENNOUN Hanane.

Présenté par :

- MEDJRAB Sarra.
- MOURES Wahiba.

Année universitaire 2018-2019

N°d'ordre :.....

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant toutes choses, Nous remercions "Allah", le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour réaliser ce mémoire.

Nous 'exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à M^{me} Boutennoun Hanane, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé nous a permet de réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{me} Hicheche. S d'avoir accepté de présider le jury.

Bien entendue, nous remercions chaleureusement à M^{me} Razzagui. A pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements vont ainsi à tous les enseignants qui nous ont suivis durant notre cursus de formation,

Aux personnels du laboratoire de biochimie du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire à l'université de Sijel,

À tous les étudiants de master Biochimie de la promotion 2019,

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

En fin, nous ne serons achevées sans remercier nos chers parents qui nous ont soutenus durant tous ses années d'étude et qui nous ont encouragés sans cesse.



Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : tu présente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te dédie ce travail en témoignages de mon profond amour.

A mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs

A mes très chers frères

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite. A ma grande mère, mon grand père maternels et aussi à tous les membres de ma famille, petites et grands.

A ma bien aimé khalida

A mes chères ami (e)s et collègues

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur que je peux compter.

..... *Sarra*

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'inflammation

I. Généralités sur l'inflammation.....	03
I.1. Définition.....	03
I.2. Symptômes.....	03
I.3. Types de l'inflammation.....	03
I.3.1. Inflammation aiguë.....	03
I.3.2. Inflammation chronique.....	04
I.4. Phases de l'inflammation.....	04
I.4.1. Phase vasculaire.....	04
I.4.2. Phase cellulaire (d'amplification).....	05
I.4.3. Phase de réparation (résolution).....	05
I.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	06
I.5.1. Polynucléaires.....	06
I.5.2. Mastocytes.....	06
I.5.3. Monocytes.....	07
I.5.4. Lymphocytes.....	07
I.5.5. Cellules endothéliales.....	07
I.5.6. Fibroblastes.....	07
I.5.7. Plaquettes.....	07
I.6. Médiateurs inflammatoires	08
I.6.1. Médiateurs solubles.....	08
I.6.2. Médiateurs cellulaires.....	08
I.7. Exploration biologique de l'inflammation.....	09
I.8. Anti-inflammatoires.....	10
I.8.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	10
I.8.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	11

I.8.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale	11
Chapitre II : Polyphénols	13
II. Polyphénols.....	13
II.1. Définition.....	13
II.2. Classification des polyphénols.....	13
II.2.1. Acides phénoliques	13
II.2.2. Flavonoïdes.....	14
II.3. Tanins.....	15
II.3.1. Tanins condensés.....	15
II.3.2. Tanins hydrolysables.....	16
II.4. Activité anti-inflammatoire des polyphénols.....	16
Chapitre III : Plantes médicinales étudiées	
III. Plantes médicinales étudiées.....	18
III.1. <i>Marrubium vulgare</i> L.....	18
III.1.1. Présentation.....	18
III.1.2. Classification.....	18
III.1.3. Propriétés thérapeutiques.....	19
III.2. <i>Salvia verbenaca</i> L	19
III.2.1. Présentation.....	19
III.2.2. Classification.....	20
III.2.3. Propriétés thérapeutiques.....	20

Partie pratique

I. Matériel et méthodes	22
I.1. Matériel végétal.....	22
I.2. Préparation des extraits.....	22
I.2.1. Séchage.....	22
I.2.2. Broyage.....	22
I.2.3. Tamisage.....	23
I.2.4. Extraction des composés bruts.....	22

I.2.4.1. Macération.....	23
I.2.4.2. Filtration et décantation.....	24
I.2.4.3. Evaporation.....	24
I.2.5. Détermination du rendement d'extraction.....	25
I.2.6. Dosage des polyphénols totaux.....	25
I.2.7. Dosage des flavonoïdes.....	25
I.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	26
I.3.1. Etude <i>in vivo</i>	26
I.3.1.1. Entretien des animaux.....	26
I.3.1.2. Répartition et traitements préventif des animaux.....	26
I.3.1.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts.....	27
I.3.1.4. Mesure du volume de l'œdème induit par la carragénine.....	27
I.3.2. Étude <i>in vitro</i>	28
I.3.2.1. Inhibition de la dénaturation des protéines.....	28
I.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges.....	29
I.4. Evaluation statistique.....	29
II. Résultats et interprétations.....	31
II.1. Les rendements des extraits bruts.....	31
II.2. Teneurs en composés phénoliques des deux extraits.....	31
II.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	32
II.3.1. Evaluation <i>in vivo</i>	32
II.3.1.1. Mesure de l'œdème de patte arrière droite des souris.....	32

II.3.1.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts et deux anti-inflammatoires de référence.....	34
II.3.2. Evaluation <i>in vitro</i>	36
II.3.2.1.Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique.....	36
II.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges.....	37
III. Discussion	39
Conclusion	44
Références bibliographiques	45
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

A2	: Apoprotéine2
AINS	: Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
AIS	: Anti-Inflammatoires Stéroïdiens
AlCl₃	: Trichlorure d'Aluminium
BSA	: Bovine Serum Albumin
C°	: Température en Degrés Celsius
CGRP	: Calcitonine Gene Related Peptide
CRP	: Protéine C-Réactive
DO	: Densité Optique
EAG	: Equivalent d'acide Gallique
EB	: Extrait brute.
ED	: Eau Distillé
EDHF	: Facteur Hyperpolarisant Dérivé de L'endothélium
FNS	: Numération et Formule Sanguine
g	: Gramme
GCs	: Glucocorticoïdes
h	: Heure
HCL	: Acide Chlorhydrique
IFNγ	: Interferon Gamma
IL	: Interleukine
INH	: Inhibition
Kg	: Kilogramme
M	: Molaire
<i>M .vulgare L</i>	: <i>Marrubium Vulgare L</i>
mg	: Milligramme
min	: Minute
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
N	: Normalité
Na₂CO₃	: Bicarbonate de Sodium
NaCl	: Chlorure de Sodium
NK	: Natural Killer
nm	: Nanomètre

NO	: Oxyde Nitrique
PAF	: Facteur d'activation des Plaquettes
PCT	: Procalcitonine
pg	: Picogramme
PGI2	: Prostacycline
PNE	: Polynucléaires Eosinophiles
PNN	: Polynucléaires Neutrophiles
ROS	: Espèces Réactives de L'oxygène
<i>S.verbenaca</i> L	: <i>Salvia Verbenaca</i> L
SP	: Substance P
T°	: Température
TGF	: Transforming Growth Factor
TNF	: Tumor Necrosis Factor
tr	: Toure
V	: Volume
VS	: Vitesse de Sédimentation

Liste des figures

Figure 1 :	Mécanisme de réponse inflammatoire aiguë.....	04
Figure 2 :	Structure des acides phénoliques (acide benzoïque(a) et acide cinnamique(b)....	13
Figure 3 :	Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 4 :	Structure des tanins condensés	16
Figure 5 :	Structure de l'acide gallique (a) et de l'acide ellagique (b).....	16
Figure 6 :	<i>Marrubium vulgare</i> L.....	18
Figure 7 :	<i>Salvia verbenaca</i> L.....	20
Figure8 :	Macération sous agitation magnétique.....	22
Figure9 :	Filtration à l'aide du papier Whatman N°3.....	23
Figure10 :	Délipidation et décantation des extraits.....	23
Figure11 :	Evaporation des extraits bruts.....	23
Figure12 :	Administration orale des extraits ou les standards (a), Injection sub-plantaire de La carragénine d'administration (b).....	26
Figure 13 :	Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.....	27
Figure14 :	Rendements des extraits bruts des deux plantes en pourcentage.....	31
Figure15 :	Teneur en polyphénols des extraits des deux plantes	31
Figure16 :	Teneur en flavonoïdes des extraits des deux plantes.....	32
Figure17 :	Effet de l'extrait brut de <i>M. vulgare</i> L. et des médicaments de référence sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine	33
Figure18 :	Effet de l'extrait brut de <i>S. Verbenaca</i> L. et des médicaments de référence sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.....	34
Figure19 :	Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts de <i>M.vulgare</i> L. et des standards.....	35
Figure20 :	Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts de <i>S. Verbenaca</i> L. et des standards.....	36
Figure21 :	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des deux extraits comparé au standard.....	37
Figure22 :	Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par l'extrait brut des feuilles des deux plantes et l'Indométacine à différentes concentrations.....	38

Liste des tableaux

Tableau I :	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....	09
Tableau II :	Exemples de plantes médicinales à activité anti-inflammatoires.....	12
Tableau III :	Les principaux groupes de flavonoïdes.....	14
Tableau IV :	Les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation.....	21

Introduction

Introduction

L'inflammation est une réaction physiopathologique des tissus vivants aux lésions conduisant à une accumulation locale de liquide plasmatique et de cellules sanguines. Elle implique une séquence complexe d'événements biochimiques étroitement associés à la pathogenèse de diverses maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'ostéoarthrite, la goutte aiguë et la migraine (**Mansour et al., 2014**).

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (**Gaziano et Gibson, 2006**).

En Algérie la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne (**Rahmani et al., 2016**).

Les végétaux produisent une grande variété des métabolites secondaire, et en particulier les composés phénoliques, dont l'intérêt est souvent important pour l'homme dans les domaines pharmacologiques et agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**). Les polyphénols ont montré de nombreuses activités biologiques et avantages pour la santé dans la prévention et le traitement des maladies liées au vieillissement, des cancers, des maladies cardiaques, et des maladies inflammatoires (**Li et al., 2014**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de valoriser l'utilisation traditionnelle de certaines plantes médicinales notamment celles sélectionnées au cours de ce travail à savoir *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. et d'apporter une base scientifique à leur utilisation dans le traitement de l'inflammation.

Notre travail sera réparti en deux parties :

- Une partie relative à l'étude bibliographique de l'inflammation et des polyphénols.
- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale relative au dosage des composés phénoliques des deux plantes choisies, l'évaluation des effets préventifs des extraits polyphénoliques contre l'inflammation *in vivo* sur l'œdème inflammatoire aiguë de la

patte des souris induit par la carragénine et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par deux tests des extraits bruts préparés à différentes concentrations.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur
l'inflammation

I. Généralités sur l'inflammation

I.1. Définition

L'inflammation est une réponse physiologique de défense ou d'adaptation à une agression, qui peut être un microorganisme ou toutes substances particulaires ou solubles, étrangères à l'organisme (**Pasquier, 1995**). Elle a pour rôle essentiel l'élimination de l'agent pathogène et la réparation du tissu lésé (**Yougbaré-Ziébrou, 2015**). Elle consiste en une cascade étroitement réglementée de processus immunologiques, physiologiques et comportementaux orchestrés par des molécules de signalisation immunitaires solubles appelées cytokines (**Ashley et al., 2012**). Son contrôle dépend d'un équilibre subtil entre cytokines pro- et anti-inflammatoire (**Cynober, 2000**).

I.2. Symptômes

L'inflammation est un mécanisme universel de défense et de réparation tissulaire après agression. Bénéfique pour l'organisme, elle doit, pour atteindre son but, faire payer le prix au malade avec des symptômes pénibles, locaux (rougeur, chaleur, œdème, douleur), généraux (fièvre, asthénie, anorexie, myalgies, torpeur...), et parfois dangereux (occlusion ou rupture d'une artère au cours d'une vascularite) (**Muster, 2005**).

I.3. Types de l'inflammation

Il existe généralement deux types d'inflammation: l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique (**Pahwa et Jialal, 2018**)

I.3.1. Inflammation aiguë

La réponse inflammatoire aiguë est définie comme une série de réponses tissulaires pouvant survenir dans les premières heures suivant la lésion (**Ward, 2010**). L'inflammation aiguë est caractérisée par une vasodilatation, une exsudation de liquide et une infiltration de neutrophiles (**Figure 1**). Ces processus sont activés et amplifiés par une série de facteurs intracellulaires et extracellulaires qui coordonnent étroitement le processus inflammatoire (**Sherwood et Toliver-Kinsky, 2004**). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Rousselet et al., 2005**).

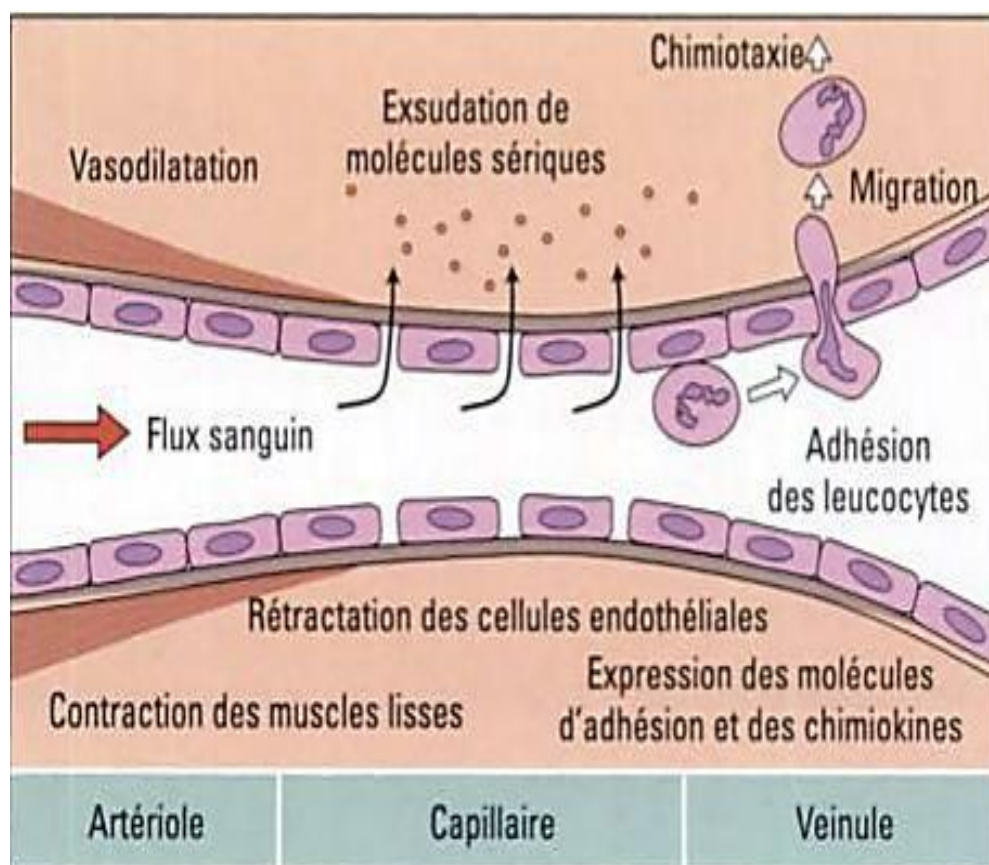


Figure 1: Mécanisme de réponse inflammatoire aiguë (Male, 2005).

I.3.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est un phénomène persistant pouvant entraîner des lésions tissulaires (Gabay, 2006). Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (quelques mois à quelques années) (Ward, 2010). En général, elle est caractérisée par la présence de macrophages, de monocytes et de lymphocytes avec prolifération de vaisseaux sanguins et de tissus conjonctifs (Anderson, 1993). L'inflammation chronique est universellement associée à des maladies d'affluence et à une durée de vie prolongée telles que l'obésité, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le cancer (Okin et Medzhitov, 2012).

I.4. Phases de l'inflammation

L'inflammation est caractérisée par trois phases principales : une phase vasculaire, une phase cellulaire et une phase de réparation (Pasquier, 1995).

I.4.1. Phase vasculaire

La réponse inflammatoire commence par une vasodilatation, stimulée par la libération de facteurs solubles tels que l'oxyde nitrique (NO), la bradykinine, l'histamine et les prostaglandines

(Serra *et al.*, 2017). Ces médiateurs peuvent dériver des microbes, du tissu lésé, des mastocytes et des autres leucocytes et de fraction du complément (Lydyard *et al.*, 2002). Au cours de la phase vasculaire, il a lieu une vasodilatation artériolaire, capillaire et veinulaire, ainsi qu'une augmentation de la perméabilité. Les Polynucléaires neutrophiles (PNN) du sang se disposent à la périphérie des petits vaisseaux, adhèrent aux cellules endothéliales par l'intermédiaire de molécules de l'adhérence induites à la surface des deux types cellulaires, puis passent à travers la paroi des vaisseaux et se dirigent vers le lieu de l'agression (Pasquier, 1995). Les plaquettes activées roulent et adhèrent à l'endothélium enflammé et interagissent avec les PNN. Ces interactions transitoires avec les neutrophiles et les cellules endothéliales sont médiées par la P-sélectine (Mekaj, 2016). En générale la phase vasculaire comportent trois phénomènes : une congestion active, un œdème inflammatoire (l'exsudat), et une diapédèse leucocytaire (Rousselet *et al.*, 2005).

I.4.2. Phase cellulaire (d'amplification)

La phase cellulaire, caractérisée par l'infiltration de leucocytes sur le site de la blessure (Vergnolle, 2003). Un groupe d'agents chimiotactiques tels que des endotoxines microbiennes, un fragment du complément C5a et des interleukines (IL) ainsi que des sécrétions de basophiles telles que le facteur d'activation des plaquettes (PAF), l'histamine et le leukotriène peuvent stimuler une infiltration intense de leucocytes en quelques minutes (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). Parmi les leucocytes, les PNN sont les premières cellules circulantes à arriver au niveau du tissu lésé. Si les neutrophiles ne suffisent pas pour détruire les microbes, des monocytes/macrophages circulants, attirés par les chimiokines, vont venir en renfort sur le site lésé pour phagocyter les microbes et les débris cellulaires (Schwartz, 2011). D'une autre part, IL-12 et l'Interféron gamma (IFN γ) fonctionnent ensemble pour amplifier les réponses immunitaires innées et adaptatives (Sherwood et Toliver-Kinsky, 2004).

I.4.3. Phase de réparation (résolution)

La résolution de l'inflammation est un processus actif et coordonné visant à restaurer l'intégrité et la fonction des tissus (Ortega-Gómez *et al.*, 2013). Elle empêche la progression d'une inflammation aiguë en une inflammation chronique persistante (Sugimoto *et al.*, 2016). Les processus fondamentaux de la résolution incluent la limitation ou la cessation de l'infiltration des neutrophiles et la contre-régulation des chimiokines et des cytokines (Headland et Norling, 2015). Les lipoxines, protectines, résolvines, marésines sont des médiateurs possèdent des fonctions clés dans les mécanismes endogènes de contre-régulation de l'inflammation et d'activation de la résolution (Barnig, 2016).

Un autre processus est l'induction de l'apoptose dans les neutrophiles épuisés et leur efférocytose subséquente par les macrophages qui ingèrent des neutrophiles apoptotiques (**Headland et Norling, 2015 ; Ortega-Gómez *et al.*, 2013**). L'ingestion de cellules apoptotiques entraîne la production de cytokines anti-inflammatoires telles que le facteur de croissance transformant beta-1 (TGF- β 1) et la suppression active de médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-8 (**Reville *et al.*, 2006**). Les cellules fibroblastiques et endothéliales jouent un rôle résolutives (**Pasquier, 1995**). Les fibroblastes activés produisent tout le matériel nécessaire à la réparation tissulaire : protéoglycanes, glycosaminoglycanes, collagène, fibronectine...ect (**Russo-Marie, 1998**).

I.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

I.5.1. Polynucléaires

➤ Polynucléaires neutrophiles (PNN)

Les PNN sont l'une des premières barrières de défense contre l'introduction d'un agent pathogène dans l'organisme (**Gougerot-Pocidalo, 2002**). Schématiquement, sous l'influence de différents chimioattractants, les PNN migrent vers leurs cibles, puis y adhèrent, les englobent et les tuent (**Gougerot-Pocidalo *et al.*, 2007**). En raison de leur puissant équipement microbicide, ils jouent un rôle majeur dans les réponses inflammatoires autres que les défenses anti-infectieuses (**Cassatella, 2010**).

➤ Polynucléaires éosinophiles (PNE)

Les polynucléaires éosinophiles (PNE) sont un sous-groupe de leucocytes présents dans de nombreux tissus. Dans le sang, ils représentent environ 1-5 % des cellules en circulation (**Burgmann *et al.*, 2016**). Ils peuvent être, à la fois, des cellules effectrices ou des cellules régulatrices impliquées lors des phases de progression ou de résolution de la réponse inflammatoire (**Prin *et al.*, 2014**).

➤ Polynucléaires basophiles (PNB)

Les basophiles sont les granulocytes sanguins les plus rares. Ils représentent moins de 1 % des leucocytes circulants (**Galeotti *et al.*, 2016**). Lorsqu'ils sont activés, les polynucléaires basophiles libèrent un grand nombre de médiateurs pro-inflammatoires influençant profondément l'orchestration de l'inflammation (**Rostan *et al.*, 2014**).

I.5.2. Mastocytes

Les mastocytes sont des cellules immunitaires de la lignée myéloïde et sont présents dans les tissus conjonctifs dans tout le corps (**Krystel-Whittemore *et al.*, 2016**). Elles sécrètent de

nombreux médiateurs vasoactifs et pro-inflammatoires. Ceux-ci comprennent des molécules préformées telles que l'histamine, la sérotonine, le facteur de nécrose tumorale (TNF), les kinines et les protéases stockées dans des granules de sécrétion (**Theoharides et al., 2012**).

I.5.3. Monocytes

Le rôle principal des monocytes était de détecter l'environnement et de reconstituer le pool de macrophages tissulaires et de cellules dendritiques (**Yang et al., 2014**). Les macrophages sont prêts à produire rapidement de grandes quantités de cytokines inflammatoires en réponse aux signaux de danger (**Hamidzadeh et al., 2017**). Les cellules dendritiques inflammatoires peuvent migrer dans les ganglions lymphatiques et y transporter des antigènes capturés sur le site d'inflammation (**Segura et al., 2014**).

I.5.4. Lymphocytes

Les lymphocytes constituent un groupe hétérogène de cellules qui sont classiquement divisées en cellules T, en cellules B et en cellules tueuses naturelles (NK). Tous ces sous-groupes sont responsables d'un ensemble spécifique de réponses immunitaires et contribuent donc également fortement à l'inflammation des tissus locaux et à sa résolution (**Gallo et al., 2017**).

I.5.5. Cellules endothéliales

Les cellules endothéliales vasculaires forment une couche monocellulaire sur tous les vaisseaux de la circulation sanguine (**Stoltz et al., 1999**). Elles ont un rôle déterminant dans la régulation de l'homéostasie vasculaire principalement via la formation de puissants facteurs vasodilatateurs : le NO, le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) et la prostacycline (PGI₂) (**Schini-Kerth, 2012**).

I.5.6. Fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules ubiquitaires identifiées par leur morphologie, leur capacité à adhérer à un substrat plastique et l'absence d'autres marqueurs de la lignée cellulaire (**Gallo et al., 2017**).

I.5.7. Plaquettes

Les plaquettes sanguines sont de petits éléments cellulaires anucléés issus de la fragmentation d'une cellule d'amont d'origine hématopoïétique, le mégacaryocyte (**Garraud et al., 2011**). Les plaquettes sanguines de mammifères sont spécialisées dans la réponse hémostatique conduisant à l'arrêt temps du saignement après une blessure vasculaire (**Cognasse et al., 2007**). Des médiateurs inflammatoires sont stockés dans les granules de sécrétion et sont libérés après stimulation des plaquettes. La plupart de ces molécules jouent des rôles majeurs dans l'inflammation vasculaire (**Dunois-Lardé et Baruch, 2011**).

I.6. Médiateurs inflammatoires

I.6.1. Médiateurs solubles

Il existe un grand nombre de médiateurs solubles impliqués dans les réactions inflammatoires, parmi lesquels :

- **Les cytokines** : Il s'agit d'un groupe de substances polypeptidiques dont les principales sont les suivantes : le TNF- α qui est le médiateur central de la réaction inflammatoire (**Spooner et al., 1992**). Au niveau local, il met en jeu les défenses antimicrobiennes par l'activation des neutrophiles et monocytes et favorise la réparation tissulaire par l'activation des fibroblastes et la mise en jeu des mécanismes d'angiogenèse (**Voss et Cotton, 1998**). le TNF- α possède la capacité de provoquer la sécrétion d'autres médiateurs pro-inflammatoires, dont IL-1 et l'IL-6 (**Sherwood et Traber, 2007**).
- **Les neuropeptides** : De nombreux neuropeptides sont impliqués dans la régulation de la réaction inflammatoire, le principale neuropeptide implique dans le réflexe axonale est la substance P (SP) (**Henrotin et al., 2001**). La SP peut exercer son activité chimiotactique ou provoquer la dégranulation des mastocytes pour recruter les granulocytes dans les tissus enflammés (**Iwamoto et al., 1992**).
- **Les médiateurs lipidiques** : Les médiateurs lipidiques portent le nom d'eicosanoïdes, Parmi eux, on trouve les prostaglandines, la Prostacycline, les thromboxane et les leucotriènes (**Bocher et al., 2002**). Les trois premiers sont des prostanoïdes. Ces molécules lipidiques dérivent toutes de l'acide arachidonique après plusieurs étapes d'oxydation. Les prostaglandines sont de puissants médiateurs de la réponse inflammatoire (**Raymondjean, 2007**).

I.6.2. Médiateurs cellulaires

Ce groupe comprend les substances chimiques synthétisées ou utilisées par différentes cellules du corps. Lors de la stimulation de la cellule, ils sont libérés et agissent en tant que médiateurs puissants de l'inflammation (**Tableau I**) (**Mohan, 2018**). Ces médiateurs agissent de multiples façons, notamment en modifiant la perméabilité vasculaire et le flux de liquide transcapillaire (**Greenhalgh, 2016**).

Tableau I : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire

Origine cellulaire	Médiateurs	Effets
Les plaquettes, basophiles, les cellules dendritiques, les lymphocytes, (Jamet, 2006)	Histamine	Vasodilatation, un puissant hypotenseur, règlent les échanges liquidiens entre le sang et les tissus, la sécrétion d'acide gastrique (Jamet, 2006). Exerce des activités immunomodulatrices (Caron et al., 2001)
Les plaquettes sanguines (Martin et al., 2017)	Sérotonine	Contraction des muscles lisses, hyperperméabilité capillaire (Martin et al., 2017)
Plaquettes, basophiles, PNN, monocytes et macrophages (Klems et Bahnson, 2015)	Platelet-activating factor (PAF)	La pathogenèse de nombreux processus inflammatoires (Les affections inflammatoires de la peau) et les maladies auto-immunes (Kelesidis et al., 2015)
Au niveau du foie mais également dans d'autres organes et tissus (rein, cœur, endothélium) et dans le plasma (Bhoola et al., 1992)	Kallicréine	Vasodépresseur, provoque une bronchoconstriction (Mande et al., 1976)

I.7. Exploration biologique de l'inflammation

Le dépistage d'un syndrome inflammatoire repose sur la mesure de :

- **La protéine C-réactive (CRP) :** C'est une protéine réactive en phase aiguë qui est principalement induite par l'action de l'IL-6 (**Nehring et Patel, 2018**). Les concentrations plasmatiques de la CRP augmentent d'environ de 1 µg/ml à plus de 500 µg/ml dans les 24 à 72 heures suivant des lésions tissulaires graves telles qu'un traumatisme ou un cancer évolutif (**Sproston et Ashworth, 2018**).
- **La vitesse de sédimentation(VS) :** Elle explore indirectement le taux plasmatique de protéines de l'inflammation. L'augmentation de la VS traduit habituellement la présence d'un état inflammatoire

ou infectieux. Il est cependant nécessaire de connaître les possibilités de VS élevée sans syndrome inflammatoire (Dubost *et al.*, 1994).

- **L'hémogramme ou la numération et la formule sanguine (FNS) :** Il permet d'évaluer la quantité et la qualité des trois lignées sanguines (Berthélémy, 2014). On admet que l'infection bactérienne entraîne une hyperleucocytose, avec une PNN consécutive à la libération de médiateurs de l'inflammation (Guilhot, 1992).
- **La procalcitonine (PCT) :** Elle est décrite comme un marqueur de l'inflammation spécifique des infections bactériennes et dans les infections virales et les syndromes inflammatoires sans cause infectieuse (Chourrout, 2008). C'est une protéine de la phase aiguë de l'inflammation (Wolff et Joly-Guillou, 2011).
- **Le fibrinogène :** C'est une glycoprotéine plasmatique synthétisée par le foie qui joue un rôle essentiel dans l'hémostase (Samama *et al.*, 2018). Il s'élève à la phase tardive de l'inflammation (Emile, 2012).
- **Les cytokines :** De nombreuses cytokines sont retrouvées au sein des foyers inflammatoires (Cavaillon, 1995). Ils circulent à très faibles concentrations (fréquemment inférieure à 10pg.mL^{-1}) qui se situent souvent en dessous de limite de détection de la grande majorité des méthodes de dosage (Bienvenu *et al.*, 2000).
- **L'électrophorèse des protéines sériques :** Elle est utilisée en pratique courante pour le diagnostic et le suivi de diverses pathologies (syndrome inflammatoire, affections hépatiques ou rénales,...) (Lefèvre et Gillery, 1997). Une hypoalbuminémie est présente lors des syndromes inflammatoires sévères. L'élévation des $\alpha 1$ globulines est observée lors d'un processus inflammatoire à son début, tandis que l'augmentation des $\alpha 2$ évoque un syndrome inflammatoire constitué (Emile, 2012).

I.8. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires appartiennent à des classes chimiques très variées et agissent de façon purement symptomatique sur la réaction aspécifique des tissus à un agent agresseur (Muster, 2005). Aujourd'hui, les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants (Rahmani *et al.*, 2016).

I.8.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ce sont des médicaments fréquemment utilisés en médecine ambulatoire (Dirou et Voiriot, 2015). Ils regroupent un ensemble de molécules présentant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques (Bacchi *et al.*, 2012). Leur efficacité comme leurs principaux effets secondaires sont liés à leur mécanisme d'action principal qui est l'inhibition des cyclo-oxygénases,

enzymes responsables de la synthèse des prostaglandines et du thromboxane (**Orliaguet et al., 2013**).

I.8.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les corticoïdes sont les anti-inflammatoires les plus puissants, mais leur mécanisme d'action n'a pas été totalement élucidé (**Guilpain et Jeunne, 2012**). Elles sont synthétisées sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien adrénérgique (**Dejean et Richard, 2013**). La liaison des glucocorticoïdes (GCs) à leur récepteur soluble déclenche de nombreux mécanismes moléculaires et cellulaires dont dépendent leurs propriétés anti-inflammatoires.

L'inhibition de la voie des prostaglandines et de celle des leucotriènes constitue un des grands mécanismes d'action des GCs (**Guilpain et Jeunne., 2012**).

I.8.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Tableau II**). Elles font l'objet d'études scientifiques rigoureuses pour leur éventuelle utilisation comme alternative, particulièrement pour la protection contre la peroxydation lipidique et le traitement des maladies inflammatoires (**Bourkhiss et al., 2010**).

Tableau II : Exemples de plantes médicinales à activité anti-inflammatoires

Nom scientifique	Nom commun	Famille	Partie Utilisée	Effets
<i>Zingiber officinale</i> (Mbaveng et Kuete, 2017)	Ginger	<i>Zingiberaceae</i>	Rhizomes	Analgésique et anti-inflammatoire, anticancéreux et antidiabétique
<i>Borago officinalis L</i> (Tewari et al., 2019)	Bourrache	<i>Boraginaceae</i>	Fleurs	Antihypertenseur, diurétique et antipyrétique
<i>Curcuma longa L</i> (Cheng et al ., 2019)	Curcuma	<i>Zingiberaceae</i>	Rhizomes	Anti-inflammatoire, Anticancéreux et Antioxydant
<i>Juglans regia L</i> (Schwindl et al., 2019)	Noyer persan	<i>Juglandaceae</i>	Feuilles	Hypoglycémie, insuffisance veineuse et helminthes
<i>Ximenia americana</i> (Agyigra et al., 2017)	Citron de mer	<i>Olacaceae</i>	L'écorce de tige	Les ulcères d'estomac et anti-inflammatoire

Chapitre II :
Polyphénols

II. Polyphénols

II.1. Définition

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes (Pandey et Rizvi, 2009). Ils sont omniprésents dans le règne végétal (Zillich *et al.*, 2015). Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate (Chira *et al.*, 2008). Structurellement, tous les polyphénols ont un ou plusieurs cycles aromatiques (phénoliques) (Hardman, 2014). Ils jouent un large éventail d'effets biologiques, notamment des effets antibactériens, anti-inflammatoires, antiallergiques, hépatoprotecteurs, antithrombotiques, antiviraux, anticarcinogènes, cardioprotecteurs et vasodilatateurs (Benhammou *et al.*, 2009). Plus de 8000 composés phénoliques et polyphénoliques ont été identifiés chez diverses espèces de plantes (Kondratyuk et Pezzuto, 2004).

II.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols peuvent être classés en plusieurs classes, à savoir les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Shahidi et Yeo, 2018).

II.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont une classe majeure de composés phénoliques que l'on trouve dans de nombreuses boissons (De Córdova et Medina, 2014). On distingue deux classes d'acides phénoliques : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Figure 2) (Manach *et al.*, 2004). Ces deux classes de composés possèdent un squelette carboné commun et ne diffèrent que par le nombre et la position des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique (Li *et al.*, 2009).

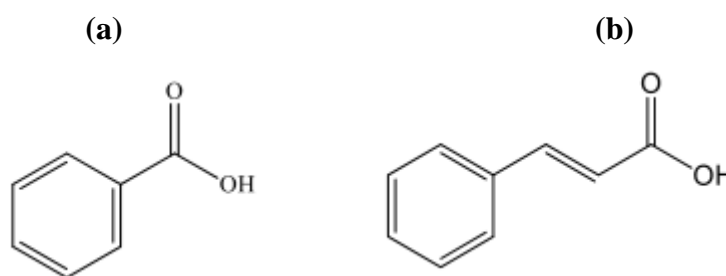


Figure 2: Structure des acides phénoliques (acide benzoïque(a) et acide cinnamique(b)) (Heleno *et al.*, 2015).

II.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes (le terme vient du mot latin «flavus», qui signifie jaune (David *et al.*, 2016)), sont largement distribués dans toute la royaume des plantes et abondant dans de nombreuses fleurs, fruits et feuilles (Taylor et Grotewold, 2005). Chimiquement, les flavonoïdes sont basés sur un squelette de quinze atomes de carbone constitué de deux noyaux benzéniques (A et B) liés par un cycle pyrane hétérocyclique (C) (Figure 3) (Kumar et Pandey, 2013). Les flavonoïdes jouent de nombreux rôles dans les plantes, y compris leur influence sur le transport de l'auxine (Brown *et al.*, 2001), la modulation des niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les tissus végétaux et dans la coloration de divers tissus (les fleurs) (Weston et Mathesius, 2013). Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, dont les principaux sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols (flavanols), les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Tableau III) (Chira *et al.*, 2008).

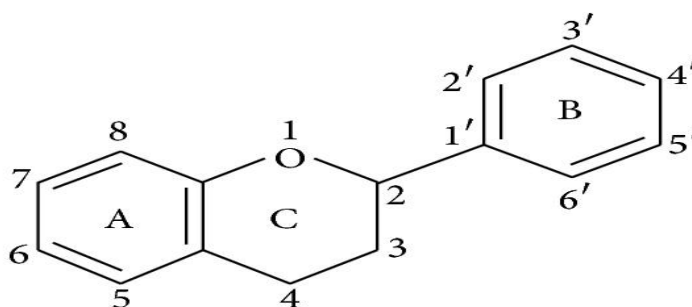
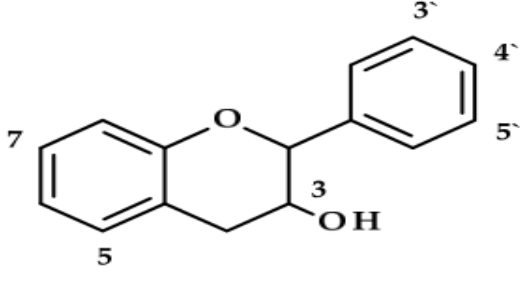
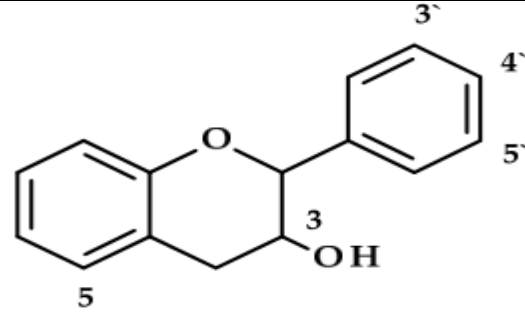
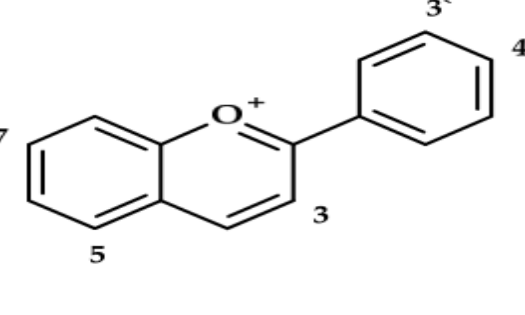
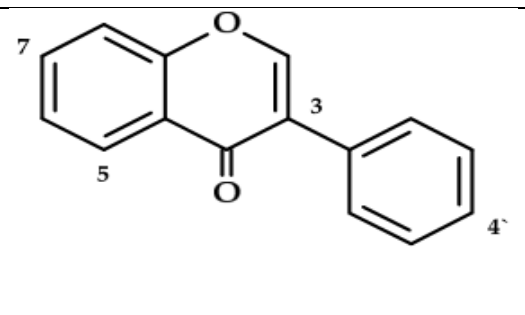


Figure 3: Structure de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013).

Tableau III : Les principaux groupes de flavonoïdes (Vladimir-Knežević *et al.*, 2012).

groupes	Structures chimiques	Exemples
Flavones		Apigénine 4', 5, 7-OH
		Lutéoline 3', 4', 5, 7-OH
Flavonols		Quercétine 3',4', 3, 5, 7-OH
		Kaempferole : 4', 3, 5, 7-OH

Flavanones		Naringénine 4', 5, 7-OH
		Hesperétine 3', 5, 7-OH, 4'-OCH ₃
Flavanols		Catéchine 4',5', 3, 5, 7-OH
		Gallocatéchine 3',4',5',3,5,7-OH
Anthocyanidines		Cyanidine 3', 4', 3, 5, 7-OH
		Pelargonidine 4', 3, 5, 7-OH
Isoflavones		Daidzéine 4', 7-OH
		Genistéine 4', 5, 7-OH

II.3. Tanins

Les tanins sont un groupe de polyphénols solubles dans l'eau, ayant des poids moléculaires allant de 500 à 3 000 Da (**Han *et al.*, 2007**). Ils sont capables de précipiter des alcaloïdes ainsi que la gélatine et d'autres protéines à partir de solutions aqueuses (**De Hoyos-Martinez *et al.*, 2018**). Ils sont subdivisés en tanins condensés et hydrolysables (**Khanbabaee et van Ree, 2001**).

II.3.1. Tanins condensés

Les tanins condensés (proanthocyanidines) (**Figure 4**) : ce sont des oligomères de flavan-3-ol (monomères de catéchine) et/ou de flavan-3,4-diol, habituellement liés par C-C et

occasionnellement par des liaisons C-O-C avec une large diversité structurale (Smeriglio *et al.*, 2017). Ils se présentent dans des nombreux fruits et dans certains légumes, plantes médicinales et légumineuses fourragères (Ropiak *et al.*, 2017).

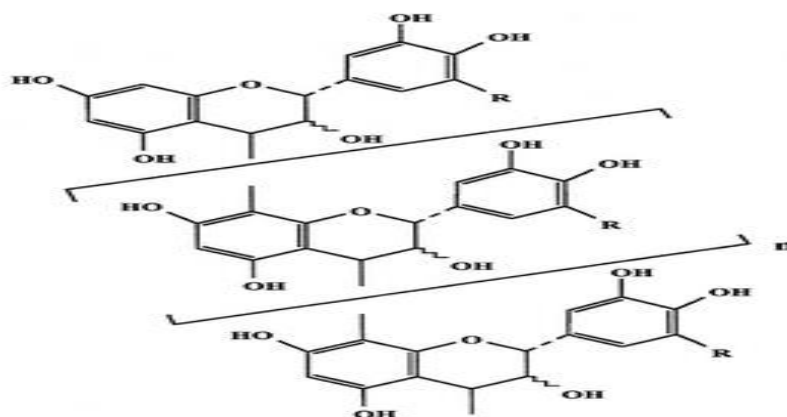


Figure 4 : Structure des tanins condensés (Macheix *et al.*, 2005).

II.3.2. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un alcool polyhydrique estérifié avec l'acide gallique ou des dérivés de l'acide gallique (Lekha et Lonsane, 1997). Ils peuvent contenir de longues chaînes d'acide gallique provenant du noyau central du glucose (Hill, 2003). Les tanins hydrolysables peuvent être divisés en gallotannins, qui fournissent du sucre et de l'acide gallique lors de l'hydrolyse, et des ellagitannins, qui, lors de l'hydrolyse, ne donnent pas que du sucre et de l'acide gallique, mais de l'acide ellagique (Figure 5) (Smeriglio *et al.*, 2017).

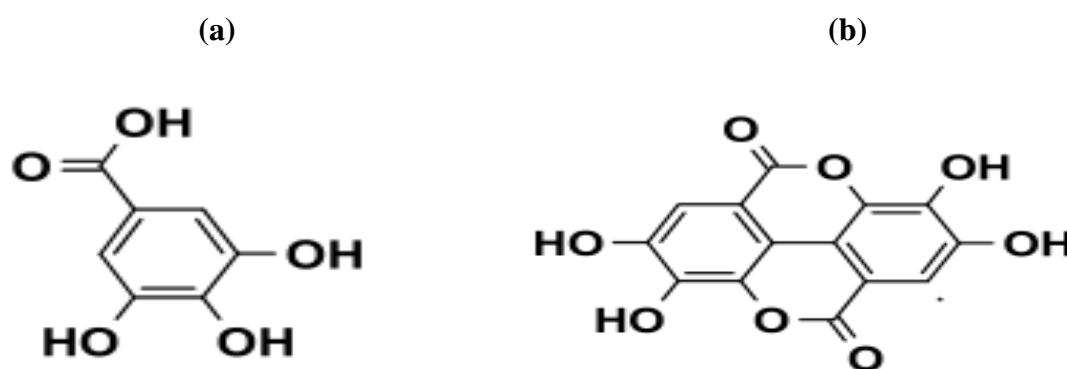


Figure 5: Structure de l'acide gallique (a) et de l'acide ellagique (b) (Hagerman, 2002).

II.4. Activité anti-inflammatoire des polyphénols

Les composés phénoliques agissent de manière similaire aux AINS (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016). Ils peuvent exercer des effets anti-inflammatoires, notamment par la modulation des activités des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique (phospholipase A2, COX)

(Hussain *et al.*, 2016). Certains polyphénols exercent leurs effets sur l'équilibre entre la production de cytokines pro et anti-inflammatoires **(Yahfoufi *et al.*, 2018).** Ils peuvent également augmenter de manière bénéfique la production de molécules anti-inflammatoires telles qu'IL-4, IL-10, IL-13 et l'adiponectine **(Joseph *et al.*, 2015)** et inhibent la libération des cytokines pro-inflammatoires comme TNF- α et IL6 par les macrophages **(Yahfoufi *et al.*, 2018).**

Plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique. Ils bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées **(Ghedira, 2005).**

Chapitre III :
Plantes médicinales
étudiées

III. Plantes médicinales étudiées

III.1. *Marrubium vulgare* L.

III.1.1. Présentation

Le *Marrubium vulgare* L. (le marrube blanc) (**Figure 6**) est communément appelé «Om Rubia» (**Boulila et al., 2015**). C'est une plante médicinale aromatique appartenant à la famille des Lamiaceae et originaire d'Afrique du Nord, d'Asie centrale et occidentale et d'Europe méridionale (**Namoune et al., 2018**). Il est une plante herbacée vivace aux caractéristiques morphologiques rappelant celle de la menthe (**Rodríguez Villanueva et Martín Esteban, 2016**). Il atteint environ un pied de hauteur, ramifié en dessous, densément couvert au stade jeune, avec un feutre épais, blanc et cotonneux (**Lodhi et al., 2017**). Il a des feuilles dentées au sommet et des fleurs en petites glomérules à l'aisselle des paires de feuilles (**Djahra et al., 2015**). Il a des racines fibreuses et de nombreuses tiges quadrangulaires, dressées, très duveteuses. Le *M. vulgare* L. à une odeur musquée qui diminue en séchant et un goût piquant, amer mais agréable et aromatique (**Lodhi et al., 2017**). Il prospère presque dans tous les types de sol, mais il est préférable dans les sols calcaires légers, plutôt secs, et sous un climat ensoleillé (**Namoune et al., 2018**).



Figure 6 : Le *Marrubium vulgare* L. (Région d'Ouled rabah, 2019).

III.1.2. Classification

La systématique de *Marrubium vulgare* L. est la suivante (**Judd et al., 2002, Ahvazi et al., 2018**).

Règne *Plantae*
 Embranchement *Spermatophyta*
 Sous-embranchement *Magnoliophyta*
 Classe *Magnoliopsida*
 Sous-classe *Asteridae*
 Ordre *Lamiales*
 Famille : *Lamiaceae*

Sous-famille*Lamioideae*
Genre*Marrubium*
Espèce*Marrubium vulgare* L.

Nom commun : Horehound (**Tahraoui et al., 2007**)

Nom local : Meriwet (**Namoune et al., 2018**).

III.1.3. Propriétés thérapeutiques

Le *Marrubium vulgare* L. est traditionnellement utilisée pour le traitement de divers maux : sifflements respiratoires, maladies urinaires, otites et ophtalmies (**Bouterfas et al., 2013**). La plante hachée est utilisée en cataplasme sur les tempes contre la fièvre, et sur les abcès et les furoncles pour les panser et aider à leur cicatrisation (usage externe). Il a un effet bénéfique en cas de rhume, de grippe, d'irritabilité, d'insomnie et de règles difficiles (usage interne) (**Lahsissene et al., 2009**).

La plante aurait des activités antalgique et antinociceptive, anti-inflammatoire, activité anti-hématogène, antispasmodique, gastroprotectrice, antihypertensive, antidiabétique et antihyperlipidique, en plus de nombreuses autres activités biologiques (**Lodhi et al., 2017**).

III.2. *Salvia verbenaca* L.

III.2.1. Présentation

Le nom générique (*Salvia*) provient latin "*Salvus*" (= Save, sûr, bien, en bonne santé), un ancien nom de ce groupe des plantes aux propriétés médicinales présumées (**Couto et al., 2017**). Le nom spécifique (*verbenaca*) signifie comme la verveine « (ancien nom latin de la plante *verveine*) (**Mawji et al., 2008**). Le *Salvia Verbenaca* L. (**Figure 7**) est une plante médicinale couramment cultivée qui est originaire des régions méditerranéennes au climat méditerranéen d'Europe, d'Afrique, d'Asie (**Javaid et al., 2018**). Le genre *Salvia* est l'un des plus grands et des plus connus important genre aromatique et médicinal de la famille Lamiaceae (**Walker et al., 2004**). La hauteur de ces plantes varie de 20 à 50 cm. Ce sont des plantes herbacées, avec des bourgeons d'hivernage au niveau du sol et protégé par la literie ou de la neige et sont équipées d'un axe droit de fleur, et souvent dépourvue de feuilles (**Malerba et al., 2001**). La floraison commence en avril et se termine vers la fin du mois de mai (**Navarro, 1997**).



Figure 7 : *Salvia verbenaca* L. (Région d'Ouled rabah, 2019).

III.2.2. Classification

La classification systématique de *Salvia verbenaca* L. d'après (Quezel et Santa, 1963) est la suivante :

Règne *Plantae*
 Embranchement *Spermatophyta*
 Sous-embranchement *Magnoliophyta*
 Classe *Magnoliopsida*
 Sous-classe *Asteridae*
 Ordre *Lamiales*
 Famille :..... *Lamiaceae*
 Genre *Salvia*
 Espèce *Salvia verbenaca* L.

Nom commun : Sauge à feuilles de verveine, sauge fausse verveine.

En arabe : Zegtoun , Koussa, Meryiamia, Khyata (Quezel et Santa, 1963)

III.2.3. Propriétés thérapeutiques

Le *Salvia verbenaca* L. est cultivée dans plusieurs pays principalement pour produire des feuilles séchées comme matière première dans la phytothérapie (Baser, 2000). Les feuilles et les fleurs sont utilisées pour résoudre les cas de calculs rénaux, en mâchant les feuilles fraîches ou en décoction (Canzoneri et al., 2011). La plante est également utilisée comme un médicaments dans le monde entier (Cardile et al., 2009) pour ses activités bactéricide, antidiabétique (Kim et al., 2007) et antioxydante (Canzoneri et al., 2011). Elle est utilisée aussi comme des gouttes pour les yeux, car les fruits ou les graines lorsqu'ils sont appliqués sur les yeux éliminent les impuretés ou les particules de poussière (Formisano et al., 2007). Ces métabolites secondaires sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour leurs activités thérapeutiques et en industrie agro-alimentaire en

tant que conservateur et additif alimentaires. Ces composés constituent le mécanisme de défense de la plante contre prédation de divers microorganismes, insectes et herbivores (**Croteau et al., 2000**). *S. verbenaca* L. présente un large éventail de propriétés biologiques viricides, cytotoxiques, antimutagènes et antifongiques (**Russo et al., 2013**). Ce genre produit de nombreux métabolites secondaires utiles, notamment des terpènes et des composés phénoliques qui se trouvent au centre de la pharmacopée de nombreux pays (**Hedge, 1972**).

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

Deux plantes médicinales à savoir: *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. ont fait l'objet de notre étude. Leur sélection s'est faite sur la base de leur très grande présence et très large utilisation traditionnelle dans les régions méditerranéennes (**Djahra et al., 2013**). La récolte de ces plantes a été effectuée au niveau de la Wilaya de Jijel (**Figure 6 et 7**), en mois d'Avril dans la région d'Ouled rabah (**Tableau IV**).

Tableau IV: Les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation

Nom botanique	Famille	La partie utilisée	Région de récolte	Période de récolte
<i>Marrubium vulgare</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	Les Feuilles	Ouled rabah	Avril 2019
<i>Salvia verbenaca</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	Les Feuilles	Ouled rabah	Avril 2019

I.2. Préparation des extraits

I.2.1. Séchage

Après avoir été bien nettoyés et débarrassés des particules et de la poussière, les feuilles des deux plantes étudiées ont été séchées à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre, et à température ambiante pendant une semaine, puis ont été mises dans une étuve de type Memmert, à une température de 40°C pendant 4 jours.

Le séchage a une importance majeure dans 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**).

I.2.2. Broyage

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type (GRINDOMIX) permettant d'obtenir des poudres très fines et homogène. 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 (**Diallo, 2004**).

I.2.3. Tamisage

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 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**).

I.2.4. Extraction des extraits bruts

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques. Le méthanol s'avère le meilleur solvant, car il permet d'obtenir un meilleur rendement d'extraction et il possède l'avantage d'être plus facile à éliminer (**Ribéreau-Gayon, 1968; Owen et Johns, 1999**). D'après **Owen et Johns, (1999)** le procédé général d'extraction a été réalisé selon les étapes suivantes:

I.2.4.1. Macération

Cinquante (50) g de la poudre de chacune des deux échantillons ont été ajustés à 500ml avec du méthanol 80%. Les mélanges ainsi obtenus sont soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur magnétique de type Heidolph (**Figure 8**) pendant 48 h à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydations. L'agitation permet le maintien des particules en suspension et l'homogénéité des milieux.



Figure 8: Macération sous agitation magnétique.

I.2.4.2. Filtration et décantation

Après macération, les deux solutions des deux plantes ont été filtrées à l'aide de papier Whatman N°3 (**Figure 9**). Chaque filtrat obtenu a été ajusté avec 200ml d'hexane. Les mélanges ont été par la suite décantés (**Figure 10**) pour recueillir les phases méthanoliques.



Figure 9: Filtration à l'aide du papier Whatman N°3.



Figure 10: Délipidation et décantation des extraits.

I.2.4.3. Evaporation

La phase méthanolique de chaque échantillon a été évaporée à l'aide d'un rotavapeur de type Rotavapor ® 300 (**Figure 11**) puis, a été séchée à l'étuve à 40°C jusqu'à ce que le méthanol soit totalement évaporé. Chaque extrait a par la suite été repris avec la concentration désirée.

Les extraits bruts végétaux ainsi constitués sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation pour les différents tests. Le schéma général d'extraction est résumé dans la (**Annexe 3**).



Figure 11 : Evaporation des extraits brut

I.2.5. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits bruts 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 :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_s}{P_p} \times 100$$

Où :

P_s : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

P_p : Poids de la poudre en gramme (g)

I.2.6. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. a été réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu (Heilerova *et al.*, 2003). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait (Ali-Rachedi *et al.*, 2018).

Zéro virgule deux (0,2) ml de l'extrait brut dilué (250µg/ml) ont été additionnés avec 1,5ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10). Le mélange est laissé reposer 5 minutes à l'obscurité. Par la suite, Un millilitre et demi (1,5ml) 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 contre un blanc sans extrait par l'utilisation d'un spectrophotomètre de type (Spectro® 50 plus).

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = a X + b$) réalisée par un extrait étalon, l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon (Annexe 1). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait brute (mg EAG/g EB). Le mode opératoire pour le dosage des polyphénols totaux est schématisé dans la (Annexe 4)

I.2.7. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur des flavonoïdes est couramment basée sur l'utilisation du chlorure d'aluminium (AlCl_3) (Huang *et al.*, 2004). Un millilitre et demi (1,5ml) de chaque extrait (2

mg/ml) est additionné à un volume d'une solution d' AlCl_3 (2%). Les différentes solutions ont été laissées au repos, à l'abri de la lumière pendant 30 min, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($Y = aX + b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons ont servis pour la quantification des flavonoïdes (**Annexe 2**). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait brute (mg EQ/g EB).

Le protocole de dosage des flavonoïdes est présenté dans la (**Annexe 5**).

I.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

I. 3. 1. Etude *in vivo*

I.3.1.1. Entretien des animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 28 souris femelles de souche *Swiss Albinos* provenant de l'institut Pasteur d'Alger (Algérie), dont le poids initial varie entre 21 et 29g. 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 d'une semaine après leur réception avant d'être utilisés.

I.3.1.2. Répartition et traitement préventif des animaux

Les souris ont été mises à jeun 16 heures avant l'essai (**Yougbaré-Ziébro et al., 2015**) et sont réparties en 7 lots de quatre souris comme suit :

Le lot 1 : reçoit une solution de l'eau physiologique (0,9%), par gavage gastrique 30min avant de l'injection la carragénine (50 μ l) à 1 % sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite;

Le lot 2 : reçoit le diclofénac à 50 mg/kg (**Mansour et al., 2014**), par gavage gastrique 30min avant de l'injection de la carragénine (50 μ l) à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite;

Le lot 3 : reçoit l'indométacine à 10mg/kg (**Su et al., 2011**), par gavage gastrique 30min avant de l'injection de la carragénine (50 μ l) à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite;

Les lots 4 et 5 : reçoivent respectivement 250mg/kg, 500mg/kg d'extrait brut de la plante *Marrubium vulgare* L. par gavage gastrique 30min avant de l'injection de la carragénine (50 μ l) à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite;

Les lots 6 et 7 : reçoivent respectivement 250mg/kg, 500mg/kg d'extrait brut de la plante *Salvia verbenaca* L. par gavage gastrique 30min avant de l'injection de la carragénine (50µl) à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.

I.3.1.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts obtenus à partir des feuilles de *Marrubium vulgare* L et, *Salvia verbenaca* L, sur l'œdème inflammatoire aiguë de la patte arrière droite de souris induit par la carragénine à 1% (Winter *et al.*, 1962). L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par un pied à coulisse (Digital Caliper) ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire et de comparer cette activité à celle des anti-inflammatoires de référence, le diclofénac et l'indométacine chaque 30 min pendant 4 heures (Figures 12,13).



Figure 12 : Administration orale des extraits ou des standards (a), Injection sous plantaire de la carragénine d'administration (b)

I.3.1.4. 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 1, 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 ou les standards.

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 .



Patte avant l'injection



Patte après l'injection



Mesure le diamètre de la patte

Figure 13: Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.

I.3.2. Etude *in vitro*

I.3.2.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits méthanoliques des deux plantes étudiées a été évaluée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines décrite par (Lavanya *et al.*, 2010) avec quelques modifications (Annexe 6) :

- La solution à tester (0,5ml) est constituée de 0,45ml d'albumine de sérum bovine (BSA) (5%) et de 0,05ml de solution à examiner (100µg/ml).
- La solution de contrôle d'essai (0,5ml) est constituée de 0,45ml du BSA (5%) et de 0,05ml d'eau distillée.
- La solution standard (0,5ml) est constituée de 0,45ml du BSA (5%) et 0,05ml d'indométacine (100µg/ml).

Toutes les solutions ci-dessus ont été ajustées à pH 6,3 en utilisant du HCl 1N. Les échantillons ont été incubés à 37° C pendant 20minutes et la température a été augmentée pour incuber les échantillons à 57°C pendant 3 minutes. Après refroidissement, 2,5ml de tampon

phosphate ajusté à pH 6,3 ont été ajoutés aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de type (Spectro® 50 plus) à 416nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = (A \text{ du contrôle} - A \text{ de la solution test}) \times 100 / (A \text{ du contrôle})$$

I.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

➤ Préparation de la suspension de globules rouges

Stabilisation de la membrane des globules rouges a été réalisée selon le procédé de (Kosala *et al.*, 2018) avec des légères modifications.

Le sang a été prélevé sur un volontaire humain en bonne santé qui n'a pas pris d'AINS pendant 2 semaines avant l'expérience. Le sang recueilli a été mélangé à un volume égal de solution d'Alsever stérilisée (2% de glucose, 0,8% de citrate de sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% de chlorure de sodium dans de l'eau). Le sang a été centrifugé à 3000tr/min pendant 10min et le caillot globulaire a été lavé trois fois avec de l'isosaline (0,85%, pH 7,2). Le volume du sang a été mesuré et reconstitué sous forme de suspension à 10% v/v avec de l'isosaline (Annexe 7).

➤ Hémolysé induite par des fluides hypotoniques et la chaleur

Le mélange de dosage contenant 1 ml de tampon phosphate (pH 7,4, 0,15M), 2ml d'hyposaline (0,42%), 0,5ml de la suspension de globules rouges (10%) avec 0,5ml d'extrait de deux plantes ou du médicament standard indométacine à différentes concentrations (25, 50, 100, 250, 500µg/ml) et le contrôle (eau distillée au lieu de l'hyposaline pour produire une hémolysé à 100%) ont été incubés à 56°C pendant 30min au bain-marie puis centrifugés à 3000tr/min pendant 10min. Le surnageant a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre de type (Spectro® 50 plus) à une longueur d'onde de 560nm (Annexe 8). Le pourcentage de protection contre la stabilité de la membrane a été calculé à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Le pourcentage de stabilisation (\%)} = (A \text{ du contrôle} - A \text{ de la solution test}) \times 100 / (A \text{ du contrôle})$$

I.4. Evaluation statistique

Les résultats des différentes évaluations effectuées *in vivo* et *in vitro* 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 Excel 2010. 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 (***)

II. Résultats et interprétations

II. Résultats et interprétations

II.1. Les rendements des extraits bruts

D'après les chiffres obtenus, on constate que le rendement varie d'une plante à une autre. *Marrubium vulgare* L. a montré un meilleur rendement, soit 17.97% contre 14.52% pour *Salvia verbenaca* L. (Figure 14).

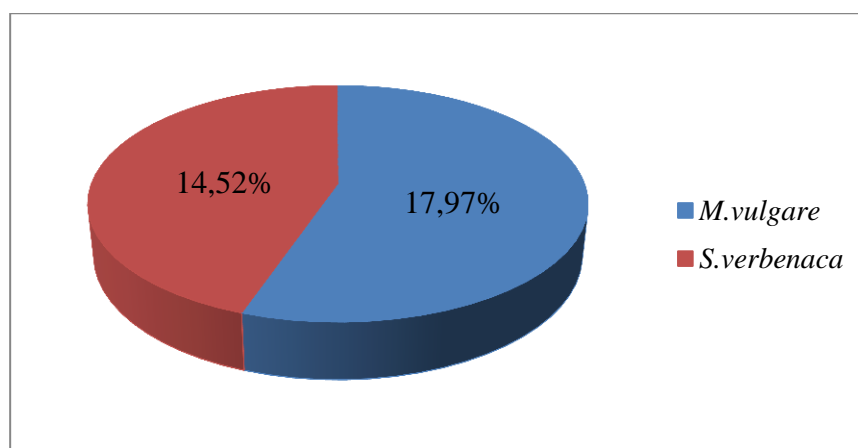


Figure 14 : Rendements des extraits méthanoliques des deux plantes en pourcentage.

II.2. Teneurs en composés phénoliques des deux extraits

Les quantités des composés phénoliques ont été rapportées en mg équivalent de l'étalon utilisé par gramme d'extrait brut et sont déterminées par l'équation de type : $Y = a X + b$.

Les résultats obtenus pour évaluer la teneur en polyphénols et en flavonoïde sont présentés dans les Figures 15 et 16.

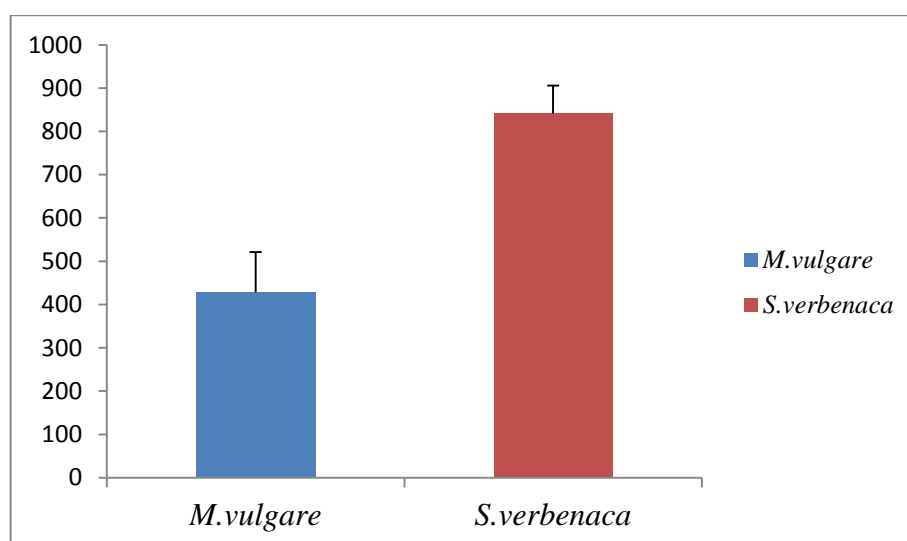


Figure15 : Teneur en polyphénols des extraits des deux plantes.

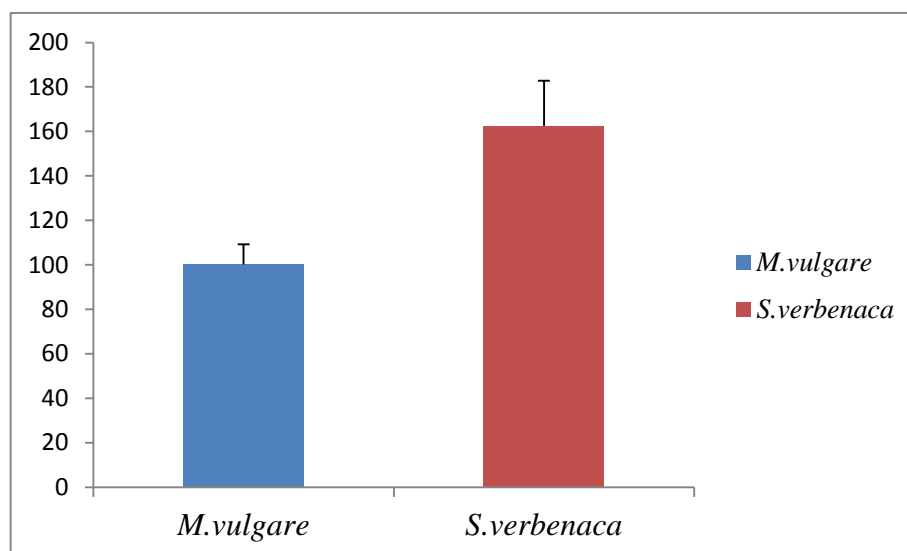


Figure16 : Teneur en flavonoïdes des extraits des deux plantes.

La **figure 15** montre que l'extrait brut du *Salvia verbeneca* L.; possède la plus haute teneur en polyphénols ($841,22 \pm 64,77$ mg EAG/g EB) par rapport à *Marrubium vulgare* L. qui a une teneur de ($427,83 \pm 93,5$ mg EAG/g EB).

En ce qui concerne la teneur en flavonoïdes, les résultats obtenus montrent que *Salvia verbeneca* L. dispose aussi de la teneur la plus élevée ($162,47 \pm 20,31$ mg EQ/g EB s) par rapport à *Marrubium vulgare* L. ($100,19 \pm 9,09$ mg EQ/g EB s) (**Figure 16**).

II.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

II.3.1. Etude *in vivo*

II.3.1.1. Mesure de l'œdème de patte arrière droite des souris

Les résultats de mesure de l'œdème des pattes des souris traitées ou non par les extraits brut en fonction du temps sont représentés graphiquement par les **figures 17 et 18**.

L'injection sous plantaire de la carragénine au contrôle qui a reçu l'eau physiologique à 0.9%, entraîne une augmentation progressive du volume moyen de l'œdème à partir de la première demie heure de l'expérimentation et qui atteint sa valeur maximale à 120min ($3,31 \pm 0$ mm). Une légère diminution caractérise les deux heures qui suivaient : le diamètre des pattes des souris contrôles commence à se réduire progressivement.

L'administration orale de médicament de référence l'Indométacine à la dose de 10mg/kg réduit de façon non significative ($p > 0,05$) l'augmentation du volume de la patte à 30min. Alors que l'administration de Diclofénac à la dose 50mg/kg induit une régression hautement significative ($0,05 > p > 0,01$) du volume de la patte à 30 min. A partir de 60 min, une diminution hautement

significative ($0,05 > p > 0,001$) du volume des œdèmes a été constatée pour les deux médicaments de référence après l'injection de la carragénine.

L'extrait de *M. vulgare* L. administrée par voie orale aux doses 250 et 500mg/kg a montré une activité anti-inflammatoire prometteuse en réduisant le volume d'œdème de la patte de souris induite par la carragénine de façon hautement significative après 30min. Une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) du volume de l'œdème a été observée jusqu'à 240min des deux doses par rapport au contrôle.

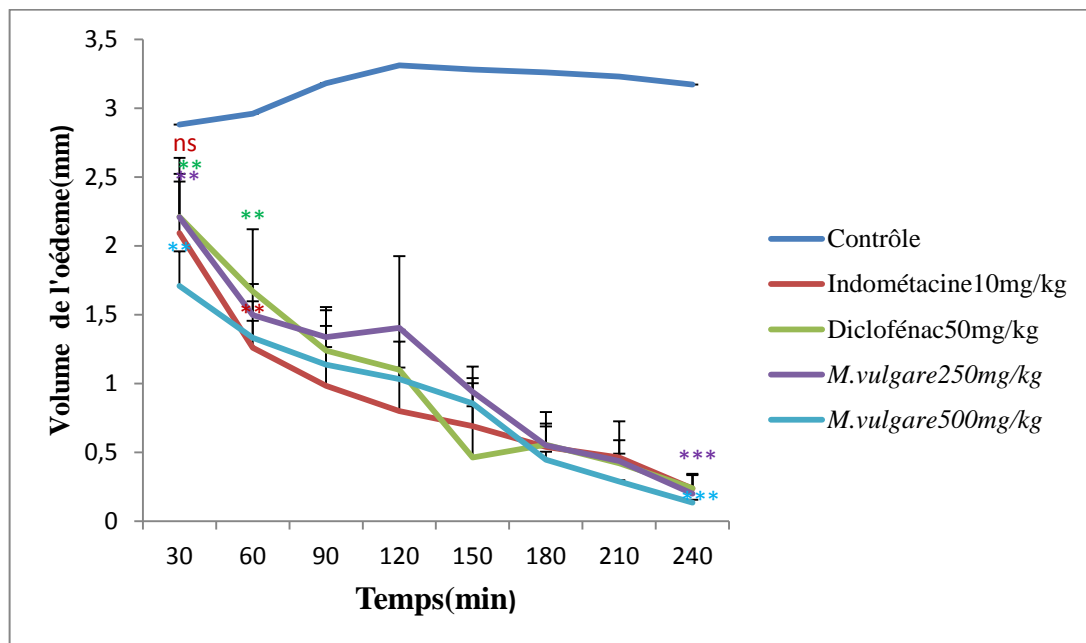


Figure 17 : Effet de l'extrait brut de *M. vulgare* L. et des médicaments de référence sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine

Le volume de l'œdème a diminué significativement ($p < 0,05$) chez le lot traité par l'extrait de *S. verbenaca* L. à 250mg/kg, qui passe d'une moyenne de $2,88 \pm 0$ mm chez le contrôle à $1,22 \pm 1,42$ mm chez le lot traité après 30min du traitement. Par ailleurs, ce volume passe d'une valeur de $3,17 \pm 0$ mm chez le contrôle contre $0,17 \pm 0,15$ mm après 240min du traitement qui traduit par une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) de volume d'œdème. Toutefois, la dose de 500mg/kg provoque une diminution hautement significative ($0,05 > p > 0,01$) du diamètre des pattes des souris par rapport au groupe témoin après 30min du traitement. Une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du diamètre des pattes des souris par rapport au groupe témoin a été constatée à partir de 60min et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation (**Figure 18**).

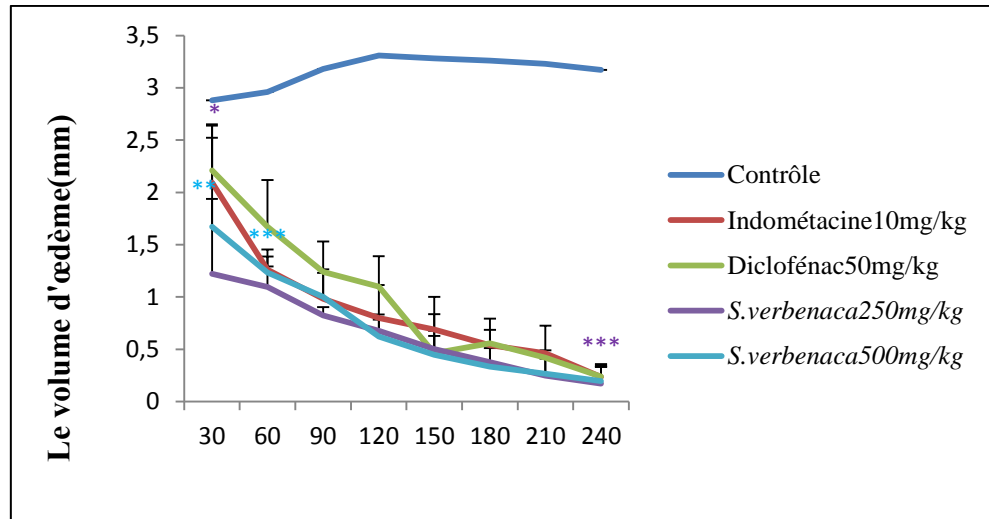


Figure 18 : Effet de l'extrait brut de *S. Verbenaca* L. et des médicaments de référence sur l'œdème inflammatoire de la patte arrière droite de la souris induit par la carragénine.

II.3.1.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts et deux anti-inflammatoires de référence

Les pourcentages d'inhibition de l'œdème dans un intervalle de temps allant de 30min à 240min sont illustrés dans les **figures 19 et 20**.

Les groupes standards traités par l'Indométacine 10mg/kg et le Diclofénac 50mg/kg présentent une inhibition importante de l'œdème de la patte de souris dès la première demie heure de l'expérimentation. Cette inhibition tend à se stabiliser après la deuxième heure avec une activité maximale à la quatrième heure expérimentale. L'effet de l'Indométacine était meilleur que celui du Diclofénac.

L'administration orale de l'extrait brut des feuilles de *M. vulgare* L. présente une activité inhibitrice dose dépendante de l'œdème de la patte des souris. Cette activité augmente progressivement jusqu'à la quatrième heure de l'expérimentation, à ce stade sa valeur est 2 fois plus élevée que celle notée à la première demie heure. Toutefois, l'extrait de *M. vulgare* L. présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé de l'œdème des pattes des souris pendant toute la période de l'expérimentation, par rapport aux deux groupes de référence.

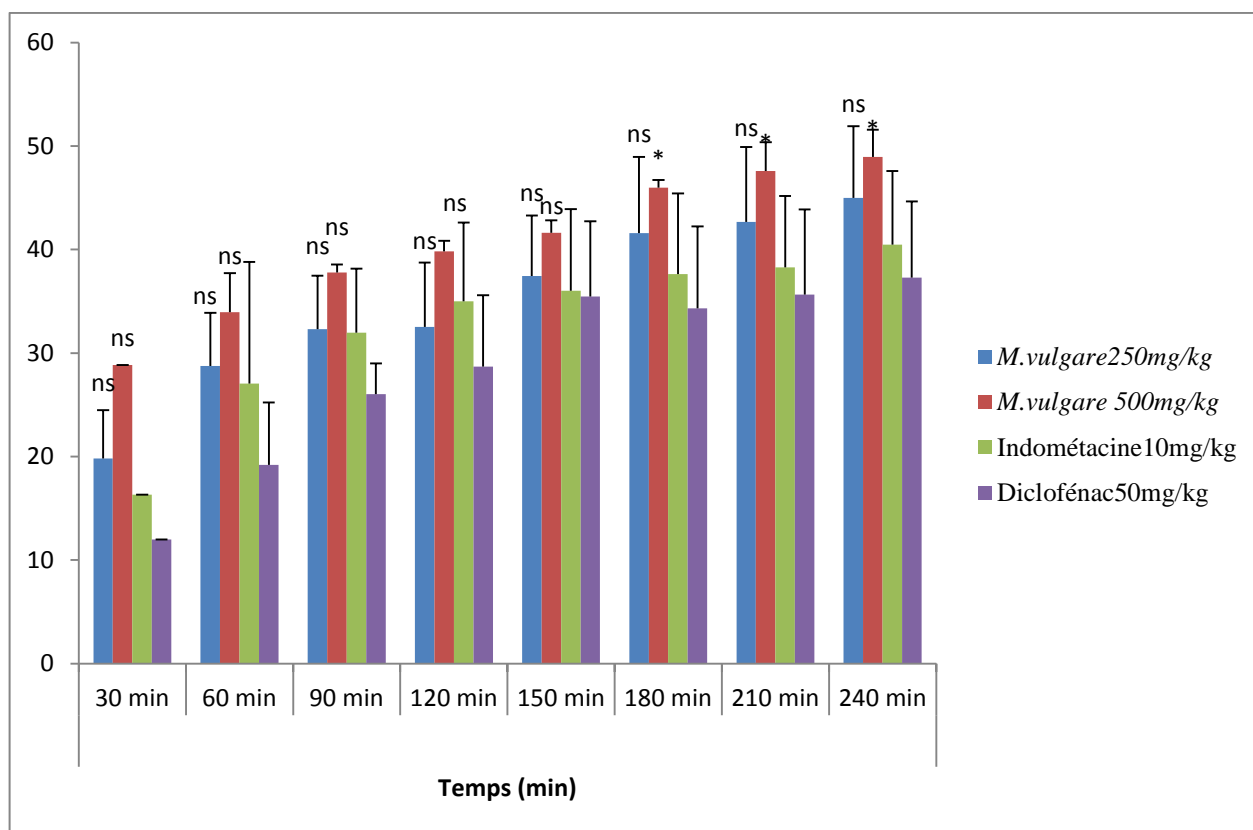


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts de *M. vulgare* L. et des standards.

En ce qui concerne *S. verbenaca* L. ; l'effet inhibiteur de l'extrait des feuilles administré par voie orale se manifeste dès la première demie heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume de la patte dose dépendant. Cette activité augmente progressivement puis tend à se stabiliser après la troisième heure de l'expérimentation. Toutefois, l'extrait de *S. verbenaca* L., présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé de l'œdème des pattes des souris pendant toute la période de l'expérimentation, par rapport aux deux groupes de référence.

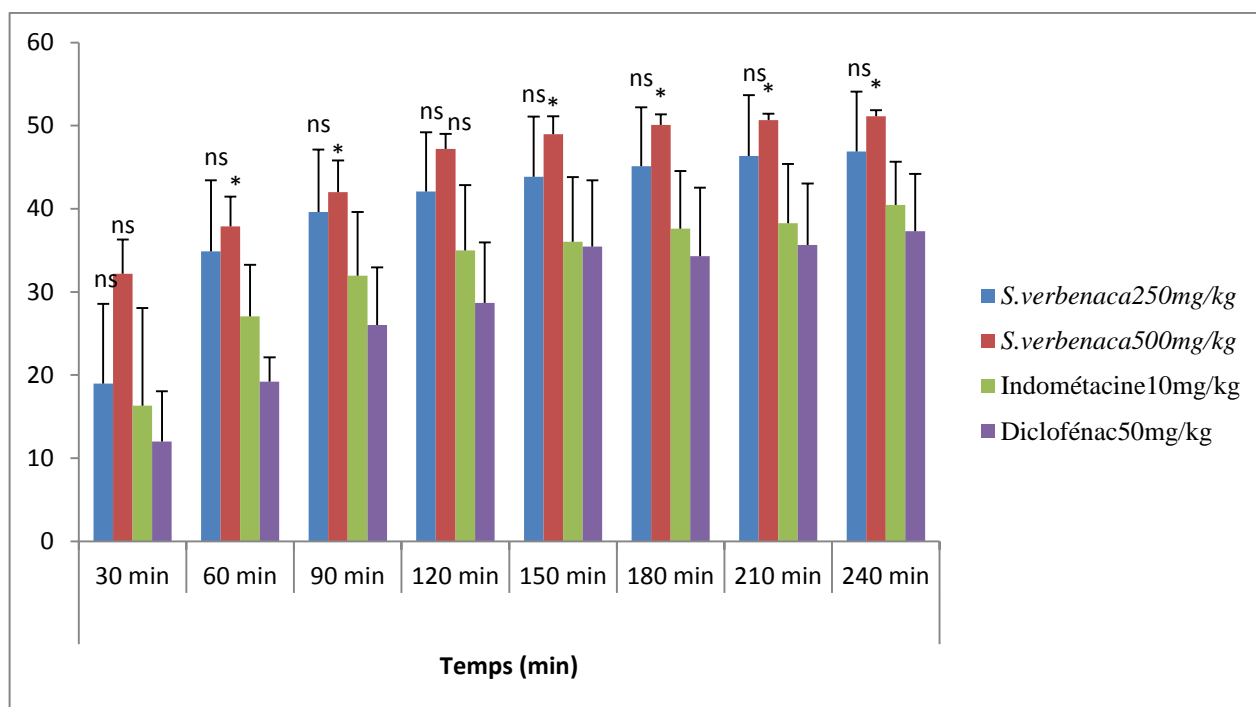


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème après un traitement préventif avec les extraits bruts de *S. Verbenaca* L. et des standards.

II.3.2. Evaluation *in vitro*

II.3.2.1. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des plantes étudiées, nous avons opté pour le modèle anti-dénaturation de l'albumine. Les résultats de l'effet protecteur des extraits contre la dénaturation protéique causée par la chaleur sont représentés dans la **figure 21**.

Les résultats montrent que les deux extraits testés (*Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L.) à la concentration de 100µg/ml inhibent la dénaturation du BSA avec des taux d'inhibition élevés de l'ordre de $45,36 \pm 18,17\%$ et $53,87 \pm 13,84\%$ respectivement. Le plus puissant effet inhibiteur a été obtenu avec l'extrait brut des feuilles de *S. verbenaca* L. Cette inhibition est statistiquement similaire à celle de l'anti-inflammatoire de référence (l'Indométacine) avec la même concentration qui présentait un pourcentage d'inhibition de $55,36 \pm 4,49\%$. L'analyse statistique de ce résultat a révélé qu'aucune différence significative n'est notée entre le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA des deux plantes ($p > 0,05$).

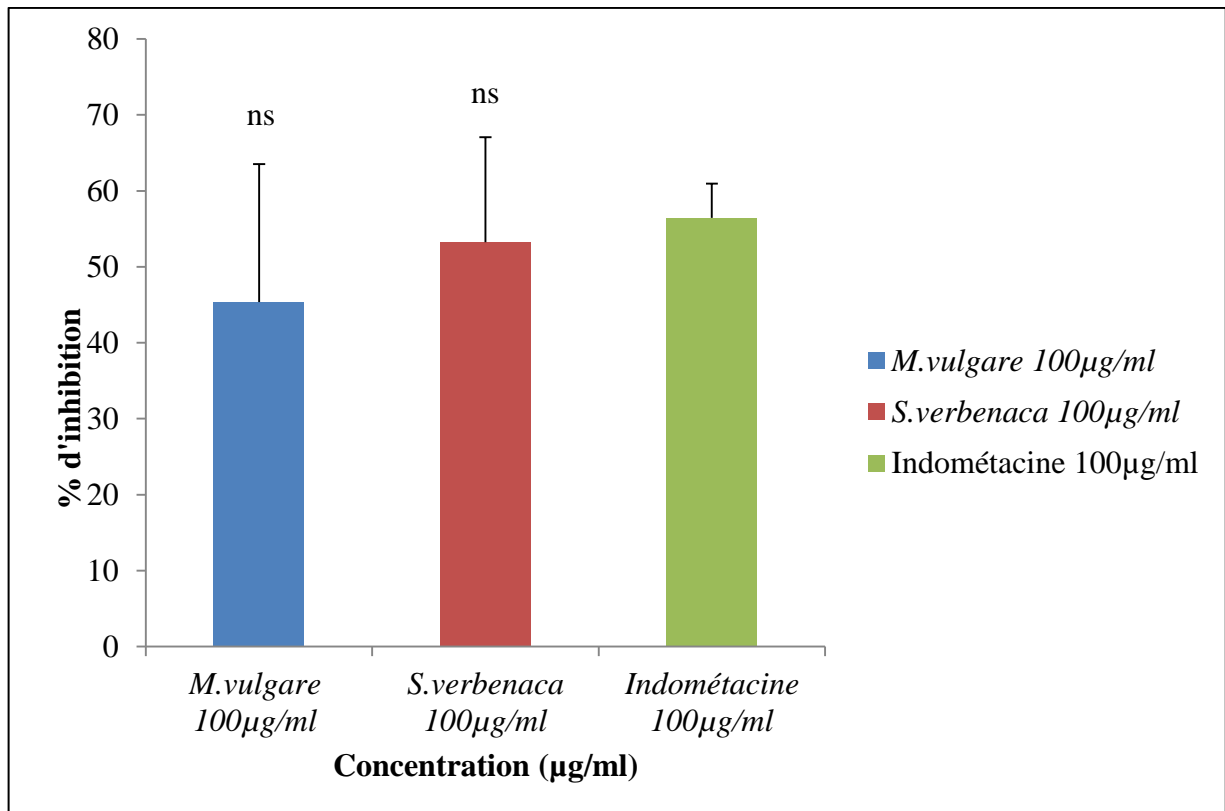


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des deux extraits comparé au standard.

II.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits brut des feuilles de *M. vulgare* L. et *S. verbenaca* L. un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains, traitée avec une solution hypotonique associée à une température élevée, avec les extraits ou les molécules de références (l'indométacine comme anti-inflammatoire). Les résultats sont représentés dans **la figure 22**.

D'après les résultats, l'extrait brut des feuilles de *M. vulgare* L. présente une réduction de l'hémolyse des globules rouges, avec un effet dose indépendant.

L'extrait de *S. verbenaca* L. testé a assuré aux globules rouges humains une protection contre l'hémolyse hypotonique qui diminue en fonction des concentrations utilisées. L'extrait méthanolique des feuilles de cette plante a montré une activité maximale à faible concentration (25 µg/ml) avec un pourcentage de stabilisation $47,78 \pm 3,93\%$.

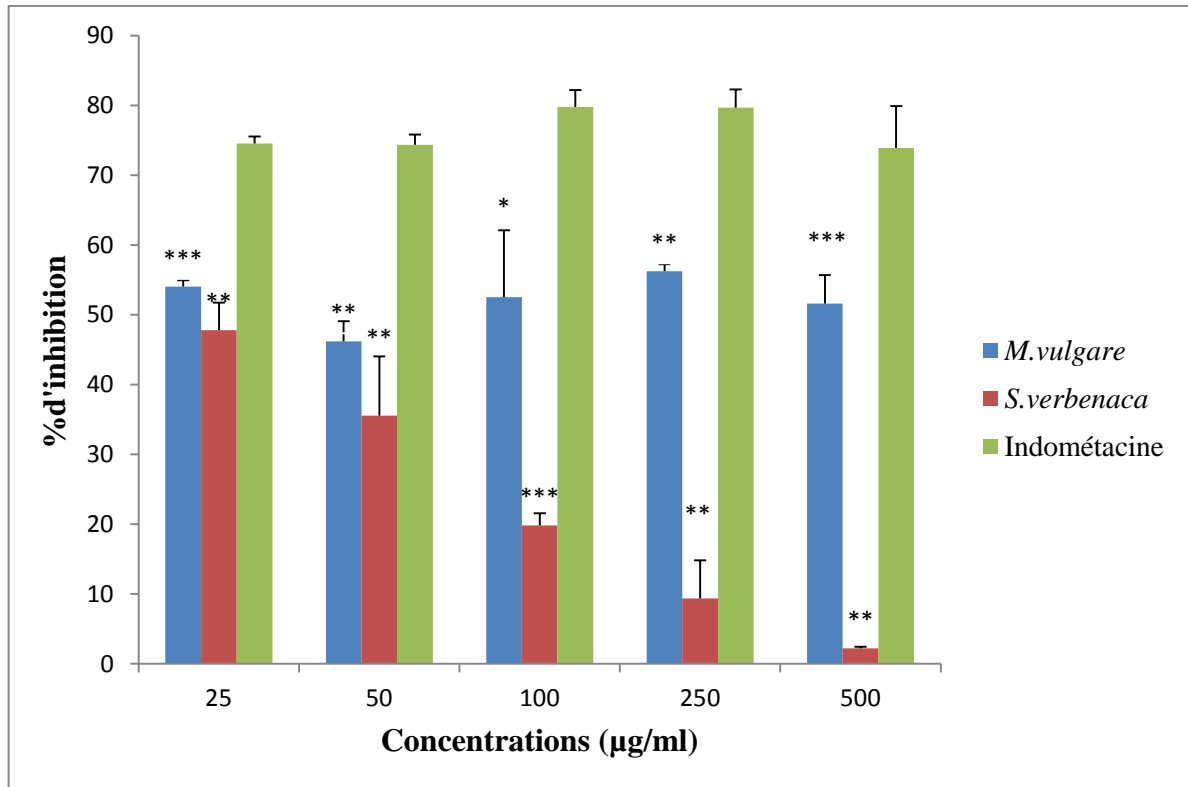


Figure 22: Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par l'extrait brut des feuilles des deux plantes et l'Indométacine à différentes concentrations.

III. Discussion

III. Discussion

Le présent travail est basé sur le dosage et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de deux plantes médicinales *Marrubium vulgare* L et *Salvia verbenaca* L. Ces deux plantes sont très utilisées dans la région de Jijel en médecine traditionnelle. Pour valoriser cette utilisation traditionnelle nous avons effectué l'extraction des polyphénols à partir des poudres des feuilles de chacune des deux plantes par macération dans le méthanol.

L'extraction est la principale étape de la récupération et de l'isolation de composés phytochimiques à partir de matières végétales. L'efficacité de l'extraction dépend de la nature chimique des composés phytochimiques, de la méthode d'extraction utilisée, de la taille des particules dans l'échantillon, du solvant utilisé ainsi que de la présence de substances interférentes (**Do et al., 2014**). Les solvants polaires sont fréquemment utilisés pour récupérer des polyphénols à partir de matrices végétales. Les solvants les plus appropriés sont les mélanges aqueux contenant de l'éthanol, du méthanol, de l'acétone et de l'acétate d'éthyle (**Dai et Mumper, 2010**). L'extraction idéale de ces composés est faite à partir de méthanol (**Nacz et Shahidi, 2004**), car il permet d'obtenir un meilleur rendement d'extraction et il possède l'avantage d'être plus facile à éliminer (**Ribéreau-Gayon, 1968 ; Owen et Johns, 1999**).

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol des plantes étudiées, nous permis de déterminer les rendements de ces extraits secs. D'après les résultats obtenus dans cette étude, le rendement en extrait sec varie d'une plante à une autre; *M. vulgare* L. a enregistré le rendement le plus élevé (17.97%) suivi par *S. verbenaca* L. (14.52%). D'après la bibliographie, les rendements varient en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant. (**Bruneton, 1998**),

L'extrait brut de *M. vulgare* L. a fait l'objet de quelques études, dont le rendement a été inférieure au nôtre notamment celle de **Ghedadba et al., (2014)** qui ont pu en déterminer un rendement de 10,9% de la région de Touffana (Batna). Dans une étude entreprise par **Kanyonga et al., (2011)**, un rendement de 39,2% de l'extrait brut méthanolique a été obtenu à partir des feuilles de la plante *Salvia verbenaca* L. C'est un pourcentage nettement supérieur à celui obtenu dans notre cas (14.52%) pour l'extrait brut d'une même plante.

Les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée et l'avènement de la chimie moderne. Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possédant des vertus médicinales.

La concentration en composés phénoliques dans les extraits a été déterminée par spectrométrie à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu, une méthode largement utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux (**Anesini et al., 2008**). Ce test repose sur le transfert d'électrons en milieu alcalin des composés phénoliques à un réactif acide phosphomolybdique/phosphotungstique pour former des complexes de couleur bleue déterminés par spectrophotométrie à 750 nm (**Tripathi et al., 2016**).

D'après les résultats obtenus, la quantité des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *M. vulgare* L. est importante ($427,83 \pm 93,5$ mg EAG/g EB et $100,19 \pm 9,09$ mg EQ/g EB respectivement). Ces résultats sont nettement plus élevés en comparaison avec ceux trouvés par **Ghedadba et al., (2014)** qui étaient de $195 \pm 0,36$ mg EAG/g EB et $23,86 \pm 0,36$ mg EQ/g EB pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement.

En ce qui concerne l'analyse quantitative de l'extrait brut de *S. verbenaca* L., les taux des polyphénols et flavonoïdes étaient de $841,22 \pm 64,75$ mg EAG/g EB et $162,47 \pm 20,31$ mg EQC/g EB respectivement. Ces résultats sont nettement supérieurs de ceux obtenus par **Ferid et al., (2013)**, où ils ont révélé une quantité de polyphénols et flavonoïdes de 2,33 mg EAG/g EB et 0,436 mg EQC/g EB respectivement dans l'extrait brut de *Salvia* récoltée en Tunisie. Une étude faite sur les extraits brut de *Salvia* de la Grèce, révèle des quantités importantes en polyphénols 191 mg EAG/g EB (**Stagos et al., 2012**). Par rapport à nos résultats, *S. verbenaca* L. cultivé en Égypte a mis en évidence une faible teneur en polyphénols ($4,27$ mg d'EAG / g EB) (**Khalil et al., 2007**).

Il faut noter que la variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement aux différentes conditions de croissance (**Lamien-Meda et al., 2010**), et aux génotypes, qui influencent l'accumulation de composés phénoliques en synthétisant différentes quantités et/ou types de composés phénoliques (**Shahidi et Naczka, 1995**).

L'œdème de la patte des souris induit par l'injection de la carragénine à 1% comme molécule pro-inflammatoire est un modèle largement utilisé dans l'inflammation aigüe pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de nouvelles substances (**Winter et al., 1962**).

Dans la présente étude, l'utilisation de ce modèle a permis d'évaluer l'effet anti-inflammatoire préventif des extraits brut des feuilles de *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. à deux concentrations (250 mg/kg, 500 mg/kg). Le volume d'augmentation de l'œdème et le pourcentage d'inhibition de l'œdème sont les indicateurs de l'activité anti-inflammatoire.

Au cours du suivi des souris témoins (contrôle) et des souris traitées pendant les quatre heures après l'injection de la carragénine, nous avons noté une augmentation du volume de la patte

des souris dans le lot témoins, alors qu'il y a une diminution de volume chez les lots traités. L'évaluation du pourcentage d'inhibition a montré que les extraits bruts des feuilles des deux plantes étudiées possèdent une activité anti-inflammatoire remarquable.

Suite à ces données, nous pouvons conclure que les plantes médicinales étudiées présentent un pouvoir non négligeable sur l'inflammation.

En effet, l'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire (Loe *et al.*, 2018). Cette inflammation est typiquement liée à l'activation de la cyclo-oxygénase (Néné-bi *et al.*, 2015). Cette réponse inflammatoire est biphasique dont la phase première, qui dure environ 1 h est due à la libération de l'histamine, de la sérotonine et de la bradykinine. La seconde phase est due à la libération des prostaglandines et des enzymes lysosomiales (2 à 4 h) (Loe *et al.*, 2018). Ces médiateurs augmentent la perméabilité des capillaires de la région entraînant la formation d'un exsudat qui est la cause de l'œdème localisé. Ce dernier comprime les nerfs et donne la sensation de douleur (Loe *et al.*, 2018).

L'indométacine et le Diclofénac, utilisés comme médicaments de références, sont des anti-inflammatoires non stéroïdien. Ils réduisent l'inflammation, en empêchant la synthèse des prostaglandines par inhibition des cyclo-oxygénases (COX 1 et COX 2) (Han *et al.*, 2007 ; Bolanle, 2012) .

La richesse des extraits de *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. en composés phénoliques notamment l'acide gallique et les flavonoïdes à savoir la quercétine pourrait contribuer à l'effet anti-inflammatoire prouvé dans cette étude.

Plusieurs études confirment l'activité anti-inflammatoire des *M. vulgare* L. et *S. verbenaca* L. Selon Fathiazad *et al.*, (2017), l'extrait brut des feuillettes de *M. vulgare* L. était capable d'atténuer les phases précoce et retardée de l'inflammation induite par la carragénine. Il est lié à l'inhibition de la libération et/ou de la synthèse de cyclooxygénase et/ou de lipoxygénase. Dans une autre étude l'extrait brut de *M. vulgare* L. et leur activité anti-inflammatoire a été rapportée sur la biosynthèse de prostaglandines catalysée par la cyclooxygénase. Donc les polyphénols de *M. vulgare* L. ont un potentiel inhibiteur de la COX (Lodhi *et al.*, 2017).

Cependant, des études de Kempuraj *et al.*, (2005) montrent que les flavonoïdes contenus dans les extraits des feuilles de *S. verbenaca* L. peuvent affecter le métabolisme du Ca^{2+} Ils suppriment l'élévation intracellulaire des ions Ca^{2+} de manière dose-dépendante, ainsi que la libération de molécules pro-inflammatoires telles que le $TNF\alpha$. Il est probable qu'ils exercent leurs

effets anti-inflammatoires en inhibant la synthèse ou la production des molécules inflammatoires comme les prostaglandines, l'histamine et les kinines (**Nandal et al., 2009**). En effet, ils exercent une forte inhibition sur la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (**Kim et al., 1998**).

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été évaluée selon deux tests : la dénaturation d'albumine et la stabilisation de la membrane des érythrocytes.

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application d'un stress ou d'un composé externe, tel qu'un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou de la chaleur. La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines est une cause d'inflammation bien documentée (**Leelaprakash et Dass, 2011**).

Dans le cadre de l'étude du mécanisme de l'activité anti-inflammatoire, l'aptitude des extraits de *M. vulgare* L. et *S. verbenaca* L. à inhiber la dénaturation des protéines a été étudié. Les résultats montrent que ces extraits ont été efficaces pour inhiber la dénaturation de l'albumine induite par la chaleur avec des pourcentages d'inhibition de $45,36 \pm 18,17\%$ et $53,22 \pm 13,84\%$ successivement. L'activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes dans les extraits par contre ; l'indométacine qui inhibe non seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais également la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011**).

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale (**Anosike et al., 2012**) et sa stabilisation implique que les extraits pourraient bien stabiliser les membranes lysosomales. La stabilisation des lysosomes est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés, tels que les enzymes bactériennes et les protéases, ce qui provoque une inflammation supplémentaire des tissus et des dommages lors de la libération de cellules supplémentaires. Les enzymes lysosomales libérées au cours de l'inflammation produisent divers troubles. L'activité extra-cellulaire de ces enzymes serait liée à une inflammation aiguë ou chronique. Les médicaments non stéroïdiens (l'indométacine) agissent soit en inhibant ces enzymes lysosomales, soit en stabilisant la membrane lysosomale (**Vadivu et Lakshmi, 2008**).

Aussi les érythrocytes sont considérés comme des cibles majeures pour l'attaque des radicaux libres en raison de la présence à la fois d'une concentration élevée en acides gras

polyinsaturés sur la membrane et du transport de l'oxygène associé aux molécules d'hémoglobine rédox actives, qui sont de puissants promoteurs des espèces réactives de l'oxygène (**Márcia Carvalho *et al.*, 2010**). Selon **Namoune *et al.*, (2018)** les polyphénols sont capables de protéger les érythrocytes au stress actif ou d'accroître leur résistance aux dommages causés par les oxydants .

Conclusion

Conclusion et perspectives

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies chroniques et aigues comme l'inflammation. L'objectif de notre travail était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts des feuilles de *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. contre l'inflammation.

L'extraction par macération dans un mélange méthanolique des feuilles des deux plantes nous a permis de récupérer deux extraits avec des rendements variables. Le taux le plus élevé ayant été enregistré avec l'extrait de feuille de *M. vulgare* L. avec 17,97%. La quantification des composés phénoliques dans ces extraits révèle la présence de polyphénols totaux et de flavonoïdes.

L'activité anti-inflammatoire *in vivo* de ces extraits a été évaluée chez des souris en utilisant le modèle de la patte inflammatoire. L'inhibition du développement de l'œdème de pattes induit par le carragénine chez la souris permet de conclure que les extraits bruts possèdent une activité anti-inflammatoire importante lorsqu'ils sont administrés par voie orale. Cette activité est comparable à celle de l'Indométacine et du Diclofénac qui sont des anti-inflammatoires de référence.

Les tests anti-inflammatoires *in vitro* montrent aussi que les extraits bruts des deux plantes ont une activité anti-inflammatoire puissante vis-à-vis la dénaturation des protéines (BSA), et ont un effet protecteur contre l'hémolyse de membrane des globules rouges. Ces résultats ont été comparés à la L'indométacine.

Ces résultats ont expliqué les utilisations potentielles de *Marrubium vulgare* L. et de *Salvia verbenaca* L. en médecine traditionnelle algérienne pour le soulagement de divers états inflammatoires.

Cependant, des études complémentaires sont encore nécessaires pour étudier et identifier les différentes fractions des extraits bruts des feuilles et d'autres parties des deux plantes afin d'approfondir les connaissances sur les différents polyphénols et leurs activités biologiques et de définir plus précisément les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., & Hezmee, M. N. M.** (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary world*, 11(5), 627.
- Agbonon, A., Aklikokou, K., Akpagana., & Gbeassor, M.** (2001). Etude des propriétés anti-inflammatoires de la racine de PLUCHA OVALIS (PERS) DC (ASTERACEAE) chez le rat. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 11, 1-11.
- Agyigra, I. A., Ejiofor, J. I., & Magaji, M. G.** (2017). Acute and subchronic toxicity evaluation of methanol stem-bark extract of *Ximenia americana* Linn (Olacaceae) in Wistar rats. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(2), 263-267.
- Ahvazi, M., Jamzad, Z., Balali, G.R., & Saeidi, H.** (2018). A Taxonomical, Morphological and Pharmacological Review of *Marrubium vulgare* L., An Old Medicinal Plant in Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 17(65), 7-24.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S.** (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87, 13 -21
- Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B.** (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412.
- Anderson, J. M.** (1993). Mechanisms of inflammation and infection with implanted devices. *Cardiovascular Pathology*, 2(3), 33-41.
- Anesini, C., Ferraro, G. E., & Filip, R.** (2008). Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(19), 9225-9229.
- Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U.** (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 76.
- Ashley, N. T., Weil, Z. M., & Nelson, R. J.** (2012). Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 385-406.
- Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., & Coppolino, M. F.** (2012). Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 11(1), 52-64.
- Barnig, C.** (2016). Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique. *Revue Française d'Allergologie*, 56(1), 38-42.

- Baser, K.H.C.**(2000). Commercial aspects: production of Salvia oil in Mediterranean countries. In: Kintzios, S.E. (Ed.), SAGE–The Genus Salvia. *Academic Publishers, Amsterdam, Harwood*,263–268.
- Ben Salem, M., Affes, H., Athmouni, K., Ksouda, K., Dhouibi, R., Sahnoun, Z., ... & Zeghal, K. M.** (2017). Chemicals compositions, antioxidant and anti-inflammatory activity of Cynara scolymus leaves extracts and analysis of major bioactive polyphenols by HPLC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K.** (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of Atriplex halimus. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259-1266.
- Berthélémy, S.** (2014). L'hémogramme ou numération-formule sanguine. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(538), 53-55.
- Bhoola KD, Figueroa CD.,& Worthy K.**(1992). Bioregulation of kinins: Kallikreins,kininogens, and kininases. *Pharmacological reviews*, 44, 1-80.
- Bienvenu, J., Monneret, G., Fabien, N., & Gutowski, M. C.** (2000). Les cytokines: Méthodes d'exploration et intérêt clinique. *Revue Francaise des Laboratoires*, (328), 37-46.
- Bignami F, Rama P., & Ferrari G.** (2016). Substance P and its Inhibition in Ocular Inflammation. *Curr Drug Targets*,17,1265–1274.
- Bocher, V., Chinetti, G., Fruchart, J. C., & Staels, B.** (2002). Rôles des “Peroxisome Proliferator-Activated Receptors”(PPARs) dans la régulation du métabolisme des lipides et le contrôle de l'inflammation. *Journal de la Societe de Biologie*, 196(1), 47-52.
- Bolanle, I., Sowemimoa, A., Rooyen, A.V., & Venter, V.M.** (2012). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of Cyathula prostrata (Linn.) Blume (Amaranthaceae). *Jornal Ethnopharmacology*, 141: 282- 289.
- Bouhassira, D.** (2008). Définition et classification des douleurs neuropathiques. *La Presse Medicale*, 37(2), 311-314.
- Boulila, A., Sanaa, A., Salem, I. B., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., & Fernandez, X.** (2015). Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of Marrubium vulgare L.(Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*, 76, 616-622.
- Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B.** (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*, 79, 141 – 154.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., & Cherifi, K.** (2013). Autoécologie du Marrube blanc (Marrubium vulgare L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). *Revue internationale d'écologie méditerranéenne International Journal of Mediterranean Ecology*, 39(2), 39.

- Brown, D. E., Rashotte, A. M., Murphy, A. S., Normanly, J., Tague, B. W., Peer, W. A., Taiz, L., & Muday, G. K.** (2001). Flavonoids act as negative regulators of auxin transport in vivo in Arabidopsis. *Plant physiology*, 126(2), 524-535.
- Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie. *Phytochimie. Plantes medicinales, Paris, Ed. TecDoc.*
- Burgmann, K., Brunel, C., Sempoux, C., Ribic, C., Godat, S., Moradpour, D., & Schoepfer, A. M.** (2016). Gastroentérite à éosinophiles. *Revue Med Suisse*, 2016(12), 1430-3.
- Canzoneri, M., Bruno, M., Rosselli, S., Russo, A., Cardile, V., Formisano, C., ... & Senatore, F.** (2011). Chemical composition and biological activity of Salvia verbenaca essential oil. *Natural product communications*, 6(7), 193.
- Cardile, V., Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Arnold, N.A., & Piozzi, F.** (2009) Essential oils of Salvia bracteata and Salvia rubifolia from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 265-272.
- Caron, G., Delneste, Y., Roelandts, E., Duez, C., Bonnefoy, J. Y., Pestel, J., & Jeannin, P.** (2001). Histamine polarizes human dendritic cells into Th2 cell-promoting effector dendritic cells. *The Journal of Immunology*, 167(7), 3682-3686.
- Cassatella, M. A.** (2010). neutrophils II. *Fundamentals of Inflammation*, 49-64.
- Cavaillon, J. M.** (1995). L'inflammation: un équilibre précaire entre cytokines pro-et anti-inflammatoires. *Revue Francaise des Laboratoires*, (276), 27-35.
- Cheng, X., Li, H., Wu, P., Xu, L., Xue, J., & Wei, X.** (2019). Two new bisabolane-type sesquiterpenoids from the cooking liquid of Curcuma longa rhizomes. *Phytochemistry Letters*, 29, 169-172.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L.** (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- Cho, K. J., Yun, C. H., Yoon, D. Y., Cho, Y. S., Rimbach, G., Packer, L., & Chung, A. S.** (2000). Effect of bioflavonoids extracted from the bark of Pinus maritima on proinflammatory cytokine interleukin-1 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7. *Toxicology and applied pharmacology*, 168(1), 64-71.
- Chourrout, P.** (2008). La procalcitonine: de la découverte à l'utilisation clinique. *Médecine Nucléaire*, 32(3), 132-137.
- Cognasse, F., Osselaer, J. C., & Garraud, O.** (2007). Les cytokines des plaquettes et leurs effets lors des transfusions de concentrés de plaquettes. *Transfusion clinique et biologique*, 14(1), 69-78.
- Couto-Lima, D., Madec, Y., Bersot, M. I., Campos, S. S., de Albuquerque Motta, M., Dos Santos, F. B., ... & Failloux, A. B.** (2017). Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent Aedes populations. *Scientific reports*, 7(1), 4848.

- Cray, C., Besselsen, D. G., Hart, J. L., Yoon, D., Rodriguez, M., Zaias, J., & Altman, N. H.** (2010). Quantitation of acute phase proteins and protein electrophoresis in monitoring the acute inflammatory process in experimentally and naturally infected mice. *Comparative medicine*, 60(4), 263-271.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G.,** 2000. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B., Grissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiology, 1252–1318.
- Cynober, L.** (2000). Médiateurs de l'inflammation: contrôle par les nutriments azotés. *Nutrition clinique et métabolisme*, 14(3), 194-200.
- Dai, J., & Mumper, R. J.** (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- David, A. V. A., Arulmoli, R., & Parasuraman, S.** (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy reviews*, 10(20), 84.
- De Córdova, M. F., & Medina, A. R.** (2014). Analytical Methods for Determination of Polyphenols in Beer. *In Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 289-299.
- De Hoyos-Martinez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier–El Bouhtoury, F.** (2018). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 1-46.
- Dejean, C., & Richard, D.** (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de médecine interne*, 34(5), 264-268.
- Diallo, A.M.** (2004). Etude des plantes médicinales de Niofunke (Région Tombouctou). Phytochimie et pharmacologie de *Maerua Crassifolia* Forsk (Capporidacée). *Thèse de doctorat, Université de Bamako. Mali*, 125.
- Dirou, S., & Voiriot, G.** (2015). Anti-inflammatoires et pneumonie aiguë communautaire. *Revue des Maladies Respiratoires*, 32(8), 841-844.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S.** (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), 348-352.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S.** (2015). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 24, 29-37.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H.** (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* Quy Diem Do. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.
- Doyen, C., Vernet, M., & Bertrand, J. L.** (1992). Etude des variations comparées de 4 protéines de l'inflammation, de la vitesse de sédimentation et de la leucocytose en pathologie infectieuse de l'adulte. *Médecine et maladies infectieuses*, 22(12), 1152-1158.

- Dubost, J. J., Soubrier, M., Meunier, M. N., & Sauvezie, B.** (1994). De la vitesse de sédimentation au profil inflammatoire. *La Revue de médecine interne*, 15(11), 727-733.
- Dunois-Lardé, C., & Baruch, D.** (2011). Production de plaquettes in vitro. *Transfusion clinique et biologique*, 18(2), 158-164.
- Emile, C.** (2012). Marqueurs de l'inflammation: à partir de deux cas cliniques. *Option/Bio*, 23(476), 22-24.
- Fathiazad, F., Rameshrad, M., Asghari, S., Hamedeyazdan, S., Garjani, A., & Maleki-Dizaji, N.** (2017). Phytochemical screening and anti-inflammatory effect of *Marrubium vulgare* L. Methanol extract on carrageenan-induced paw inflammation in rats. *PHARMACOLOGY*, 23(1).
- Fekade, D., Knox, K., Hussein, K., Melka, A., Lalloo, D. G., Coxon, R. E., & Warrell, D. A.** (1996). Prevention of Jarisch–Herxheimer reactions by treatment with antibodies against tumor necrosis factor α . *New England Journal of Medicine*, 335(5), 311-315.
- Ferri-Dessens, R. M., Thomas, P., Barlési, F., & Kleisbauer, J. P.** (2001). Procédures de prise en charge de la douleur chronique chez le malade cancéreux: applications pratiques. *revue mal respir*, 18, 79-85.
- Formisano, C., Senatore, F., Apostolides, A.N., Piozzi, F., Rosselli, S.** (2007) GC and GC/MS analysis of the essential oil of *Salvia hierosolymitana* Boiss. growing wild in Lebanon. *Natural Product Communications*, 2, 181-184.
- Gabay, C.** (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis research & therapy*, 8(2), 3.
- Galeotti, C., Stephen-Victor, E., Sharma, M., Kaveri, S. V., & Bayry, J.** (2016). Orientation de la réponse immune par les basophiles. *Revue française d'allergologie*, 56(3), 117-119.
- Gallo, J., Raska, M., Kriegova, E., & Goodman, S. B.** (2017). Inflammation and its resolution and the musculoskeletal system. *Journal of orthopaedic translation*, (10), 52-67.
- Garcia, D. E., Glasser, W. G., Pizzi, A., Paczkowski, S. P., & Laborie, M. P.** (2016). Modification of condensed tannins: from polyphenol chemistry to materials engineering. *New Journal of Chemistry*, 40(1), 36-49.
- Garraud, O., Damien, P., Berthet, J., Arthaud, C. A., Hamzeh-Cognasse, H., & Cognasse, F.** (2011). Plaquettes sanguines, réponses aux signaux de danger infectieux et inflammation: vers un nouveau paradigme ? *Transfusion clinique et biologique*, 18(2), 165-173.
- Gaziano, J. M., & Gibson, C. M.** (2006). Potential for drug–drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *The American journal of cardiology*, 97(9), 23-29.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., & Bousselesla, H.** (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2), 64-74.

- Ghedira, K.** (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Glauser, M. P.** (2000). Pathophysiologic basis of sepsis: considerations for future strategies of intervention. *Critical Care Medicine*, 28(9), 4-8.
- Glorian, M., & Limon, I.** (2007). L'athérosclérose, une maladie inflammatoire. *Revue Francophone des laboratoires*, (389), 43-48.
- Gougerot-Pocidallo, M. A.** (2002). Polynucléaires neutrophiles humains. *Revue Française des laboratoires*, 2002(341), 43-51.
- Gougerot-Pocidallo, M. A., El Benna, J., My-Chan Dang, P., & Elbim, C.** (2007). Quand les polynucléaires neutrophiles attrapent les agents pathogènes dans leurs filets. *Le Magazine: Nouvelles*, 5(23), 1-2.
- Greenhalgh, D. G.** (2016). Burn care for general surgeons and general practitioners. *Springer International Publishing*, 30.
- Guilhot, F., Breton-Gorius, J., Reyes, F., Rochant, H., Rosa, J., & Vernant JP.** (1992). Hyperleucocytoses avec polynucléose neutrophile. *L'hématologie de Bernard Dreyfus. Paris: Médecine-Sciences Flammarion*, 567-568.
- Guilpain, P., & Le Jeune, C.** (2012). Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *La Presse Médicale*, 41(4), 378-383.
- Hagerman, A. E.** (2002). Hydrolyzable tannin structural chemistry. *Tannin handbook*, 1-5.
- Hamidzadeh, K., Christensen, S. M., Dalby, E., Chandrasekaran, P., & Mosser, D. M.** (2017). Macrophages and the recovery from acute and chronic inflammation. *Annual review of physiology*, 79, 567-592.
- Han, T., Li, H. L., Zhang, Q. Y., Han, P., Zheng, H. C., Rahman, K., & Qin, L. P.** (2007). Bioactivity-guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of *Xanthium strumarium* L. *Phytomedicine*, 14(12), 825-829.
- Han, X., Shen, T., & Lou, H.** (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- Hardman, W. E.** (2014). Diet components can suppress inflammation and reduce cancer risk. *Nutrition research and practice*, 8(3), 233-240.
- Headland, S. E., & Norling, L. V.** (2015). The resolution of inflammation: Principles and challenges. *In Seminars in immunology*, 27(3), 149-160.
- Hedge IC.** (1972) *Salvia L.* In *Flora Europaea III*; T. G., Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M Walters and D.A Webb Eds.; Cambridge University Press, Cambridge, 289-290.
- Heilerova, L., Buckova, M., Tarapcik, P., Silhar, S. and Labuda, J.** (2003). Comparaison of antioxidative activity data for aqueous extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis*), Oregano

- (*Origanum vulgare*), Thym (*thymus vulgaris*), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria*) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor, Czech *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., & Ferreira, I. C.** (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173, 501-513.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. Y.** (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6), 433-42.
- Hiermann, A., Juan, H., & Sametz, W.** (1988). Anti-inflammatory effects of a substance extracted from *Epilobium angustifolium*. *Inflammation Research*, 23(1), 106-107.
- Hill, G.D.** (2003). Plant antinutritional factors/Characteristics. *Elsevier Science Ltd*, 4578- 4587.
- Huang, D.J., Lin, C., Chen, H.J. & Lin, Y.H.** (2004). Antioxidant and proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L Lam Tainong 57). *Journal of constituents Botanical Bulletin-Academia Sinica Taipei*, 45, 179-186.
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N.** (2016). Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Iwamoto, I., Tomoe, S., Tomioka, H., & Yoshida, S.** (1992). Substance P-induced granulocyte infiltration in mouse skin: the mast cell-dependent granulocyte infiltration by the N-terminal peptide is enhanced by the activation of vascular endothelial cells by the C-terminal peptide. *Clinical & Experimental Immunology*, 87(2), 203-207.
- Jamet, A., Botturi, K., Diquet, B., & Mollimard, M.** (2006). Histamine: le rôle du médiateur. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46(5), 474-479.
- Janssen, W. J., & Henson, P. M.** (2012). Cellular regulation of the inflammatory response. *Toxicologic pathology*, 40(2), 166-173.
- Javid, M. M., Florentine, S., Ali, H. H., & Weller, S.** (2018). Effect of environmental factors on the germination and emergence of *Salvia verbenaca* L. cultivars (*verbenaca* and *vernalis*): An invasive species in semi-arid and arid rangeland regions. *PloS one*, 13(3), 194-319.
- Joseph, S. V., Edirisinghe, I., & Burton-Freeman, B. M.** (2015). Fruit polyphenols: A review of anti-inflammatory effects in humans. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(3), 419-444.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., & Steven, P.** (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. *Iere Ed : Paris et Bruxelles*, 369-384.
- Kanyonga, P. M., Faouzi, M. A., Meddah, B., Mpona, M., Essassi, E. M., & Cherrah, Y.** (2011). Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. *J Chem Pharm Res*, 3(1), 199-204.

- Kelesidis, T., Papakonstantinou, V., Detopoulou, P., Fragopoulou, E., Chini, M., Lazanas, M. C., & Antonopoulou, S.** (2015). The role of platelet-activating factor in chronic inflammation, immune activation, and comorbidities associated with HIV infection. *AIDS reviews*, 17(4), 191.
- Kempuraj, D., Madhappan, B., Christodoulou, S., Boucher, W., Cao, J., Papadopoulou, N., ... & Theoharides, T. C.** (2005). Flavonols inhibit proinflammatory mediator release, intracellular calcium ion levels and protein kinase C theta phosphorylation in human mast cells. *British journal of pharmacology*, 145(7), 934-944.
- Khalil, M. Y., Moustafa, A. A., & Naguib, N. Y.** (2007). Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4), 451-457.
- Khanbabaee, K., & van Ree, T.** (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- Kim, E.J., Jung, S.N., Son, K.H., Kim, .SR., Ha, T.Y., Park, M.G., Jo, I.G., Park, J.G., Choe, W., Kim, S.S., & Ha, J.** (2007) Antidiabetes and antiobesity effect of cryptotanshinone via activation of AMP-activated protein kinase. *Molecular Pharmacology*, 72, 62-72.
- Kim, H. P., Mani, I., Iversen, L., & Ziboh, V. A.** (1998). Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. Prostaglandins, *leukotrienes and essential fatty acids*, 58(1), 17-24.
- Kim, H. P., Son, K .H., Chang, H. W., & kong, S. S.** (1998). Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action macanism. *Jornal Pharmacology Science*, 96, 229-254.
- Klems, M. M., & Bahnson, B. J.** (2015). Trafficking and Oligomeric Regulation of Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase Type II. *In The Enzymes*, 38, 55-69.
- Kondratyuk, T. P., & Pezzuto, J. M.** (2004). Natural product polyphenols of relevance to human health. *Pharmaceutical biology*, 42(1), 46-63.
- Kosala, K., Widodo, M. A., Santoso, S., & Karyono, S.** (2018). In vitro and In vivo Anti-inflammatory Activities of *Coptosapelta flavescens* Korth Root's Methanol Extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(09), 042-048.
- Kota, K., Sharma, S., & Tahashildar, J.** (2018). A scientific validation of In vitro anti-inflammatory activity of *Punica granatum L. by human red blood cell membrane stabilization*. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 6(7), 2430.
- Krystel-Whittemore, M., Dileepan, K. N., & Wood, J. G.** (2016). Mast cell: a multi-functional master cell. *Frontiers in immunology*, 6, 620.
- Kumar, S., & Pandey, A. K.** (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S.** (2009). Catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*, (186),1-30.

- Lavanya, R., Maheshwari, S. U., Harish, G., Raj, J. B., Kamali, S., Hemamalani, D., ... & Reddy, C. U.** (2010). Investigation of in-vitro anti-inflammatory, anti-platelet and anti-arthritic activities in the leaves of *Anisomeles malabarica* Linn. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 1(4), 745-752.
- Lawrence, T., & Gilroy, D. W.** (2007). Chronic inflammation: a failure of resolution?. *International journal of experimental pathology*, 88(2), 85-94.
- Leelaprakash, G., & Dass, S. M.** (2011). Invitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(3), 189-196.
- Lefèvre, F., & Gillery, P.** (1997). Présence résiduelle de fibrinogène: un piège fréquent dans l'interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques. *In Annales de Biologie Clinique*, 55 (3), 238-40.
- Lekha, P. K., & Lonsane, B. K.** (1997). Production and application of tannin acyl hydrolase: state of the art. *Advances in applied microbiology*, 44, 216-260.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B.** (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Li, L., Harflett, C., Beale, M. H., & Ward, J. L.** (2009). Phenolic acids. *HEALTHGRAIN methods: analysis of bioactive components in small grain cereals*, 41-52.
- Lodhi, S., Vadnere, G. P., Sharma, V. K., & Usman, M. R.** (2017). *Marrubium vulgare* L: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 6(4), 429-452.
- Loe, G. E., Ngaba, G. P., Kamdom, M., Mpondo, E. M., & Dibong, S. D.** (2018). Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur *Psidium guajava* au Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1), 233-243.
- Lydyard, P.M., Whelan, A., & Fanger M.W.** (2002). *immunologie.port Royal livres*, Paris, 140.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*, 13.
- Male, D.** (2005). *Immunologie aide-mémoire illustré. Boek&Larcier*, 143.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L.** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mandle, R. J., Colman, R. W., & Kaplan, A. P.** (1976). Identification of prekallikrein and high-molecular-weight kininogen as a complex in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(11), 4179-4183.

- Mansour, S., Djebli, N., Ozkan, E. E., & Mat, A.** (2014). In vivo antiinflammatory activity and chemical composition of *Hypericum scabroides*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, 514-520.
- Manthey, J.M.** (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.
- Martin, C., Vallet, B., & Riou, B.** (2017). Physiologie humaine appliquée (2e édition). *Arnette-John Libbey Eurotext*, 767.
- Mawji, E., Gledhill, M., Worsfold, P. J., & Achterberg, E. P.** (2008). Collision-induced dissociation of three groups of hydroxamate siderophores: ferrioxamines, ferrichromes and coprogens/fusigens. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 22(14), 2195-2202.
- Mbaveng, A. T., & Kuete, V.** (2017). Zingiber officinale. *In Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, 627-639.
- Medzhitov, R.** (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428.
- Mekaj, Y. H.** (2016). The roles of platelets in inflammation, immunity, wound healing and malignancy. *Int J Clin Exp Med*, 9(3), 5347-5358.
- Middleton, E. J.R., Kandaswami, C., & Heoradies, T.C.** (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacology Review*, 52, 673-751.
- Mohan, H.** (2018). Textbook of pathology. *Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited*, 71.
- Muster, D.** (2005). Médicaments de l'inflammation. *Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie*, 1(1), 21-29.
- Naczk, M., & Shahidi, F.** (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- Namoune, I., Khettal, B., Assaf, A. M., Elhayek, S., & Arrar, L.** (2018). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Organic and Aqueous Extracts of Northeast Algerian *Marrubium vulgare*. *Phytothérapie*, 1-11.
- Nandal .S., Dhir .A, Kuhad A., Sharma S., Shopra K .**(2009): Curcumin potentiates the anti-inflammatory activity of cyclooxygenase inhibitors in the cotton pellet granuloma pouch model. *Meth Find Exp Clin Pharmacology*, 3: 89–93.
- Navarro, L.** (1997). Plant Systematics and Evolution, 207, 111-117.
- Nehme, C.** (2006). La douleur neuropathique : Un défi pour les soignants. *Inf MSC*, 2006, 4.
- Nehring, S. M., & Patel, B. C.** (2018). C reactive protein (CRP). *In StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

- Néné-bi, A. S., T. Y., Traore, F., & Sakande, J.** (2015). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné)(Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies*, 332(4), 371-377.
- Okin, D., & Medzhitov, R.** (2012). Evolution of inflammatory diseases. *Current Biology*, 22(17), 733-740.
- Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F.** (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, 17(5), 228-237.
- Ortega-Gómez, A., Perretti, M., & Soehnlein, O.** (2013). Resolution of inflammation: aintegrated view. *EMBO molecular medicine*, 5(5), 661-674.
- Owen, P.L. and Johns, T.** (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern north
- Pahwa, R., & Jialal,I.**(2018) .Chronic Inflammation. *National Institute of Health. California Northstate University*
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I.** (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278.
- Pasquier, C.** (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 1995(276), 87-92.
- Prin, L., Gatault, S., Lefèvre, G., & Kahn, J. E.** (2014). Le polynucléaire éosinophile: nouveautés en physiologie et implications diagnostiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(462), 73-85.
- Quezel P., & Santa S.** (1963),Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertique Meridionales.Tome II.Ed.CRN.S.Paris..p :360,805 .
- Rahmani, S, Belboukhari, N, Sekkoum, K, & Cheriti, A.** (2016). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *limoniastrum feei* (plumbaginacea). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 6(1).
- Rahmat, H., Roto, A. V., Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R. A., & Bolling, B. W.** (2012). Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 339-347.
- Raymondjean, M.** (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2007(389), 21-28.
- Reville, K., Crean, J. K., Vivers, S., Dransfield, I., & Godson, C.** (2006). Lipoxin A4 redistributes myosin IIA and Cdc42 in macrophages: implications for phagocytosis of apoptotic leukocytes. *The Journal of Immunology*, 176(3), 1878-1888.
- Ribéreau-Gayon, P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Ed: Dunod. Paris*, 317-436.
- Ribéreau-Gayon,P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod. Paris*, 173-201.

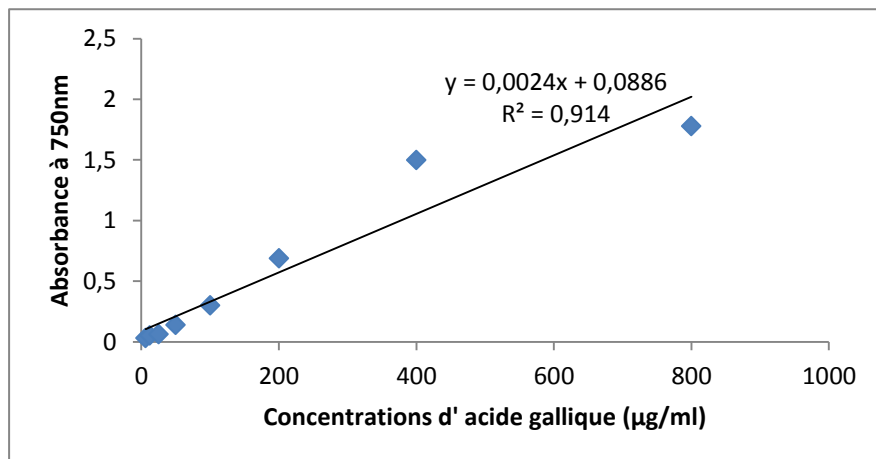
- Riché, D.** (2017). Épinutrition du sportif. *De Boeck Supérieur*, 124.
- Rodríguez Villanueva, J., & Martín Esteban, J.** (2016). An Insight into a Blockbuster Phytomedicine; marrubium vulgare L. Herb. *More of a Myth than a Reality?. Phytotherapy research*, 30(10), 1551-1558.
- Ropiak, H. M., Lachmann, P., Ramsay, A., Green, R. J., & Mueller-Harvey, I.** (2017). Identification of structural features of condensed tannins that affect protein aggregation. *PLoS one* 0170768, 12(1), 1-23.
- Rostan, O., Tarte, K., & Amé-Thomas, P.** (2014). Le polynucléaire basophile: nouveautés en physiopathologie et implications diagnostiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(462), 95-105.
- Rousselet, M., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P.** (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Copyright AFECAP*, 1-75.
- Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfino, S., Cardile, V., Rosselli, S., Bruno, M.**, 2013. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food Chem. Toxicol.* 55, 42–47.
- Russo-Marie, F.** (1998). L'inflammation. *John Libbey Eurotext*, 167.
- Samama, C. M., Ickx, B., Ozier, Y., Steib, A., Susen, S., & Godier, A.** (2018). Place des concentrés de fibrinogène dans la prise en charge des hémorragies: position du Groupe d'intérêt en hémostase périopératoire (GIHP). *Anesthésie & Réanimation*, 4(6), 465-478.
- Sangeetha, G., Rajeshwari, S., & Venkatesh, R.** (2011). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin*, 46(12), 2560-2566.
- Schini-Kerth, V.** (2012). La dysfonction endothéliale: caractérisation, mécanismes impliqués et conséquences potentielles sur la fonction vasculaire. *Journal des Maladies Vasculaires*, 37(2), 39.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N.** (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*, 91(1-2), 21-40.
- Schwartz, K.**(2011). Inflammation et maladies clés de compréhension. *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM)*.
- Schwindl, S., Kraus, B., & Heilmann, J.** (2019). Secondary metabolites from the leaves of *Juglans regia* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 83, 130-136.
- Segura, E., Touzot, M., Bohineust, A., Cappuccio, A., Chiochia, G., Hosmalin, A., ... & Amigorena, S.** (2013). Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. *Immunity*, 38(2), 336-348.
- Serra, M. B., Barroso, W. A., Silva, N. N. D., Silva, S. D. N., Borges, A. C. R., Abreu, I. C., & Borges, M. O. D. R.** (2017). From inflammation to current and alternative therapies involved in wound healing. *International journal of inflammation*, 2017.

- Shahidi, F., & Yeo, J.** (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1573.
- Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T.** (2004). Mechanisms of the inflammatory response. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 18(3), 385-405.
- Sherwood, E. R., & Traber, D. L.** (2007). The systemic inflammatory response syndrome. *Total burn care*, 292.
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., & Trombetta, D.** (2017). Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British journal of pharmacology*, 174(11), 1244-1262.
- Spooner, C. E., Markowitz, N. P., & Saravolatz, L. D.** (1992). The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clinical immunology and immunopathology*, 62(1), 11-17.
- Sproston, N. R., & Ashworth, J. J.** (2018). Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Frontiers in immunology*, 9.
- Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M., & Kouretas, D.** (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 2155-2170.
- Stoltz, J. F., Boisseau, M., Muller, S., Wang, X., Legrand, S., & Labrador, M. V.** (1999). Hemorheologie et cellules endotheliales vasculaires. *Journal des maladies vasculaires*, 24(2), 99-109.
- Stulzer, H. K., Tagliari, M. P., Zampirolo, J. A., Cechinel-Filho, V., & Schlemper, V.** (2006). Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. *Journal of ethnopharmacology*, 108(3), 379-384.
- Sugimoto, M. A., Sousa, L. P., Pinho, V., Perretti, M., & Teixeira, M. M.** (2016). Resolution of inflammation: what controls its onset?. *Frontiers in immunology*, 7, 160.
- Sy, G.y., Wélé, A., Ndiaye, M., Diatta, W., Barbosa, F.S., Dièye, A.M., Touré, M.T., Bassène, E., & 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, L.; Torok, K.; & Tarnawa, L.** (1997). Apparent antinociceptive and anti-inflammatory effects of GYKI 52466. *European Journal of Pharmacology*; 336,143-154.
- Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., & Lyoussi, B.** (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of ethnopharmacology*, 110(1), 105-117.
- Taylor, L. P., & Grotewold, E.** (2005). Flavonoids as developmental regulators. *Current opinion in plant biology*, 8(3), 317-323.

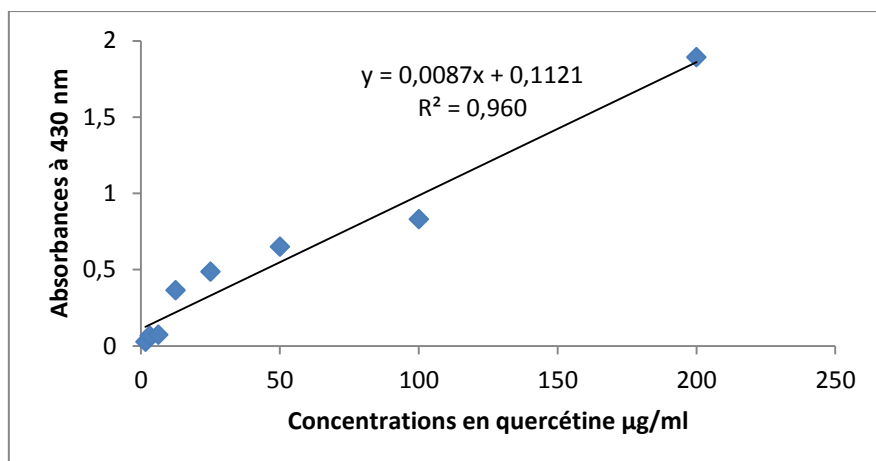
- Su, J. Y., Li, Q. C., & Zhu, L.** (2011). Evaluation of the in vivo anti-inflammatory activity of a flavone glycoside from *Cancrinia discoidea* (Ledeb.) Poljak. *EXCLI journal*, 10, 110.
- Tewari, D., Bawari, S., Patni, P., & Sah, A. N.** (2019). Borage (*Borago officinalis* L.). *In Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, 165-170.
- Thanh, T. B., Duc, L. V., Thanh, H. N., & Tien, V. N.** (2017). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compounds of ethanol extract from *Sanchezia speciosa* Leonard's leaves. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 28(1), 79-84.
- Theoharides, T. C., Alysandratos, K. D., Angelidou, A., Delivanis, D. A., Sismanopoulos, N., Zhang, B., ... & Kalogeromitros, D.** (2012). Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(1), 21-33.
- Thompson, A. M., Mikus, C. R., Rodarte, R. Q., Distefano, B., Priest, E. L., Sinclair, E., & Church, T. S.** (2008). Inflammation and exercise (INFLAME): study rationale, design, and methods. *Contemporary clinical trials*, 29(3), 418-427.
- Tripathi, Y. C., Joseph, N., & Anjum, N.** (2016). Phytochemical screening and evaluation of polyphenols, Flavonoids and Antioxidant Activity of *Prunus cerasoides* D. Don Leaves. *Journal Pharmacology Research*, 10(7), 502-508.
- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S.** (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food chemistry*, 99(4), 835-841.
- Vadivu, R., & Lakshmi, K. S.** (2008). In vitro and in vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssp *Laurina*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 3(2), 121-124.
- Vergnolle, N.** (2003). The Inflammatory Response. *Drug development research*. 59:375–381
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Štefan, M. B., & Babac, M.** (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. *In Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*,(9),156-180.
- Voss, M., & Cotton, M. F.** (1998). Mechanisms and clinical implications of apoptosis. *Hospital medicine*, 59(12), 924-930.
- Walker JB, Sytsma KJ, Treutlein J, Wink M.** (2004) *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91, 1115-1125.
- Ward, P. A.** (2010). Acute and chronic inflammation. *Fundamentals of inflammation*, 1-16.
- Weston, L. A., & Mathesius, U.** (2013). Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *Journal of chemical ecology*, 39(2), 283-297.

- Winter, C. A., Risley, E. A., & Nuss, G. W.** (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 111(3), 544-547.
- Wolff, M., & Joly-Guillou, M. L.** (2011). La procalcitonine (PCT): Un outil diagnostique et de stratégie thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, (434), 39-43.
- Wyplosz, B.** (2000). Infection et athérosclérose. *In Annales de l'Institut Pasteur/Actualites*, 11(1), 107-120.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C.** (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.
- Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X. F., & Wang, H.** (2014). Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker research*, 2(1), 1.
- Yougbaré-Ziébrou, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., ... & Guissou, I. P.** (2015). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of an aqueous extract of *Saba senegalensis* Pichon stems with leaves (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.
- Zhu, F., Du, B., & Xu, B.** (2018). Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(8), 1260-1270.
- Zillich, O. V., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P., & Kersch, M.** (2015). Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(5), 455-464.

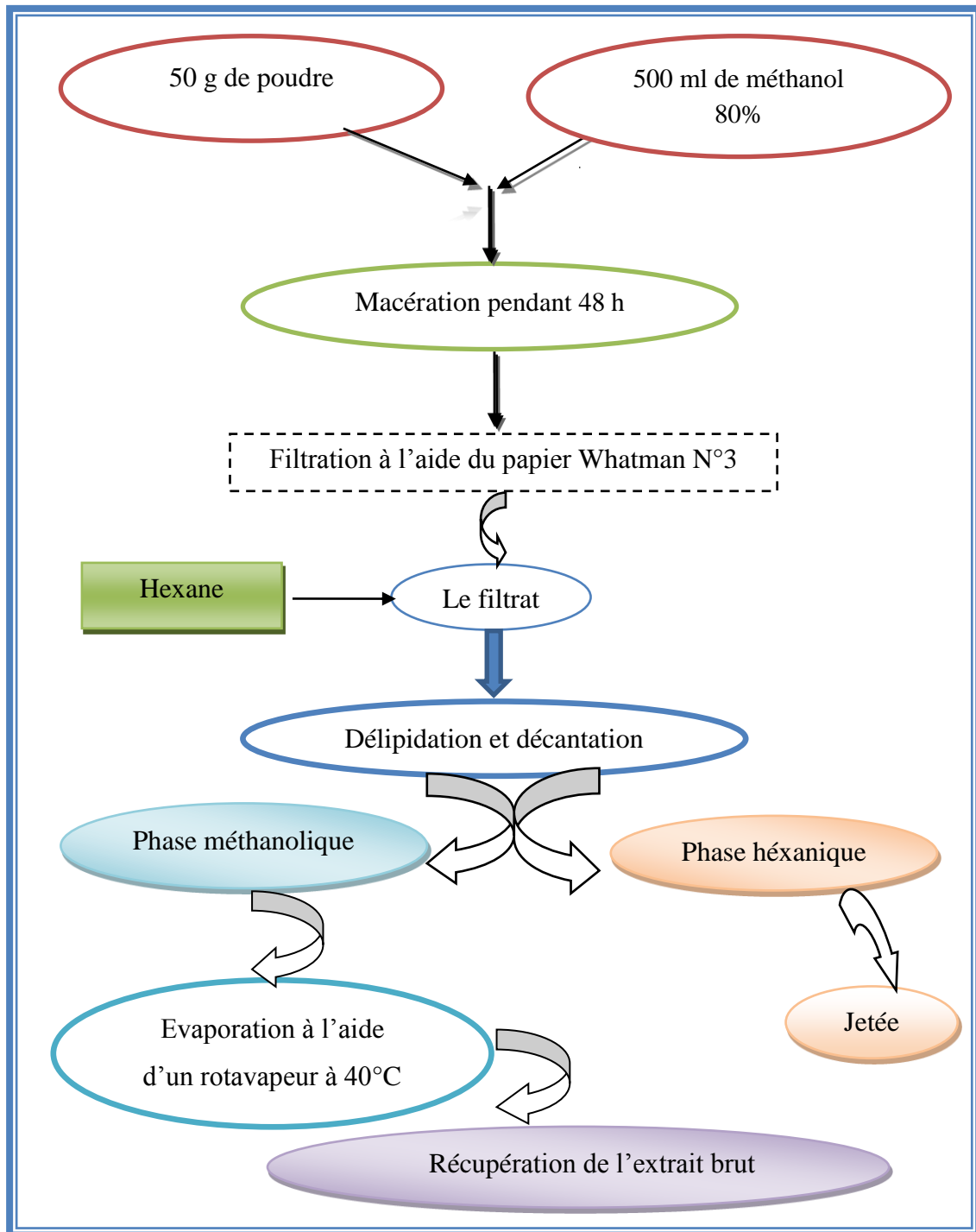
Annexes



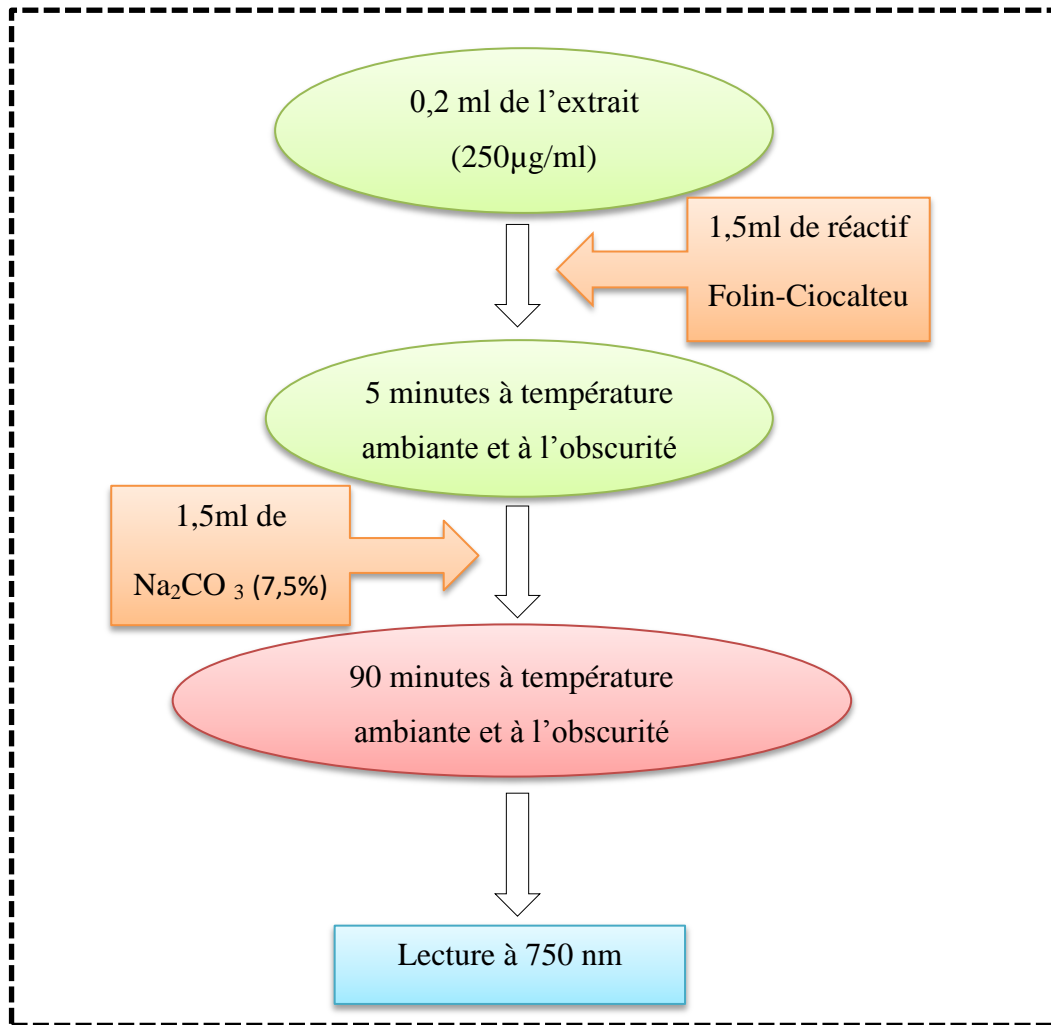
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux



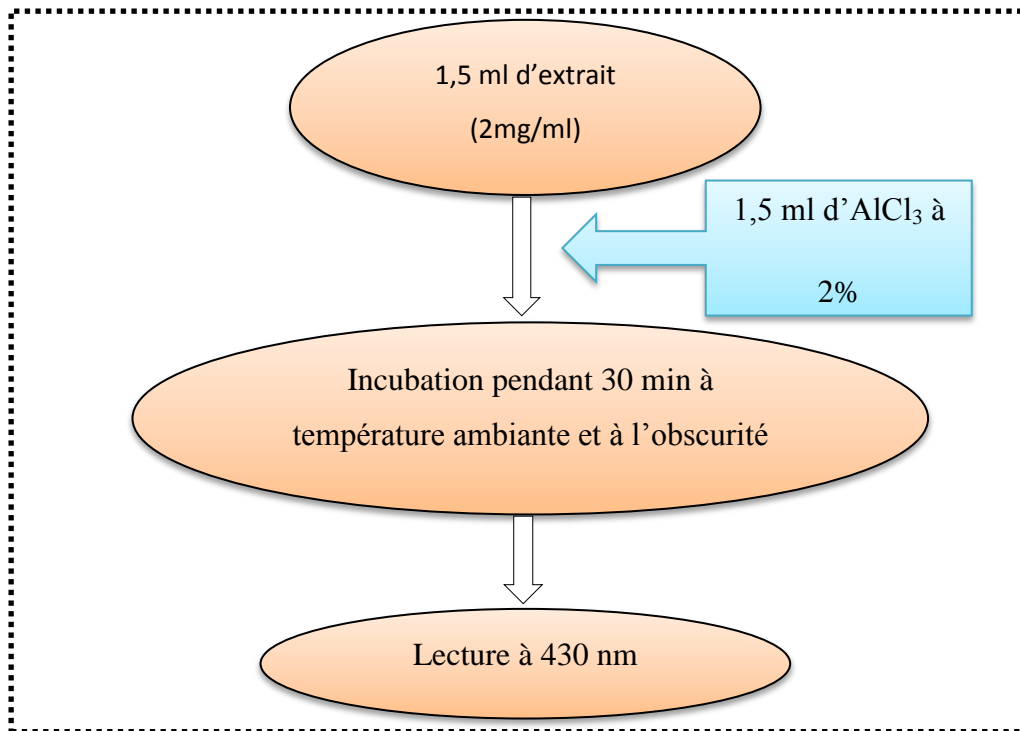
Annexe 2: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux



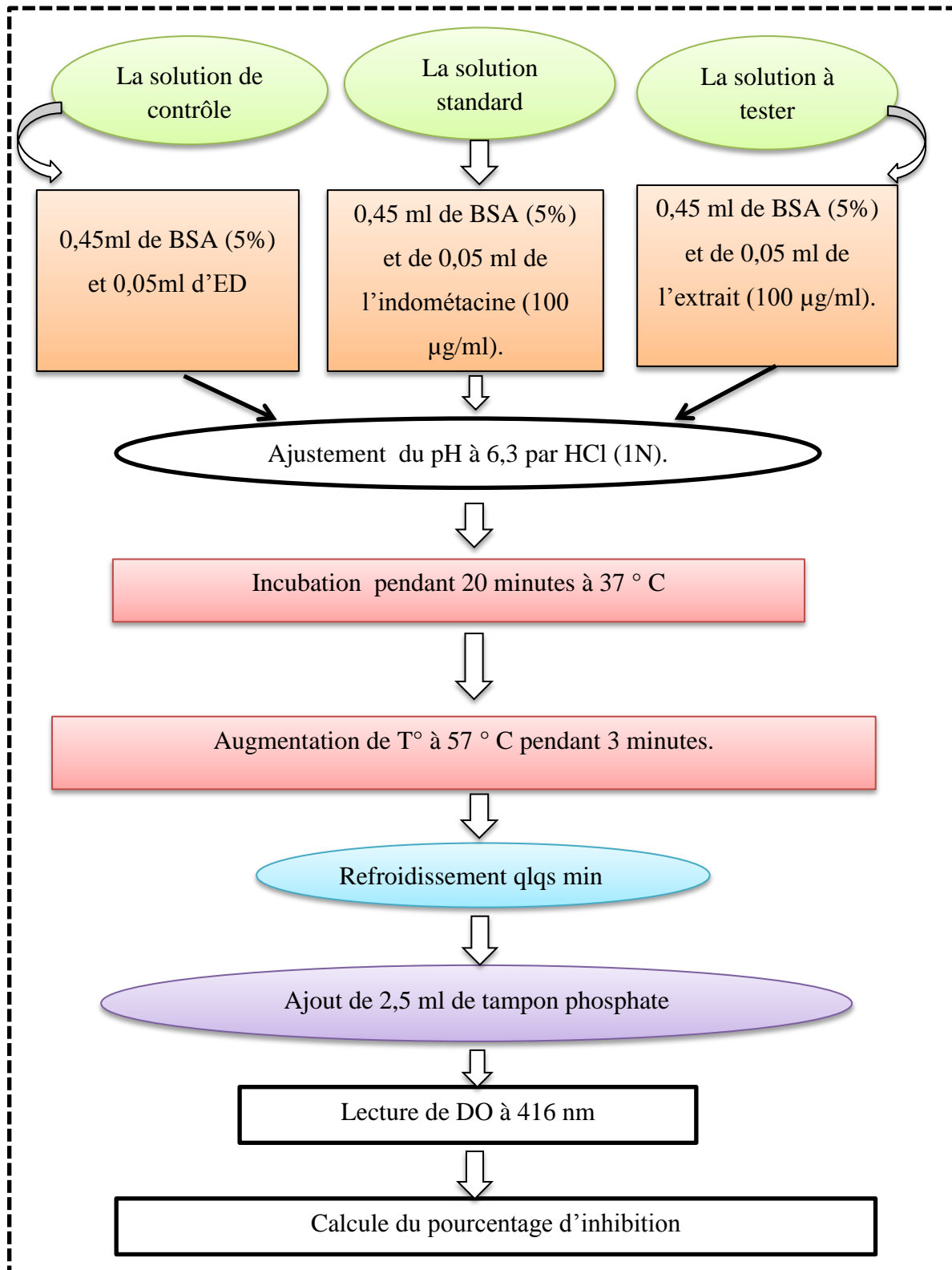
Annexe 3 : Protocole général d'extraction des polyphénols (Owen et Johns, 1999).



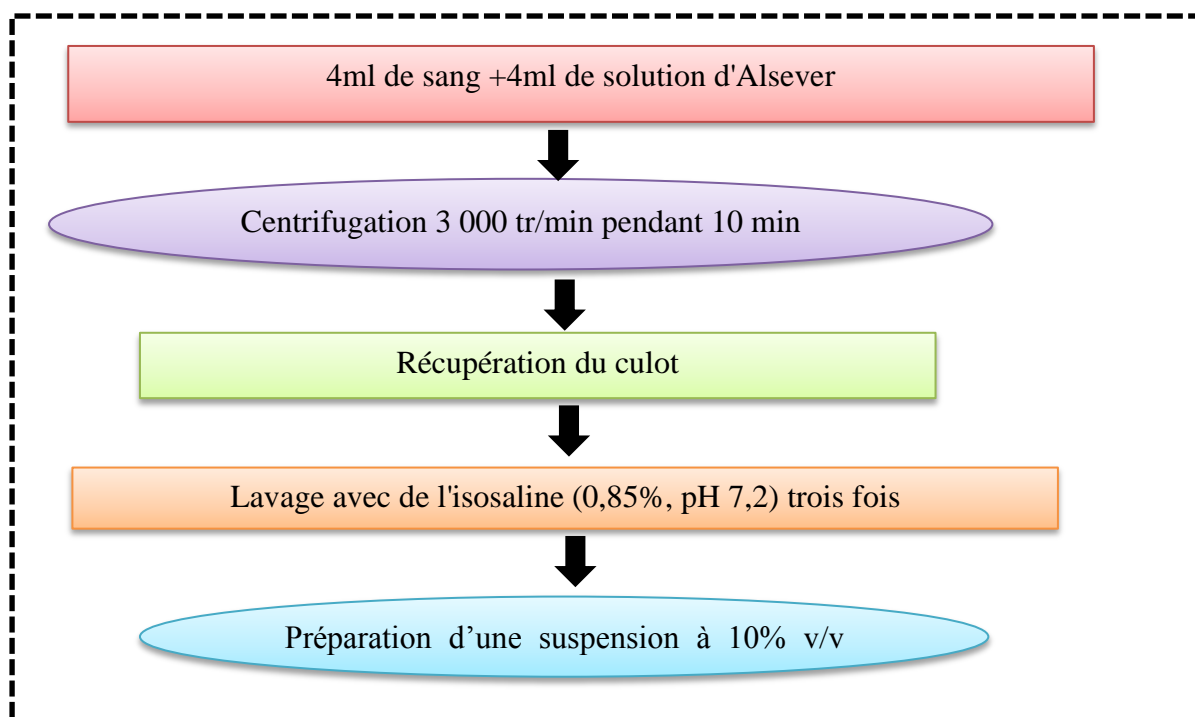
Annexe 4 : Protocole de dosage des composés phénoliques.



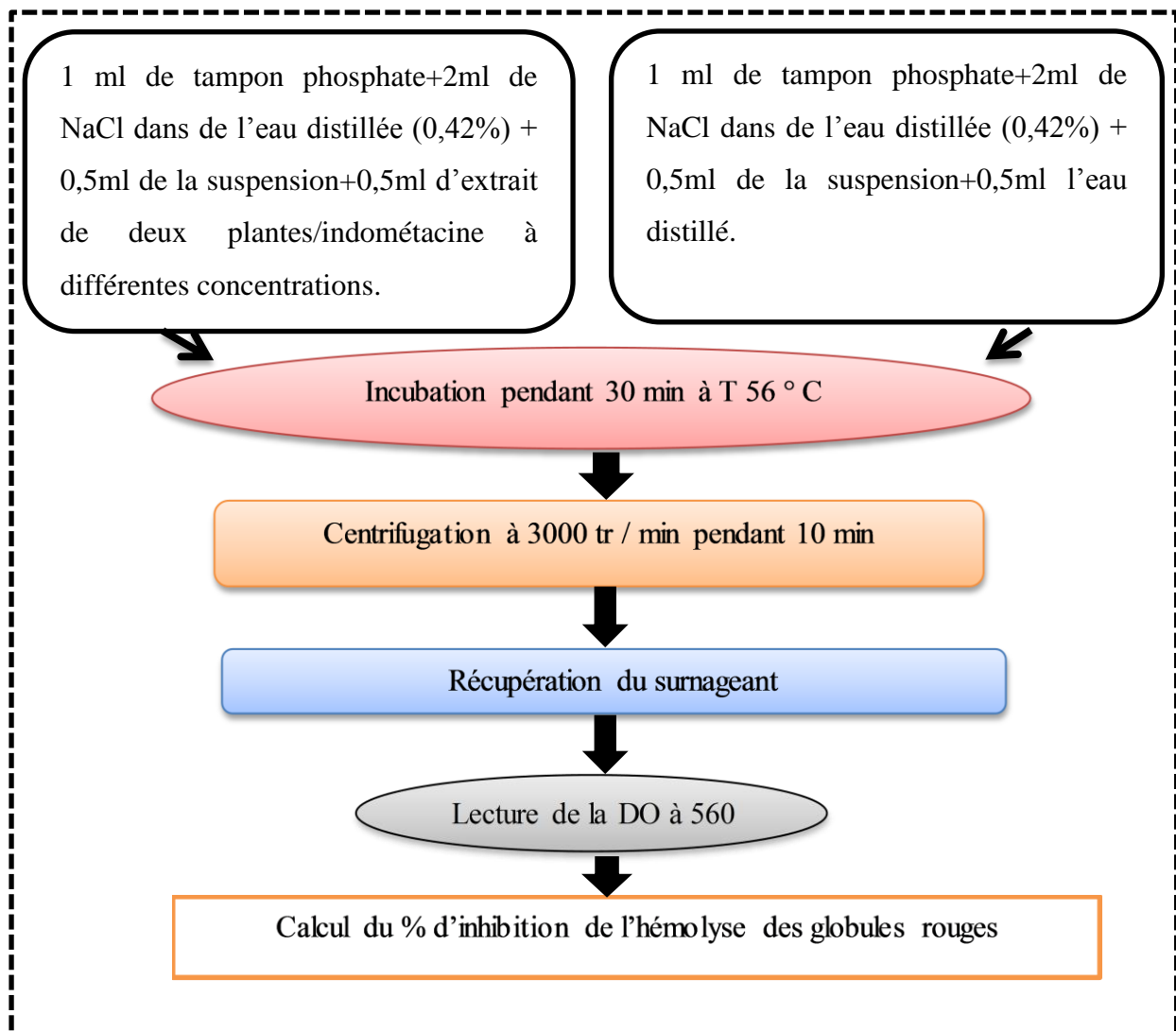
Annexe 5 : Protocole de dosage des flavonoïdes.



Annexe 6 : Protocole d'inhibition de la dénaturation des protéines (Lavanya *et al.*, 2010).



Annexe7 : Protocole de préparation de la suspension (**Kosala et al., 2018**).



Annexe 8 : Protocole d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges selon le procédé de (Kosala *et al.*, 2018).

Présenté par : MEDJRAB Sarra MOURES Wahiba	Encadré par : Dr. BOUTENNON Hannane	Date de soutenance : 21/07/2019.
---	---	--

Titre : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de Marrubium vulgare et Salvia verbenaca de la région de Jijel in vivo et in vitro

Résumé

Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro* des extraits brut préparés à partir des feuilles de deux plantes médicinales de la région d'Ouled rabah, à savoir *Marrubium vulgare* L. et *Salvia verbenaca* L. Le test de l'œdème induit par la carragénine, la dénaturation de l'albumine et la stabilisation de la membrane des globules rouges ont été choisis pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire. Les dosages phytochimiques ont montré que l'extrait brut du *S. verbenaca* L possède la plus haute teneur en polyphénols et en flavonoïdes (841,22± 64,77mg EAG/g EB et 162,47± 20,31mg EQ/g EB respectivement) par rapport à *M. vulgare* L (427,83± 93,5mg EAG/gEB et 100,19± 9,09mg EQ/g EB respectivement). *In vivo*, l'étude de l'activité anti-inflammatoire a révélé une bonne activité anti-inflammatoire des deux extraits brut à différentes concertations par leur capacité de réduire l'œdème des pattes des souris induit par la carragénine. Cette activité est confirmée par les résultats de l'étude *in vitro* qui ont montré une bonne inhibition de la dénaturation de l'albumine à 100µg/ml et une bonne stabilisation de la membrane des globules rouges à différents concentrations (25, 50, 100, 250, 500µg/ml). Ces résultats sont très encourageants pour une éventuelle application clinique.

Mots clés : Activité anti-inflammatoire, polyphénols, œdème, BSA, hémolyse, *M. vulgare*, *S verbenaca*.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the *in vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of raw extracts prepared from the leaves of two medicinal plants from Ouled rabah region, named *Marrubium vulgare* L and *Salvia verbenaca* L. Carrageenan-induced edema test, albumin denaturation and stabilization of the red blood cell membrane were chosen for the study of anti-inflammatory activity. Phytochemical assays showed that the raw extract of *S. verbenaca* L. has the highest polyphenols and flavonoids content (841.22 ± 64.77mg EAG/g EB and 162.47 ± 20.31mg EQ/g EB respectively) compared to *M. vulgare* L. (427.83 ± 93.5 mg EAG/gEB and 100.19 ± 9.09 mg EQ/g EB respectively). *In vivo*, the study of the anti-inflammatory activity revealed a good anti-inflammatory activity of the two raw extracts at various concentrations by their ability to reduce mice paw edema induced by carrageenan. This activity is confirmed by the results of the *in vitro* study which showed a good inhibition of albumin denaturation at 100µg/ml and a good stabilization of red blood cells membrane at different concentrations (25, 50, 100, 250.500 µg/ml). These results are very encouraging for a possible clinical application.

Key words: Anti-inflammatory activity, polyphenols, edema, BSA, hemolysis *M. vulgare*, *S verbenaca*.

المخلص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهاب في الجسم الحي وفي انابيب المختبر لمستخلصات الخامة المحضرة من أوراق نباتين طبيين من منطقة اولاد رابح ، وهما *Marrubium vulgare* L و *Salvia verbenaca* L. تم اختيار اختبار الوذمة التي يسببها الكاراجينان ، تخريب الألبومين وتشوه غشاء خلايا الدم الحمراء لدراسة النشاط المضاد للالتهابات. أظهرت الفحوصات الفيتوكيميائية أن المستخلص الخام في *S. verbenaca* L يحتوي على أعلى محتوى من البوليفينولات والفلافونويدات (841.22 ± 64.77mg EAG/g EB و 162.47 ± 20.31mg EQ/g EB) مقارنة بـ *M. vulgare* L. (427.83 ± 93.5mg EAG/g EB و 100.19 ± 9.09mg EQ/g EB). *In vivo*، كشفت دراسة النشاط المضاد للالتهابات عن وجود نشاط مضاد للالتهابات جيد للمستخلصين بتركيز مختلف من خلال قدرتهما على الحد من الوذمة في ارجل الفئران التي يسببها الكاراجينان. تم تأكيد هذا النشاط من خلال نتائج الدراسة التي أجريت في المختبر والتي أظهرت تشبيهاً جيداً لتخريب الألبومين عند 100 ميكروغرام / مل وتثبيت جيد لغشاء خلايا الدم الحمراء بتركيزات مختلفة (25 ، 50 ، 100 ، 250.500 ميكروغرام / مل).
الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للالتهابات ، البوليفينولات ، الوذمة ، BSA ، انحلال الدم. *M. vulgare*, *S verbenaca*.