

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

Présenté en vue de l'obtention de Diplôme Master
En Biologie
Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Evaluation des activités
antioxydant, anti inflammatoire
et analgésique de l'extrait
aqueux chloroforme du
*Galium mollugo***

Présenté par :

M^{er} BENKHNNICH Abderrahmane

M^{er} HAMAIDI Riad

Devant le jury :

Présidente : Mme. DEBBACHE N

Promotrice : Mlle. CHAHER N

Examinatrice : Mme. ATMANI D

Examinatrice : Mlle. CHERAFT N

Promotion 2013/ 2014

Remerciement

Nous tenons avant tous à rendre grâce a Dieu de nous avoir donné le courage et la volonté tout au long de nos études.

Nous aimerons exprimer notre profond respect, notre sincère gratitude et nos remerciement les plus vifs a :

Notre promotrice M^{elle} CHAHER.N pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et orientations ainsi que pour l'intérêt et la confiance qu'elle nous a offert.

Au PROFESSEUR ATMANI D, pour nous avoir ouvert les portes de son laboratoire de recherche.

M^{me} DEBACHE de nous avoir consacré de son temps en nous faisant l'honneur d'accepter de présider le jury.

M^{me} ATMANI et M^{elle} CHERAFT d'avoir acceptés d'examiné ce modeste travail.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe du laboratoire de génétique en particulier, M^{me} Berboucha, M^{elle} Ayouni, M^{elle} Sebaihi, Zineb, Radia, Nadjia, Naima, wahiba, lila , Sara, Fahima, Narimane, Farah, Imane, Narima et Samra pour leurs aides et leurs précieux conseils.

Enfin, nos remerciements à travers ce travail tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin de cycle.

*D*édicaces

Tout d'abord j'ai remercié Allah le tout puissant pour m'avoir donné la force nécessaire et le courage pour mener à bien ce travail. Nous te prions de nous aider davantage à percer dans la recherche du savoir.

Je dédie ce modeste travail

A mes deux grands-parents pour l'affection qu'ils m'ont donnée depuis mon enfance.

A mes parents, en témoignage de ma gratitude pour leur écoute, leur soutien et leurs encouragements dans les moments difficiles, sans vous rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

A mon cher frère Lamine et mes deux adorables sœurs Assia et Katia.

A mes chers meilleurs amis (e) Rosa et Hakim que Dieu les garde en bonne santé et leurs offre un bonheur éternel.

A mon collègue Riad et tous mes amis et en particulier, Abelali, Didatoune, Djidji, Fouzi, Lina Mourad, Omar, Sissy, et Souria, et sans oublier bien sûr la promo de Biochimie Appliquée

2013|2014

Abdou

*D*édicaces

Je dédie ce modeste travail

*A celle qui a attendu avec patience, courage et dévouement les fruits de sa bonne
éducation.....ma mère*

*A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours
les grands hommes.....mon père.*

*A mes très chers frères : Kamel, Samir et Nabil, qui m'ont toujours soutenu,
encouragés et poussés à donner le meilleur de moi-même.*

*A mes sœurs : Karima, Leila, Ghania, Kahina et Nassima, qui m'ont toujours
protégées et chouchoutées.*

*A Mohand, Fatseh, Idir, Juba, Samy, Alyssia, Rayan, Yasmine, Yanis, Amine,
Dalia, Meriem et Fina*

*A mes meilleurs amis (e) : Yanis, Ghani, Nacereddine, Idris, Yasmina, Meriem
et bien entendu Sissy.*

*A mon collègue Abderrahmane et à toute la promo de Biochimie Appliquée
2013/2014, en particulier : Nesrine, Lina, Souria et Djidji.*

Que dieu vous protège tous

Riad

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribo-Nucléique

ATP : Adénosine tri phosphate

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

Abs: Absorbance

ABTS : Acide 2, 2'-azino-bis 3-éthylbenz-thiazoline-6-sulphanique

COX : Cyclo-oxygénase.

CAT : Catalase

CGRP : Peptide relié au gène calcitonine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion reductase

GSH : Glutathion

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IL : Interleukine

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

MPE : Effet possible maximal.

mg : Milligramme

ml : Millilitre

min: Minute

µg : Microgramme

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH :Hydroxyde de sodium

NADPH: Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate

NO[•]: Monoxide d'azote

O₂^{•-}: Radical superoxyde

[•]OH: Radical hydroxyle

ONOO[•]: Radical peroxydinitrite

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAB : Office National des Aliments de Bétails de Bejaïa

pH : Potentiel d'hydrogène

ROO[•] : Radical peroxy

SOD :Superoxydedismutase

Sec : Seconde

Trolox : Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

XO: Xanthine oxydase

XOR : xanthine oxydo-réductase

Liste des figures

Figure N°1 : Schéma des différentes formes des ERO.....	3
Figure N°2 : Origine des radicaux libres dans la cellule.....	4
Figure N°3 : Répartition des principales défenses antioxydants dans la cellule.....	6
Figure N°4 : Activation des plaquettes et des cellules résidentes au cours de la phase vasculaire.....	12
Figure N°5 : Activation des cellules au niveau du tissu lésé.....	12
Figure N°6 : Cicatrisation et régénération du tissu lésé.....	13
Figure N°7 : Voie d'action des anti-inflammatoires.....	14
Figure N°8 : Schéma du trajet de la douleur.....	16
Figure N°9 : Modulation du message nerveux nociceptif.....	17
Figure N°10 : Stimulation des nocicepteurs par les algogènes.....	18
Figure N°11 : <i>Galium mollugo</i> (a) et ses sommités fleuris (b).....	23
Figure N°12 : Lieu d'élevage des souris au laboratoire d'expérimentations animal....	24
Figure N°13 : Souris consanguine	24
Figure N°14 : Le pléthysmomètre.....	25
Figure N°15 : Protocole d'extraction des composés actifs à partir de la poudre de plante.....	27
Figure N° 16 : Structure du 2,2'-azobis-(ethylbenzothiazoline-6-sulphanique) : forme réduite ABTS et forme radical cation ABTS ^{•+}	28
Figure N°17 : Injection de la carragénine au niveau de la patte postérieure gauche d'une souris.....	30
Figure N°18 : Les différentes étapes d'une administration intra-gastrique.....	31
Figure N°19 : Mesure de la patte arrière gauche de la souris par le pléthysmomètre....	32
Figure N°20 : Injection de l'acide acétique par voie intrapéritonéal.....	33
Figure N°21 : Contorsion abdominale chez la souris.....	33

Figure N°22 : Test de l'immersion de la queue.....	34
Figure N°23 : Activité anti- ABTS ^{*+} de l'extrait aqueux du <i>Galium mollugo</i> en fonction du temps à une concentration de 100 µg/ml.....	35
Figure N°24 : Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme de <i>G.mollugo</i> sur la réduction du radical ABTS ^{*+}	36
Figure N°25 : Spectre de balayage de la solution XO.....	37
Figure N°26 : L'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de chloroforme du <i>Galium mollugo</i>	38
Figure N°27: Représentation de Lineweaver et Burk de l'inhibition de la XO par l'extrait aqueux chloroforme de <i>Galium Mollugo</i>	39
Figure N°28 : Pourcentage d'augmentation de l'œdème, en présence de l'extrait aqueux chloroforme du <i>Galium mollugo</i> et le diclofénac.....	41
Figure N°29 : Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par l'extrait aqueux chloroforme du <i>Galium mollugo</i> et le diclofénac.....	42
Figure N°30 : Pourcentage d'inhibition de l'effet de l'acide acétique en fonction de concentration d'extrait aqueux chloroforme.....	43
Figure N° 31 : Effets des différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme de <i>G. mollugo</i> et de l'acide acétylsalicylique dans de l'immersion de la queue.....	46

Liste de tableaux

Tableau I : principaux radicaux libres rencontrés en biologie.....	2
Tableau II: Principaux mode d'action de quelques antioxydants.....	7
Tableau III: Différents appareils et réactifs utilisés.....	25
Tableau IV : Effet de l'extrait aqueux chloroforme du <i>Galium mollugo</i> et du diclofénac sur l'œdème induit chez la souris par injection de la carragénine.....	40
Tableau V: Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme de <i>Galium mollugo</i> et de l'acide acétylsalicylique dans le test de l'immersion de la queue chez les souris.....	45

Glossaire

ADN : est l'abréviation d'acide désoxyribonucléique. C'est la molécule d'hérédité. Elle contient sous forme codée toutes les informations relatives à la vie d'un organisme vivant, elle se présente sous la forme d'une double hélice enroulée avec un motif identique répété tout le long de la molécule.

Aérobic : c'est la capacité d'un organisme ou d'un micro-organisme à se développer dans l'air ambiant. En termes plus techniques, on définit un organisme aérobic comme un être vivant dont la voie métabolique de production d'énergie peut utiliser l'oxygène O₂ comme accepteur d'électron.

Anti-inflammatoire : il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales.

Agrégation plaquettaire : phénomène qui se produit à la suite de l'adhésion des plaquettes au collagène et dans lequel, sous l'action de l'ADP libéré, les plaques se fixent les unes aux autres en formant un thrombus blanc.

Cancer : tumeur qui peut se développer dans tous les tissus du corps.

Dismutation : est une réaction d'oxydo-réduction dans laquelle une espèce chimique joue à la fois le rôle d'oxydant et de réducteur. Ce qui signifie qu'un atome ou groupe fonctionnel, initialement présent à un seul degré d'oxydation se trouvera, après la réaction, sous forme de deux espèces de degrés d'oxydation différents.

Homéostasie : c'est la maintenance de l'ensemble des paramètres physico-chimiques de l'organisme qui doivent rester relativement constants (glycémie, température, taux de sel dans le sang, etc.).

L'athérosclérose : une obstruction de l'artère, favorisée par le mauvais cholestérol ou LDL, les conséquences peuvent être une crise cardiaque.

La lipoxgénase : une protéine enzymatique qui catalyse l'oxydation des acides gras ou autres alcènes. Il en existe de multiples sortes. Elle entre en jeu dans le métabolisme de l'arachidonate pour sa transformation en eicosanoïdes linéaires : les leucotriènes qui sont impliqués dans les réactions d'anaphylaxie. Pour cette raison des médicaments tentent d'être mis au point pour inhiber leur activité et réduire certaines réactions inflammatoires.

La cyclo-oxygénase (COX) : est une enzyme qui permet la formation de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Son action est inhibée par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine.

Mitochondrie : organelle présente dans le cytoplasme de toutes les cellules, qui joue un rôle essentiel dans les phénomènes d'oxydation et de stockage de l'énergie sous forme d'ATP.

Peroxisome : est un organite cellulaire entouré par une membrane simple et ne contenant pas de matériel génétique. Ils permettent la détoxification de la cellule (par dégradation du peroxyde d'hydrogène très toxique produit par les peroxysomes grâce à l'importation de dioxygène provenant des mitochondries, par dégradation des acides gras à très longue chaîne et par synthèse d'acides gras polyinsaturés).

Prostaglandines : sont des métabolites de l'acide arachidonique, obtenues à partir de phospholipides membranaires par action de phospholipases. Des molécules liposolubles destinées à la sécrétion dans le milieu extracellulaire, se sont des agents de signalisation paracrine et autocrine qui activent de nombreux RCPG.

Radical libre : espèce chimique possédant un électron non apparié terme anglais signifiant piègeur.

Stress oxydant : situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux libres.

Vasodilatateur : médicament utilisé pour augmenter le diamètre des vaisseaux sanguins.

Xanthine : une substance issue de la désamination des bases puriques (adénine et guanine). Elle est convertie en acide urique par l'action de la xanthine oxydase.

Xanthine oxydase ou **XO** : est une enzyme qui catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine ainsi que l'oxydation de la xanthine en acide urique .

Xénobiotique : est une substance présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère : il n'est ni produit par l'organisme lui-même, ni par son alimentation naturelle.

SOMMAIRE

- ❖ Liste des abréviations
- ❖ Liste des figures
- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Glossaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I - Synthèse bibliographique

Stress oxydant

I.1. Stress oxydant et radicaux libre.....	2
I.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène.....	2
I.1.2. Principales sources des radicaux libres.....	3
I.1.3. Les cibles des radicaux libres.....	5
I.1.4. Le système antioxydant.....	6
I.1.5. Mode d'action des antioxydants.....	6
I.1.6. Pathologies liées au stress oxydant.....	7

Réaction inflammatoire

I.2. Réaction inflammatoire.....	8
I.2.1. Types de l'inflammation.....	8
I.2.2. Médiateurs de l'inflammation.....	9
I.2.3. Les phases de la réaction inflammatoire.....	11
I.2.4. Les antiinflammatoires.....	13

Physiopathologie de la douleur

I.3. La douleur	15
I.3.1. Notion de douleur aiguë et douleur chronique	15
I.3.2. Le chemin de la douleur	15
I.3.3. Le mécanisme de la douleur	16
I.3.4. Les médiateurs de la douleur	17
I.3.5. Les analgésiques	18

Plantes médicinales et composés phénoliques

I.4. Plantes médicinales et composés phénolique	20
I.4.1. Plantes médicinales	20
I.4.2. les Composés phénoliques	21

Chapitre II – Matériels et méthodes

II.1. Matériels	22
II.1.1. Matériels végétal	22
II.1.2. Matériel animal	24
II.1.3. Appareillages et réactifs	25
II.2. Méthodes	26
II.2.1. Préparation de l'extrait	26
II.2.2. Activité contre le radical ABTS^{•+}	28
II.2.3. Test de l'activité anti-inflammatoire	29
II.2.3.1. Etude de l'activité inhibitrice de la Xanthine Oxydase	29
II.2.3.2. Test de l'œdème plantaire induit chez la souris	30
II.2.4. Etude de l'activité analgésique	32
II.2.4.1. Test de writhing	32
II.2.4.2. Test de l'immersion de la queue	34
II.2.5. Analyse statistique	34

Chapitre III – Résultats et discussions

III.1. Activité scavenger du radical ABTS.....	35
III.2. Activité anti-inflammatoire.....	37
III.2.1. Test de l'inhibition de la XO (<i>In vitro</i>).....	37
III.2.2. Test de l'œdème plantaire (<i>In vitro</i>).....	40
III.3. Activité analgésique.....	43
III.3.1. Test de writhing.....	43
III.3.2. Test d'immersion de la queue.....	45
Conclusion et Perspectives	47
Référence bibliographiques.....	48

Introduction

L'oxygène, qui compose l'air à 21%, est indispensable à la vie des êtres pluricellulaires vivant en aérobie. Il rentre dans la quasi-totalité des réactions énergétiques qui se passent au niveau de notre organisme. Cependant, cette molécule a un caractère toxique, puisqu'elle a une possibilité de s'oxyder facilement, ce qui donne naissance aux autres espèces plus réactives et plus toxique, et malgré la disponibilité d'un système biologique qui lutte contre ce phénomène, la surproduction de ces molécules donne lieu au stress oxydant, ce dernier est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose tout en passant par les maladies inflammatoires au cancer (**Sohalet *al.*, 2002**).

L'inflammation est alors, un processus homéostatique dont le but est de limiter les destructions tissulaires, détruire l'agent causal et activer le processus de réparation tissulaire en activant toute une cascade de réactions chimique, cela contribue aux caractéristiques d'une inflammation, à savoir : rougeur, gonflement, chaleur et douleur (**Nathan, 2002; Barton, 2008**). Ce phénomène douloureux peut devenir un véritable syndrome par son intensité et sa durée, retentissant sur les grandes fonctions organiques, capable à lui seul d'aggraver l'état du malade.

À la recherche d'un traitement curatif de ces pathologies, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales, qui sont depuis toujours une source essentielle de médicaments car elle représente l'unique trésor inépuisable, puisque seule une petite partie des 400'000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants et de molécules différents (**Hostettmann *al.*, 1998**).

Nous avons entrepris l'étude des propriétés pharmacologiques de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo*, pour apporter une base scientifique à son utilisation traditionnelle. L'objectif de la présente étude est de vérifier si l'utilisation de *Galium mollugo* comme antioxydant, anti-inflammatoire et analgésique est justifiée.

I.1. Stress oxydant et radicaux libres

Le stress oxydant est défini comme étant un déséquilibre lié soit à une production accrue d'espèces réactives à l'oxygène (ERO), soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant (Sies, 1991). Il constitue un terrain favorable au développement de diverses pathologies (Defraigne et Pincemail, 2007).

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule (**tableau I**), contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux (Garait, 2006).

Cette réactivité vis-à-vis d'autres molécules est variable selon la nature du radical. L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) sont peu réactifs mais peuvent déclencher des réactions en chaînes qui formeront des radicaux libres beaucoup plus réactifs (Servais, 2004).

Tableau I : principaux radicaux libres rencontrés en biologie (Favier, 2003)

Le radical libre	Symbole	Demi-vie à (37°C)
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Enzymatique*
Radical hydroxyle	$\bullet OH$	$10^{-9}S$
Oxygène singulet	1O_2	-
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}	1 à 10 S
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Enzymatique*
Nitroxyde	NOO^{\bullet}	-
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet}$	0.05 à 1 S
Radical peroxy	ROO^{\bullet}	10^{-1}

I.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'oxygène moléculaire (O_2) (**Figure N°1**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène et également les composés non radicalaire (hydroxydes $ROOH$ et H_2O_2).

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit de la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), est beaucoup plus stable que ce dernier et a la capacité de diffuser à travers les membranes biologiques (Servais, 2004).

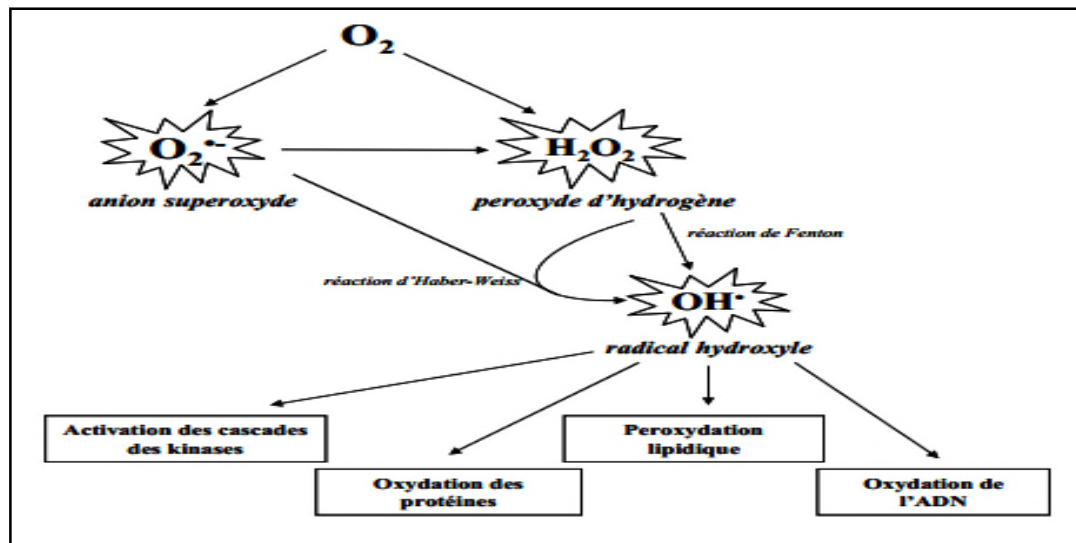


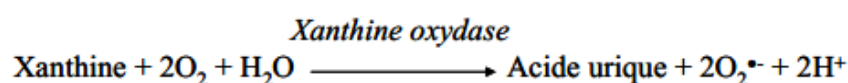
Figure N°1 : Schéma des différentes formes des ERO (Garait, 2006)

I.1.2. Principales sources des radicaux libres

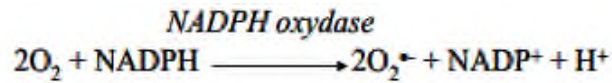
Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes (Figure N°2). Certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux.

- La **mitochondrie** est la source de production majeure du $O_2^{\bullet-}$ dans la cellule intacte. Dans les conditions physiologiques, la formation de ce radical est liée à l'activité physique et à l'intensité d'oxygénation (Favier, 2003).
- La **xanthine oxydase** catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'hypoxie (Garait, 2006).

Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\bullet-}$ (Garait, 2006).



- La **NADPH oxydase** joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes car lors de la phagocytose, il catalyse la formation d'O₂^{•-} (**Fortuno et al., 2006**).



- Le **réticulum endoplasmique** lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques. La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des radicaux libres (**Garait, 2006**).
- Le **peroxysome** est une source importante dans la production cellulaire de H₂O₂. Toutefois, le H₂O₂ est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale afin de réaliser des réactions de peroxydation de d'autres substrats (**Servais, 2004 ; Bartosz, 2009**).
- Une importante source des ERO et liée à l'auto-oxydation de molécules comme la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones. Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'anion superoxyde (O₂^{•-}) (**Servais, 2004**).

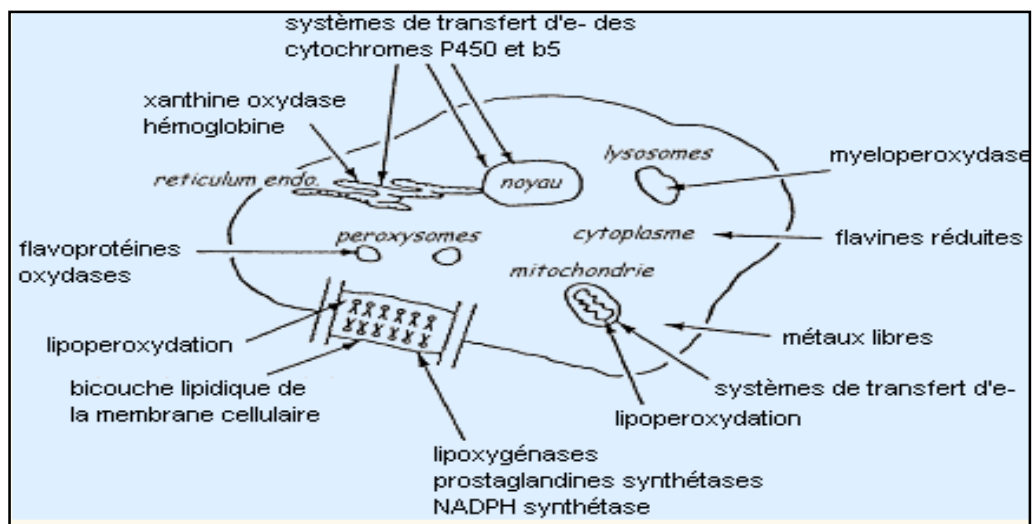


Figure N°2 : Origine des radicaux libres dans la cellule (Machlin et Bendich, 1987)

I.1.3. Les cibles des radicaux libres

Les dommages induits par les radicaux libres sont importantes pour la cellule car ces altérations peuvent conduire à des pertes de fonction et d'intégrité, voire à la mort cellulaire notamment par l'intermédiaire de l'apoptose. Parmi les cibles des radicaux libres on a les lipides, les protéines et l'ADN (**Favier, 2003**).

- **Peroxydation des lipides**

Les premières cibles des radicaux libres sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes cellulaires (**Akyol et al., 2001 ; Garait, 2006**).

- **Oxydation des protéines**

Les protéines peuvent également être modifiées par des composés carbonylés réactifs issus de la peroxydation lipidique (**Bagnoux et al., 2009**).

Ces changements conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures tel que la perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases (**Lissitzky et Rolland, 1961**).

- **Domage de l'ADN**

Les radicaux libres et en particulier OH^\bullet , peuvent s'attaquer à l'ADN. Ils réagissent avec les nucléotides. Ils peuvent conduire à la fragmentation de l'ADN. Les conséquences de ces altérations peuvent être immédiates (apoptose), ou s'exprimer sur du plus long terme (cancer) (**Pastre, 2005**).

Au niveau de la mitochondrie, l'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial, sa localisation proche de la membrane interne et la structure circulaire sans introns, font de lui la cible parfaite pour l'action des radicaux libre (**Richter et al, 1988**), ce qui va provoquer la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire au profit de la production des ERO (**Friguet, 2003**).

I.1.4. Le système antioxydant

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (**Figure N°3**) (**Pelli et Lyly, 2003**). D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même (**Yoon et al., 2013**).

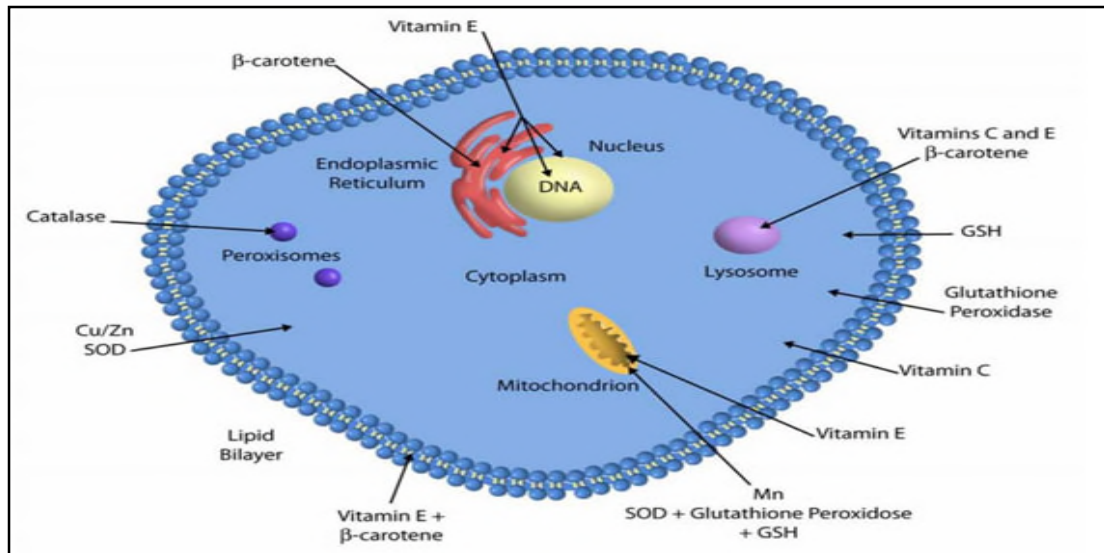


Figure N°3 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (**Yoon et al., 2013**)

I.1.5. Mode d'action des antioxydants

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

- Système de défense primaire tel que la catalase (CAT) et le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production d'ERO en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation (**Pastre, 2005**).
- Système de défense secondaire tel que les tocophérols. Ces molécules réagissent avec les ROO[•] et/ou les R[•], bloquant ainsi les réactions de propagation. Ce type d'antioxydant permet d'éviter le passage de formes peu réactives (O₂⁻) à très réactives (OH[•]) (**Pastre, 2005**).

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydante dont les mécanismes d'action sont différents (**tableau II**).

Tableau II: Principaux mode d'action de quelques antioxydants (**Garait, 2006**) (**Pastre, 2005**)

Type d'activité	Nature	Mode d'action
Défenses non enzymatiques	Oligoéléments(Cu^{2+} , Fe^{2+} , ...)	Maintient l'activité catalytique des enzymes antioxydants
	Glutathion	Réduit le H_2O_2
	Ubiquinones	Diminue la formation du radical peroxy
	Cytochrome C	Détoxifie en captant l'électron libre du $\text{O}_2^{\bullet-}$
	Vitamine E	Empêche la propagation des réactions de peroxydation lipidique
	Vitamine C	Neutralise l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ et l' OH^{\bullet}
Défenses enzymatiques	Superoxydedismutase (SOD)	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Glutathion peroxydase (GPx) et Glutathion reductase (GR)	Métabolise H_2O_2
	Catalase	Réduire la formation d' H_2O_2

I.1.6. Pathologie liée au stress oxydant

L'apparition de ces molécules biologique et leurs surcharges anormales dans l'organisme, peut causer aux cellules atteintes un déséquilibre fonctionnel suite à la dénaturation et la dégradation de ces différents constituants, ceci est la principale cause de plusieurs syndromes, a titre d'exemple, Vieillesse maladies cardiovasculaires, maladies auto-immunes cancer, diabète tout en passant par les phénomènes inflammatoires (**Favier, 2003**).

Réaction inflammatoire

I.2. Réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine différents facteurs (chaleur, froid, pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques, composés issus de la réaction immunitaire,...). Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables (**Diebold et al., 1995**).

L'inflammation est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend des phénomènes généraux, exprimés par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général et des phénomènes locaux ou l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé (**Tonnel et al., 1998**).

I.2.1. Types d'inflammation

I.2.1.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. La guérison peut être spontanée ou avec un traitement et peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al., 2010**).

I.2.1.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue pendant plusieurs mois ou années.

On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même tissu (**Nourshargh et al., 2006 ; Charles et al., 2010**).

- les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car elle est brève ou asymptomatique, c'est souvent le cas de maladies auto-immunes et d'affections pour lesquelles les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (hépatite auto-immune) (**Ferradji, 2011**).

I.2.2. Médiateurs de l'inflammation

De multiples médiateurs chimiques, provenant du plasma ou des cellules, déclenchent l'inflammation et interviennent à tous les stades de l'inflammation.

I.2.2.1. Les médiateurs cellulaires

Sont soit préformés et séquestrés dans des granules intracellulaires ou synthétisés *de novo* en réponse à un stimulus.

- **Les amines vasoactifs**

La sérotonine, stockée dans les plaquettes sanguines et dans les cellules chromaffines de la muqueuse intestinale libérée, stimule les fibres lisses vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales (**Capron, 1998**).

L'histamine, qui est synthétisée par la décarboxylation de l'histidine est définies comme des molécules biologiquement actives sur le système nerveux central et le système vasculaire (**Duflos et al., 1999**). Cette molécule participe à l'augmentation de la perméabilité vasculaire et au chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles. (**Janewayet al., 2003**).

- **Les éicosanoides**

Ce sont des composés à vingt acides aminés dérivés de l'acide arachidonique. Quelques-uns sont de structure linéaire (les leucotriènes), et les autres de structure cyclique (les prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes,...) (**Pacheco et al., 1993**).

En réponse à une perturbation physique ou chimique, il se produit une activation de la phospholipase A₂ qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires et libère des dérivés de l'acide arachidonique, ce dernier à son tour est métabolisé selon deux voies :

- La voie de la lipooxygénase qui le transforme en leucotriènes.
- La voie de la cyclooxygénase qui le transforme principalement en prostaglandines.

- **Les cytokines**

Les monokines et lymphokines forment un groupe de protéines jouant un rôle essentiel dans les communications intercellulaires et notamment entre les médiateurs du processus inflammatoire. Elles sont sécrétées par les lymphocytes, les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les plaquettes et d'autres types de cellules telles que les cellules épithéliales (**Capron, 1998**).

Les cytokines pro inflammatoires sont essentiellement l'interleukine (IL-1) qui est produite par les phagocytes mononucléés sous l'influence de divers facteurs inducteurs. Son action majeure est de promouvoir la sécrétion de l'IL-2. L'IL-6 induit la sécrétion d'anticorps par les lymphocytes B, favorisant la synthèse par les hépatocytes des protéines de l'inflammation aiguë alors que l'IL-8 favorise la chimiotaxie des neutrophiles (**Jackson et Ever, 2006 ; De Bandt, 2007**).

- **Le PAF acéther**

C'est un phosphoglycéride issu de la dégradation des phospholipides membranaires, est vasodilatateur qui augmente la perméabilité capillaire (**Cavaillon, 2005**).

I.2.2.2. Les médiateurs plasmiques

Ils sont présents dans le plasma sous la forme de précurseurs qui doivent être activés pour acquérir leurs propriétés.

- **Les kinines**

Ce sont des polypeptides plasmatiques phlogogènes dont la plus active est la bradykinine qui peut entraîner une activation du phospholipide A₂ et une irritation des fibres sensorielles au niveau lésionnel. La bradykinine favorise en plus une vasoconstruction à la base de la stase intra-capillaire (**Steinbuch et Audran, 1971**).

- **Le système du complément**

Il intervient dans le phénomène inflammatoire comme dans l'immunité par l'activation des deux voies (classique et alterne) et entraîne la fixation sur la particule cible de C₃ responsable de l'opsonisation ainsi que C₅, C₆, C₇ et C₈ responsables de la lyse avec libération de fragments peptidiques (Illier et Querel, 2011 ; Steinbuch et Audran, 1971).

- **Les facteurs de coagulation**

La fibrine qui sédimente dans le site de l'inflammation à la phase aiguë est le résultat de l'activation de la fibrinogénèse (Capron, 1998).

I.2.3. Les phases de la réaction inflammatoire

I.2.3.1. Phase d'initiation (phase vasculaire et activation des cellules résidentes)

L'activation rapide des plaquettes va les conduire avec l'aide des facteurs pro-coagulants présents dans le plasma, pour colmater la brèche et limiter l'accès de pathogènes à l'organisme (**Figure N°4**). Les plaquettes activées libèrent aussi des protéines aux propriétés agrégantes et vasoconstrictrices puissantes. L'activité de vasoconstriction est extrêmement brève et sert à limiter les fuites de sang (Mathieu et Guimezanes, 2012).

Très rapidement, un grand nombre de médiateurs solubles présents dans le sang sont activés (système du complément, système des kinines,...).

Leur but est de donner l'alerte rapidement et de recruter les cellules de l'immunité innée sur le lieu de l'inflammation, alors que les cellules résidentes (macrophages et cellules dendritiques) qui seront les premières activées suite à la reconnaissance du microbe vont secréter des messagers solubles (chimiokines, cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'Il-1 et l'Il-6) qui vont avoir plusieurs effets (Mathieu et Guimezanes, 2012).

La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème, ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur.

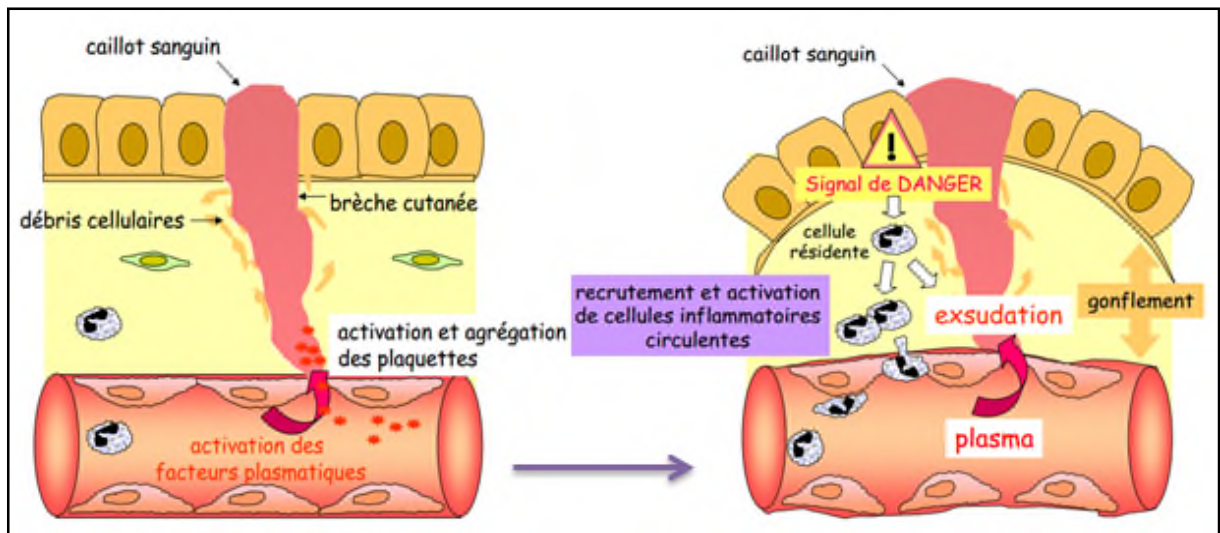


Figure N°4 : Activation des plaquettes et des cellules résidentes au cours de la phase vasculaire (Mathieu et Guimezanes, 2012)

I.2.3.2. Phase d'amplification

A l'arrivée des neutrophiles sur le site lésé, les cellules du système inné sont activées soit par contact direct avec le pathogène, soit par la présence des cytokines secrétées par les cellules résidentes (**Figure N°5**). La reconnaissance des motifs microbiens par les neutrophiles et les macrophages conduit à la phagocytose et à la destruction d'une partie des microbes.

Les neutrophiles, après ingestion du microbe, produisent et déversent, au niveau du tissu lésé, des composés hautement réactifs (exemple : radicaux libres) contenus dans leurs granules (Mathieu et Guimezanes, 2012).

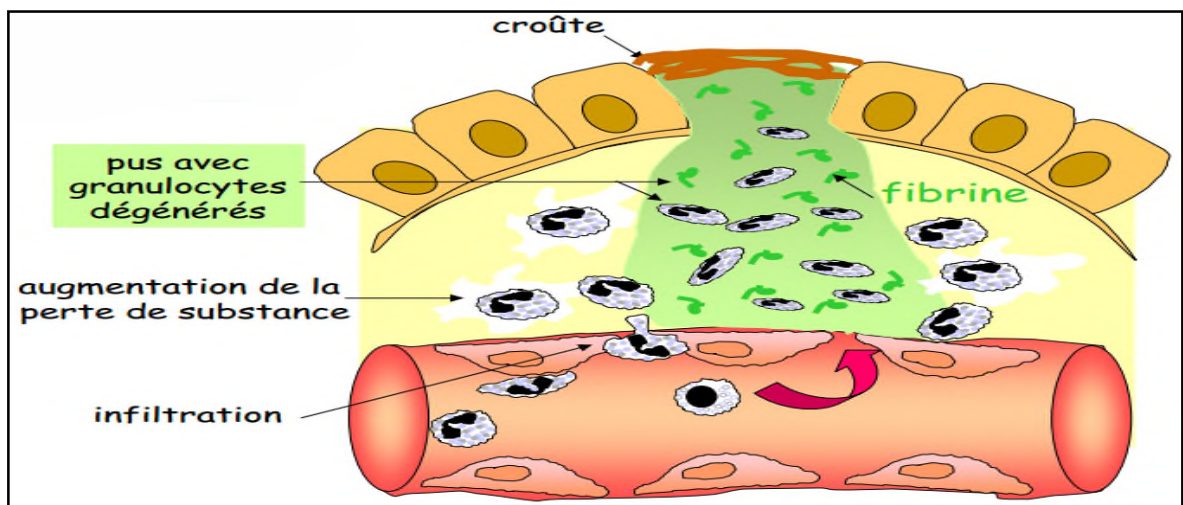


Figure N°5 : Activation des cellules au niveau du tissu lésé (Mathieu et Guimezanes, 2012).

I.2.3.3. Phase de réparation et de régénération tissulaire

Cette dernière phase de réparation dépend du degré de lésion au niveau du tissu et peut prendre 10 à 15 jours. Le retour à l'état normal nécessite une réparation des tissus lésés qui peut se faire par les cellules endothéliales (**Figure N°6**) ou par d'autres cellules si la lésion est plus importante, dans ce cas les macrophages vont participer à la réparation des vaisseaux et les fibroblastes vont produire les protéines de matrice extracellulaire pour permettre la reconstitution du tissu (**Mathieu et Guimezanes, 2012**).

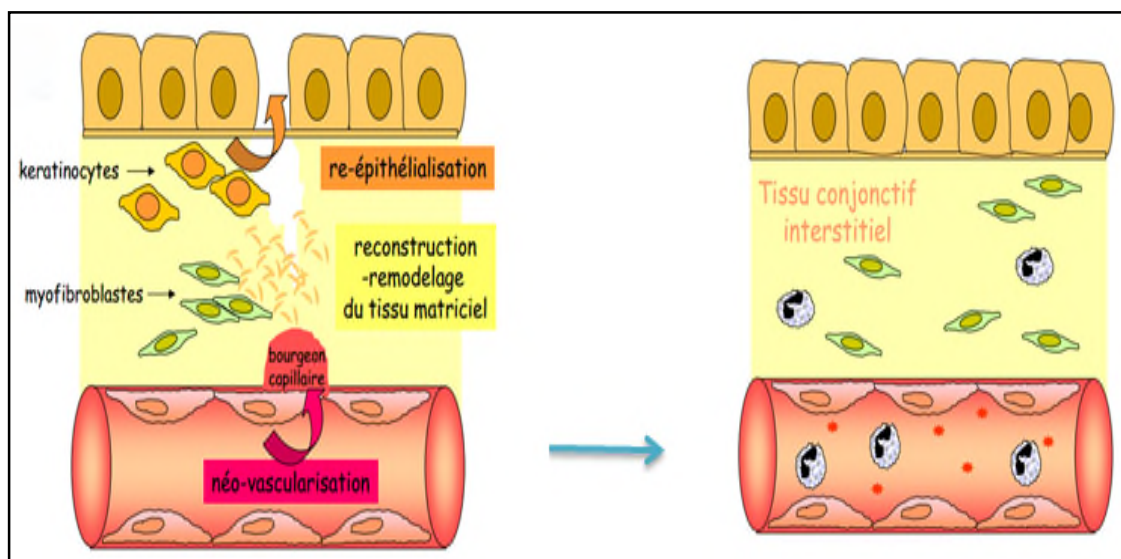


Figure N°6 : Cicatrisation et régénération du tissu lésé (Mathieu et Guimezanes, 2012)

I.2.4. Les anti-inflammatoires

Un anti-inflammatoire est qualifié comme étant tout moyen, substance ou médicament destiné à combattre une inflammation et les maladies qui en résultent de celle-ci (**Nardi et al., 2003**). Les anti-inflammatoires se répartissent en deux classes :

I.2.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques (**Ferradji, 2011**). Toutes les molécules de cette classe ont le même mode d'action. Ce sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) (**figure N°7**).

Cette dernière est une enzyme qui intervient au sommet d'une cascade de réactions aboutissant à la formation de substances impliquées dans l'inflammation et la fièvre (**Turpin et Webber, 2012**).

I.2.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) (**Figure N°7**) sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles, tel que le cortisol et le cortisone, dont ils se distinguent par un pouvoir anti-inflammatoire plus important (**Bannwarth et al., 2005**). Les AIS traversent la membrane cytoplasmique par diffusion simple et se lient à un récepteur spécifique pour former un complexe, ce dernier va traverser la membrane nucléaire et agir sur l'ADN par modification de la transcription et de l'expression des gènes (**Venereol, 2005**). Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (**Ferradji, 2011**).

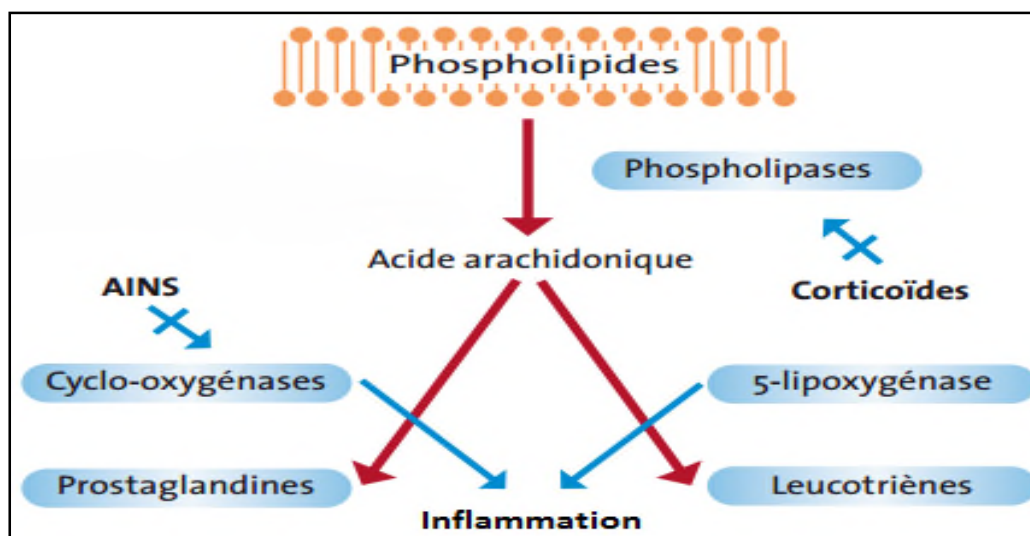


Figure N°7 : Voie d'action des anti-inflammatoires (Turpin et Webber, 2012)

Physiopathologie de la douleur

I.3. La douleur

La douleur est définie comme une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle. La transmission douloureuse est un phénomène complexe, impliquant des mécanismes électrophysiologiques et neurochimiques (**Payen, 2002**).

D'autre part, cette définition nous rappelle que la douleur, quelle que soit son origine, revêt des aspects psychologiques. Cela induit donc qu'elle est une expérience subjective, propre à chacun, et influencée par un certain nombre de facteurs (**Rat, 2014**).

I.3.1. Notion de douleur aiguë et douleur chronique

I.3.1.1. La douleur aiguë

La douleur aiguë est une valeur du signal d'alarme, de symptôme aidant au diagnostic. Généralement, elle décroît lorsqu'un traitement de sa cause est institué. Cette constatation ne dispense en aucune manière du traitement symptomatique de la douleur aiguë. La durée d'évolution est l'élément prépondérant qui permet de distinguer une douleur aiguë d'une douleur chronique (**Radat, 2014**).

I.3.1.2. La douleur chronique

Une douleur chronique est une douleur qui a une durée d'évolution de plus de 3 mois. Elle persiste et devient rebelle aux antalgiques usuels; elle représente pour le patient l'essentiel de sa maladie avec un fort retentissement psychologique et social (**Laroche, 2014**).

I.3.2. Le chemin de la douleur

Le chemin de la douleur emprunte celui du réseau neuronal nociceptif, au travers de la moelle épinière et vers le cerveau. La douleur est détectée par des récepteurs de la nociception qui transforment le stimulus en influx nerveux douloureux (**Ledhé et al., 2009**).

L'information détectée par les nocicepteurs est ensuite relayée par des fibres nerveuses qui arrivent au niveau de la moelle épinière par les racines dorsales puis à partir de la substance grise, le message électrique est transmis par les synapses, à un deuxième neurone qui est le neurone spinothalamique. Ce neurone chemine (**Figure N°8**) dans la substance blanche de la moelle épinière jusqu'au thalamus.

L'influx nerveux parvient au cerveau par le thalamus et le cortex cérébral, où l'information est intégrée, ce qui engendre la prise de conscience et la localisation de la douleur (Gaillard, 2014).

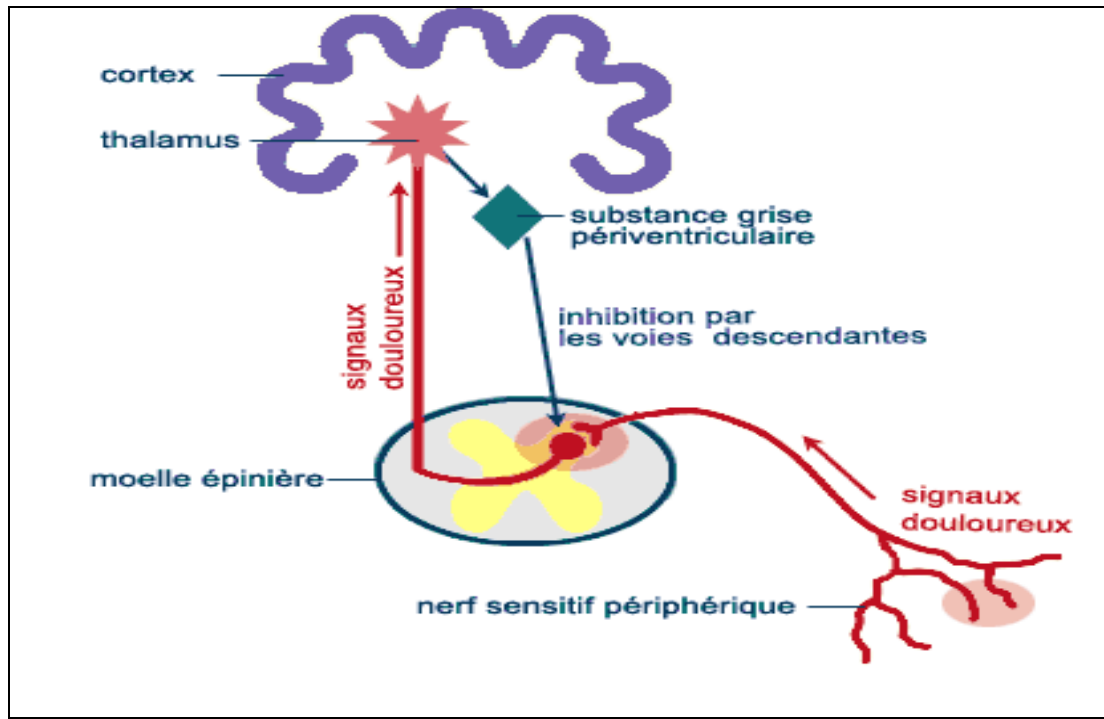


Figure N°8 : Schéma du trajet de la douleur (Gaillard, 2014)

I.3.3. Le mécanisme de la douleur

I.3.3.1. La douleur nociceptive

La douleur nociceptive est causée par une activation des neurones primaires afférents appelés nocicepteurs et par un état d'inflammation en réponse à une lésion ou blessure.

La douleur postopératoire est un exemple de douleur nociceptive. Elle est limitée dans le temps, souvent appelée aigue, remplit une fonction biologique, protège, prévient et rarement accompagnée de signes psychologiques (Nehmé, 2006).

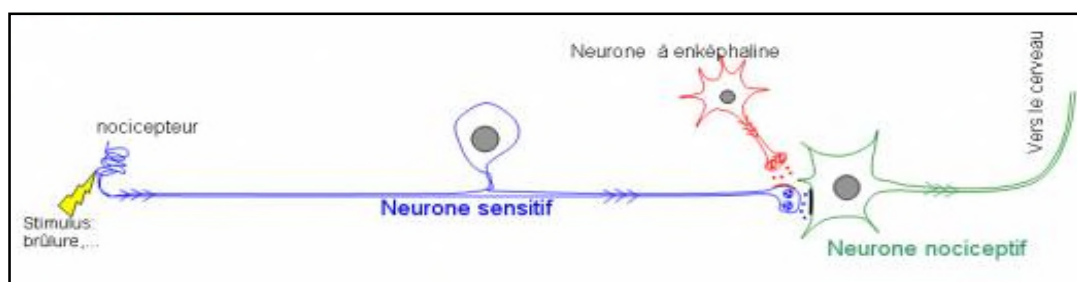


Figure N°9 : Modulation du message nerveux nociceptif (Nehmé, 2006)

I.3.3.2. La douleur neuropathique

Ce sont des douleurs qui peuvent survenir lorsque le système nerveux est lésé dans la partie qui transmet les sensations. Lorsque les fibres nerveuses sensibles sont abîmées, elles sont susceptibles de transmettre des informations erronées et le malade se voit désinformé, il ressent alors des brûlures, des décharges électriques, des démangeaisons, des picotements, des sensations de froid douloureuses et des fourmillements dans des régions du corps qui sont d'apparence normale, pourtant, la douleur est bien réelle (**Laroche et al., 2008**).

Ces douleurs peuvent se manifester en absence de tout stimulus, spontanément ; elles sont alors permanentes, ou par un stimulus peu ou non douloureux mais perçu de façon exagérée (**Aarskorg, 2011**).

I.3.3.3. La douleur psychogène

Les douleurs psychogènes regroupent toutes les douleurs qui ne sont l'on ne sait pas classer dans une des deux catégories précédentes. Ce sont des douleurs sans lésions apparentes. Leur dimension essentielle semble résider dans le psychisme, avec l'intervention de phénomènes psychologiques amplifiant la sensation douloureuse (**Wrobel, 2003**).

I.3.4. Les médiateurs de la douleur

Les stimulations thermiques et mécaniques activent directement les nocicepteurs. Les lésions traumatiques, inflammatoires ou ischémiques vont provoquer la libération par les tissus lésés de substances chimiques (**Figure N°10**).

Ces substances pourront, soit activer directement les nocicepteurs et sont dites algogènes (bradykinines, ions potassium, hydrogène, l'oxyde nitrique, l'histamine et la sérotonine) ou sensibiliser les nocicepteurs à d'autres stimuli (**Rabaud et al., 2013**).

Les prostaglandines et probablement les leucotriènes, jouent un rôle de sensibilisateurs des nocicepteurs agissant sur d'autres substances tel que les peptides impliqués dans la transmission du message douloureux. La substance P est la plus connue comme neuropeptide (neurotransmetteur) et qui joue un rôle primordial dans la nociception et a une action vasodilatatrice à l'origine de l'inflammation algogène.

Il existe d'autres neuropeptides tel que le peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP) et la neurokine (**Rabaud et al.,2013**).

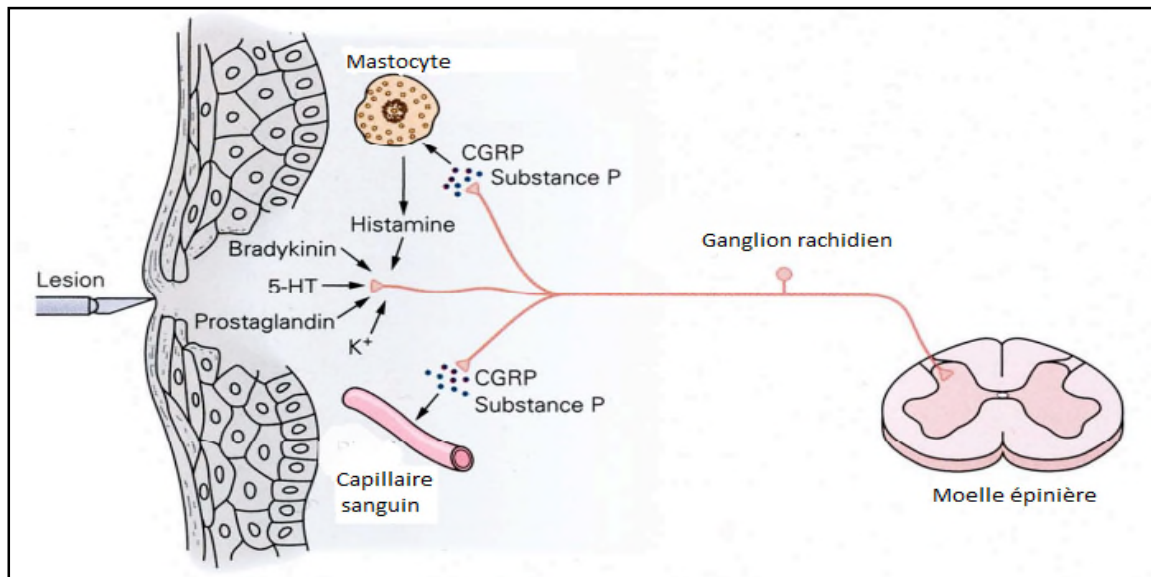


Figure N°10 : Stimulation des nocicepteurs par les algogènes(**Rabaud et al.,2013**)

I.3.5. Les antalgiques

Un antalgique ou analgésique est un médicament utilisé dans la lutte contre la douleur. Il existe plusieurs sortes d'antalgiques qui sont dispensés en fonction du type de douleurs rencontrées.

Ainsi en **1986**, l'**OMS** (Organisation Mondiale de la Santé) a classé ceux-ci en trois paliers :

- Palier I : Antalgiques périphériques pour les douleurs légères à moyennes.
- Palier II : Antalgiques centraux faibles pour les douleurs moyennes à intenses.
- Palier III : Antalgiques centraux forts pour les douleurs très intenses voire rebelle

Selon **Monassier (2005)** Les antalgiques sont repartis en 2 classes:

I.3.5.1. Les antalgiques morphiniques (opiacés)

Les opiacés sont des substances naturelles ou synthétiques dérivées de l'opium, utilisées principalement comme antalgiques. Ils sont largement utilisés pour traiter les douleurs modérées à sévères d'origine cancéreuse ou non cancéreuse.

Les antalgiques opiacés par voie orale réduisent l'anxiété et procurent, de manière très discrète, une sensation de soulagement et de plénitude.

Des effets secondaires immédiats peuvent être associés à une baisse de la tension, un ralentissement du rythme cardiaque, des nausées ou des vomissements, des vertiges, des sueurs, des démangeaisons, une rétention d'urines, une constipation et des spasmes abdominaux (**Roulet et al., 2007**).

I.3.5.2. Les antalgiques non morphiniques

Ce sont les traitements antalgiques simples souvent couplés à une action antipyrétique. Les antalgiques non morphiniques regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques des douleurs dont le mécanisme d'action est indépendant des récepteurs opioïdes. Ils sont classés en trois groupes selon leur profil pharmacodynamique (antalgiques purs, antipyrétiques et antipyrétiques anti-inflammatoires) (**Perrot et al., 2013**).

Plantes médicinales et composés phénoliques

I.4. Plantes médicinales et composés phénoliques

I.4.1. Plantes médicinales

Par définition une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques ou préventifs à l'égard des maladies avec ou sans principes actifs déterminés (**Bruneton, 1999**).

Ces plantes produisent un grand nombre de composés dont leur rôle n'a toujours pas été déterminé.

Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires et parmi ces composés on citera les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance) (**Wichl et Anton, 2003**).

I.4.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production.

Sont des substances chimiques non azotées, caractérisés par au moins un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction (**Hopkins, 2003**).

Plusieurs classifications ont été adoptées. En se basant sur la structure moléculaire et le nombre d'atome de carbone (**Georgé et al., 2005**).

I.4.2.1. Les phénols

Il existe une très grande variété de composés phénoliques, du plus simple comme l'acide salicylique au plus complexe comme les tannins. On suppose que les plantes en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages (**Osborn et al., 2009**).

I.4.2.2. Les flavonoïdes

Ce sont des pigments végétaux, en particulier, de couleur jaune et orange. Les flavonoïdes présents dans nombreuse plantes sont des anti-inflammatoires qui assurent une bonne circulation sanguine.

Ce sont des antiagrégants plaquettaires non toxiques et empêchent l'adhésion du thrombus à la paroi vasculaire (prévention des infarctus) (**Wichtl et Anton, 2003**).

A titre d'exemple, la rutine qui présente dans plusieurs plantes (citron), à comme rôle de renforcer les vaisseaux capillaires (**Larousse, 2001**).

I.4.2.3. Les tanins

Ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau dans l'industrie et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (**Pousset, 1989**).

Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (**Salunkhe et al., 199**).

Matériels et méthodes
II.1. Matériels**II.1.1. Matériel végétal**

La plante sélectionnée pour cette étude est *Galium mollugo* (**Figure N°11 a**), il s'agit d'une plante médicinale algérienne, retrouvée dans la région de Jijel et communément appelée caille-lait blanc ou fouaoua. La partie de la plante utilisée pour cette étude est la sommité fleurie (**Figure N°11 b**).

- **Classification de la plante**

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rubiales
Famille	Rubiaceae
Genre	<i>Galium</i>
Espèce	<i>Galium mollugo</i>
Nom commun	Caille-lait blanc, Gaillet mollugin
Nom vernaculaire arabe	Mokhatiralhalib
Nom targui ou berbère	Fouaoua

- **Description botanique**

Le caille-lait blanc est une plante à tige quadrangulaire robuste, longue de 15 centimètre à 1 mètre.

Ces feuilles sont verticillées par 6 à 9, assez courtes tant dis que ces fleurs sont blanches en inflorescence à 4 pétales en croix partant de l'aisselle des feuilles et les dépassants longuement. La plante possède aussi des tiges souterraines traçantes (**Eugene et al., 1828 ; Lonchamp, 2000; Le Driant, 2008**).

- **Habitat**

Espèce euro-asiatique, commune dans toute l'Algérie septentrionale, se rencontrant dans les lisières, les haies, les broussailles, chemins, prairies et pentes jusqu'à 2100 mètre. Aime les sols secs à mi-secs, alcalins et riches en oligoéléments (**Baba Aissa, 2000**).

- **Principe actif**

Parmi les principes actifs de la plante on a l'acides poly phénolique, les tanins, les glucosides, l'acides oxalique, les alcaloïdes, les flavonoides, l'aspéruloside (**Baba Aissa, 2000; Said et al., 2002**).

- **Usage**

Plante autrefois utilisée pour cailler le lait et comme teinture par l'extraction d'un colorant naturel rouge de ses racines (**Lonchamp, 2000**). Dans la médecine traditionnelle, la plante est indiquée contre l'obésité (tisane) et l'épilepsie (**Cazin, 1868 ; Cheref, 1999**).



Figure N°11 : *Galium mollugo*(a) et ses sommités fleuries (b)

II.1.2. Matériel animal

Des souris consanguines (**Figure N° 13**), mâles et femelles, dont le poids varie entre 18 et 25g, ont été utilisées lors de l'étude *in vivo*. Ces animaux ont été procurés auprès de l'animalerie de l'université de Bejaïa (**Figure N°12**). Les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation. L'aliment standard a été acheté auprès de l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) de Bejaïa.

Avant chaque expérimentation, les souris ont été mises à jeun pendant 16 heures. Puis nous l'avons pesé, marqué et les reparti des différents lots.



Figure N°12 : Lieu d'élevage des souris au laboratoire d'expérimentations animal



Figure N°13 : souris consanguine

II.1.3 Appareillages et réactifs

Les différents appareils et réactifs utilisés pendant les tests sont illustrés dans le **tableau III**.

Tableau III: Différents appareils et réactifs utilisés

Appareillages	Réactifs
Balance analytique de précision	Solution de carragénine
Balance électrique (RADWAG)	Diclofénac sodique
Micropipettes	Solution de NaCl (0.9%)
Agitateur magnétique (VELPScientifica)	Eau distillée
Sonde de gavage	Acide acétique (0,6%)
Seringue de 1 ml graduée	Acide acétylsalicylique
Pléthysmomètre (Almemo 2450)	ABTS
Spectrophotomètre à UV (SHIMADZU)	Méthanol et éthanol
pH metre	Persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$)
Cuve en quartz	Trolox
Chronomètre	Xanthine et xanthine oxydase
Thermomètre	Chloroforme

- **Pléthysmomètre**

C'est un appareil (**Figure N°14**) de mesure du volume de la patte de la souris soit en valeur absolue, ou en valeur relative par comparaison avec la patte non traitée. Il est composé d'une cellule de mesure en perspex contenant de l'eau dans laquelle on plonge la patte de la souris. La différence du niveau de l'eau après immersion de la patte est mesurée par un transducteur de conception, elle est affichée sur un appareil numérique.

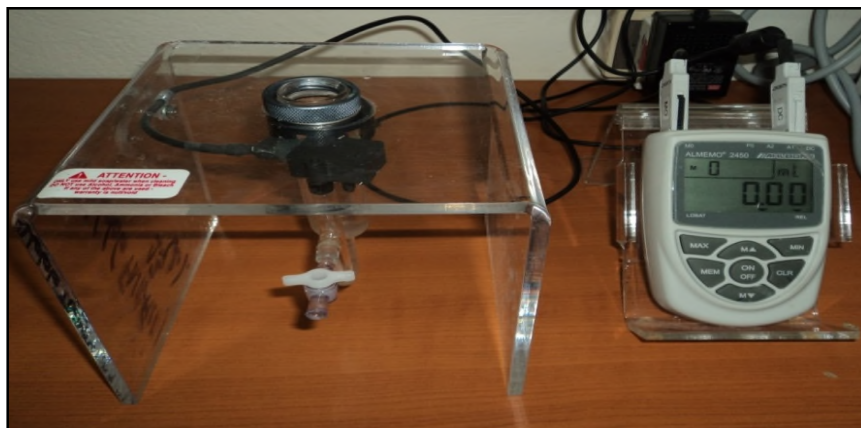


Figure N°14 : Le pléthysmomètre

II.2.Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits

- **La récolte**

Les sommités fleuris du *Galium mollugo* ont été récoltés au mois de juin (2013), à la wilaya de Jijel, dans un endroit naturel loin de tout contact avec la pollution, et ce pour éviter toute modification chimique de la plante.

- **Le séchage**

Les sommités fleuris du *Galium mollugo* ont été séché à température ambiante dans un endroit protégé de la lumière et de l'humidité, puis il s'en est suivi un séchage de 24h à l'étuve (37°C), afin d'éliminer toute trace d'humidité.

- **Le broyage**

A l'aide d'un broyeur électrique les sommités fleuris de la plante ont été broyées afin d'obtenir une poudre fine.

- **Le tamisage**

La poudre obtenue a été tamisée pour récupérer une poudre très fine d'un diamètre inférieur à 63µm, cette poudre a été préservée dans des flacons en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

- **L'extraction**

Une extraction sélective à plusieurs solvants a été entreprise selon le protocole de **Chiang et al. (1993)**, illustré en **figure N°15** avec quelques modifications.

La poudre fine de la plante *Galium mollugo* a été macérée dans l'éthanol à 96% pendant une journée, à un rapport de (1 :4). Après décantation de la solution, une centrifugation de 1500g/min a été effectuée, ensuite le surnageant a été versé dans des cristallisoirs afin de subir un séchage à l'air libre. La pesée de l'extrait a été prise après stabilisation du poids sec de l'extrait. La deuxième étape de l'extraction a été réalisée par un mélange d'acétate d'éthyle et d'eau avec un rapport de 3 :1(v/v).

Après 24 heures de macération, la décantation subséquente a donné naissance à deux phases distinctes (organique et aqueuse). L'extrait obtenu dans la phase organique (acétate d'éthyle) a été mise dans un mélange chloroforme en plus de l'eau suivant la proportion 3 :1 (v/v), les phases aqueuses résultante ont été séparé et sécher de la même manière que le premier extrait (éthanolique).

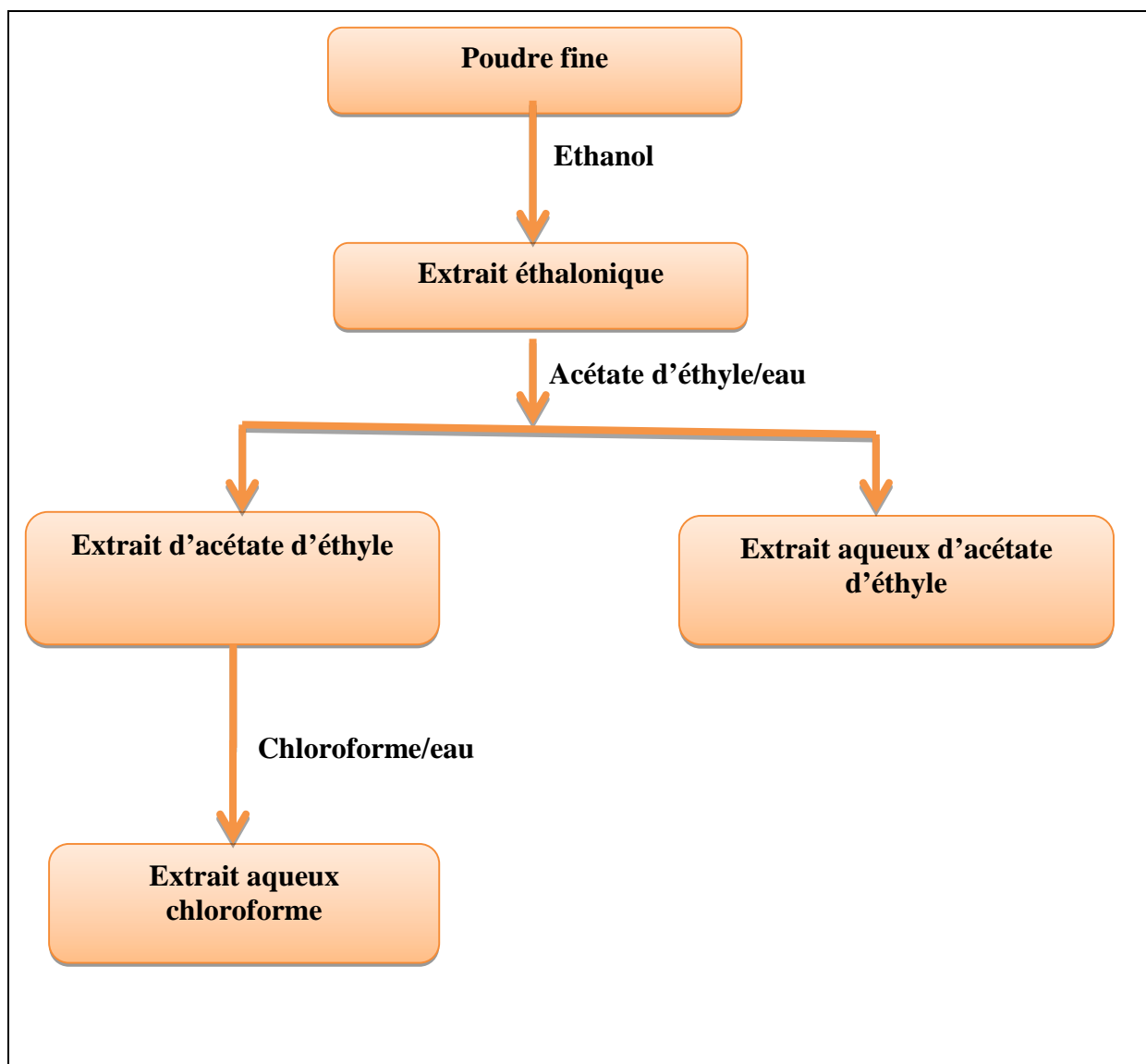


Figure N°15: Protocole d'extraction des composés actifs à partir de la poudre de plante (Chiang et al., 1993)

II.2.2. Activité contre le radical ABTS^{•+}

L'effet de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* par le radical ABTS^{•+} a été mesuré on utilisant la méthode de **Re et al., 1998**. Cette méthode tire profit de la décoloration de la solution de l'ABTS lors de sa réduction par les antioxydants (**Figure N° 16**).

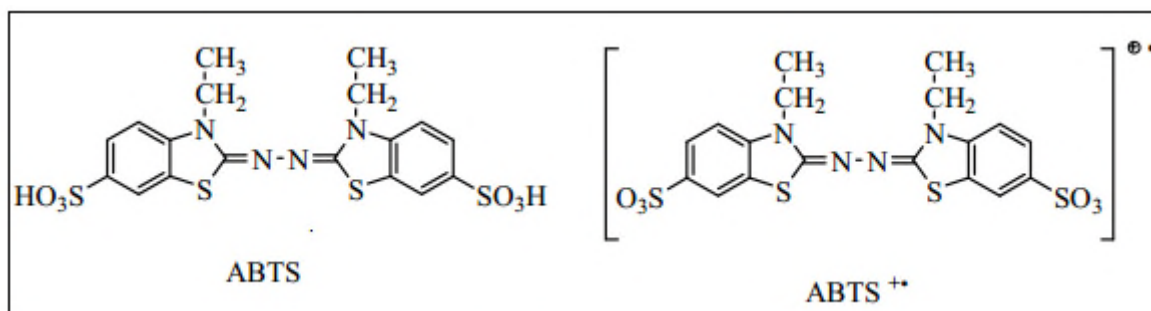


Figure N° 16: Structure du 2,2'-azobis-(ethylbenzothiazoline-6-sulphanique) : forme réduite ABTS et forme radical cation ABTS^{•+} (**Prouillac, 2010**)

La préparation de la solution ABTS^{•+} consiste à dissoudre une quantité de la poudre d'ABTS dans une solution de persulfate de potassium, cette dernière a été préparé avec une poudre de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) dissout dans l'eau distillé, en diluant la solution préparée par le méthanol (95%) pour avoir une absorbance de 0,7 à 734 nm. L'extrait a été préparé dans le méthanol (95%) à une concentration de 100 µg/ml.

Un volume de 10 µl de la solution d'extrait a été ajoutée à 1ml du radical ABTS^{•+}, l'absorbance a été mesuré par le spectrophotomètre à 734 nm pendant 6 minutes, tous les tests ont été réalisés en trois répliques.

Le pourcentage de l'activité de l'extrait à piéger le radical ABTS^{•+} a été calculé à partir de la moyenne des absorbances des trois essais obtenus, selon la formule suivante :

$$(\%) \text{ d'activité scavenging du radical ABTS}^{\bullet+} = [A_{\text{Cont}} - A_{\text{Test}}] / A_{\text{Cont}} \times 100$$

A_{Cont} : l'absorbance du contrôle qui consiste en la solution du ABTS^{•+}.

A_{Test} : l'absorbance du ABTS^{•+} en présence de l'extrait.

II.2.3. Test de l'activité anti-inflammatoire

➤ *In vitro*

II.2.3.1. Etude de l'activité inhibitrice de la Xanthine Oxydase

- **Préparation des solutions tests**

La solution extrait est préparée comme suit : 10mg d'extrait brut dissous dans un 1 ml de méthanol. Plusieurs molécules de référence ont été testées pour leur effet inhibiteur sur la Xanthine oxydase (XO). Les solutions ont été préparées de la même façon que les solutions extraites.

- **Préparation de la solution tampon**

Tampon Bicine (50 mM, pH : 8,3).

- **Préparation de la solution substrat (xanthine)**

Une quantité de 0,0076g de xanthine a été dissous dans 2 ml de NaOH (0,2M), ajusté le volume jusqu'à 50 ml avec la solution tampon.

- **Etude de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase par les extraits préparés**

L'activité de la xanthine oxydo-réductase (XOR) est mesurée par spectrophotométrie par la détermination de l'absorbance à 295nm caractéristique de l'absorbance de l'acide urique, produit de la XOR. L'effet inhibiteur des solutions tests sur l'activité XO est déterminé par la diminution de l'absorbance comparée au contrôle.

- **Contrôle (sans extrait)**

Un volume de 20 μ L de la solution enzymatique est additionné à une solution contenant 1760 μ L de tampon bicine (50mM, pH : 8,3), 20 μ L de méthanol et 200 μ L de xanthine, la concentration de l'acide urique est estimée à 295 nm chaque seconde pendant 3 min, la vitesse caractéristique de chaque substrat est déterminée par le calcul de la moyenne des pentes $\Delta A(\text{nm}) / t(\text{sec})$ des trois essais réalisés. Le blanc est préparé de la même façon sans la solution enzymatique.

- **Echantillon test (avec inhibiteur)**

Un volume de 20 μL de la solution enzymatique est additionné à une solution contenant 1760 μL du tampon bicine (50 mM, pH : 8,3), 20 μL d'extrait (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et 200 μl de solution xanthine. Le blanc est préparé de la même façon mais sans la solution enzymatique.

L'activité inhibitrice (%) de la XOR est déterminée par la mesure de la diminution de l'absorbance à 295nm caractéristique de la diminution de la génération de l'acide urique :

$$\% \text{ d'inhibition} = (1 - \Delta A \text{ test} / \Delta A \text{ contrôle}) \times 100$$

ΔA **contrôle** est le changement d'absorbance par seconde pour le test contrôle (sans Inhibiteur).

ΔA **test** est le changement d'absorbance par seconde pour l'échantillon test (avec Inhibiteur).

- **Détermination du type inhibition**

Le mode d'inhibition de l'extrait testé ayant exhibé une activité inhibitrice élevée sur la XO a été déterminé par le graphe de Lineweaver-Burk utilisant différentes concentrations de xanthine (125, 100, 75, 50, 25 μM), et une seule concentration de l'extrait (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

➤ ***In vivo***

II.2.3.2. Test de l'œdème plantaire induit chez la souris

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire du traitement par l'extrait aqueux chloroforme des sommités fleuries du *Galium mollugo*, un modèles d'inflammation aiguë a été utilisés dans les tests *in vivo* décrit par **Winteret al.(1962)** et **Adeyemi et al.(2002)**, selon laquelle l'inflammation est induite par injection sous cutané dans la patte arrière gauche de la souris (**Figure N°17**), d'une solution de carragénine préparée dans une solution de NaCl(0.9%).

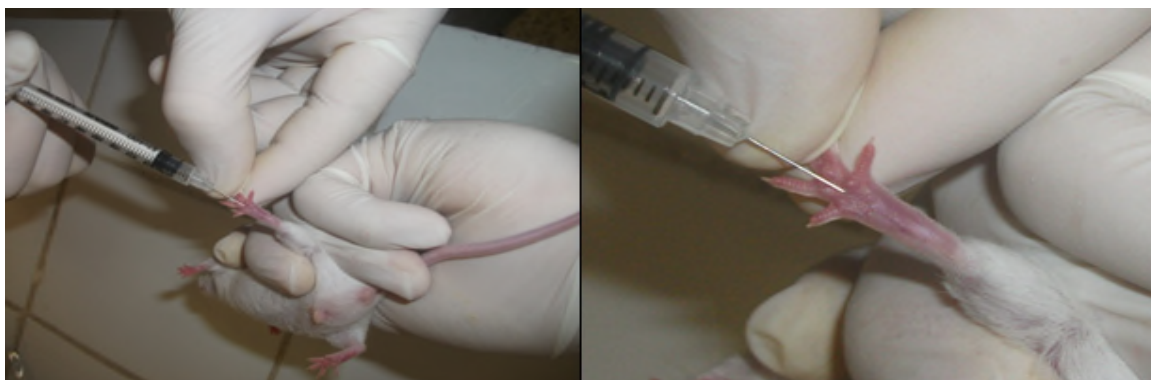


Figure N°17 : Injection de la carragénine au niveau de la patte postérieure gauche d'une souris

Un effectif de 50 souris a été réparti en 05 lots dans chaque lot contient 10 souris. Les traitements de chaque lot sont effectués par gavage à l'aide d'une sonde gastrique (10ml /Kg) une heure avant l'injection de la solution de la caragénine (**Figure N°18**).

-Le lot contrôle négatif (Témoin) : Les souris de ce lot reçoivent de l'eau physiologique (NaCl à 0,9%).

-Le lot contrôle positif (standard) : Les souris de ce lot reçoivent un anti-inflammatoire de référence qui est le Diclofénac sodique à une concentration de 50mg/Kg. Ce dernier a été dissout dans le (NaCl à 0,9%).

-Le lot test (Extraits) : reçoivent l'extrait aqueux chloroforme à tester à raison de concentrations de 100, 150 et 200 mg/Kg dissous dans le (NaCl à 0,9%).

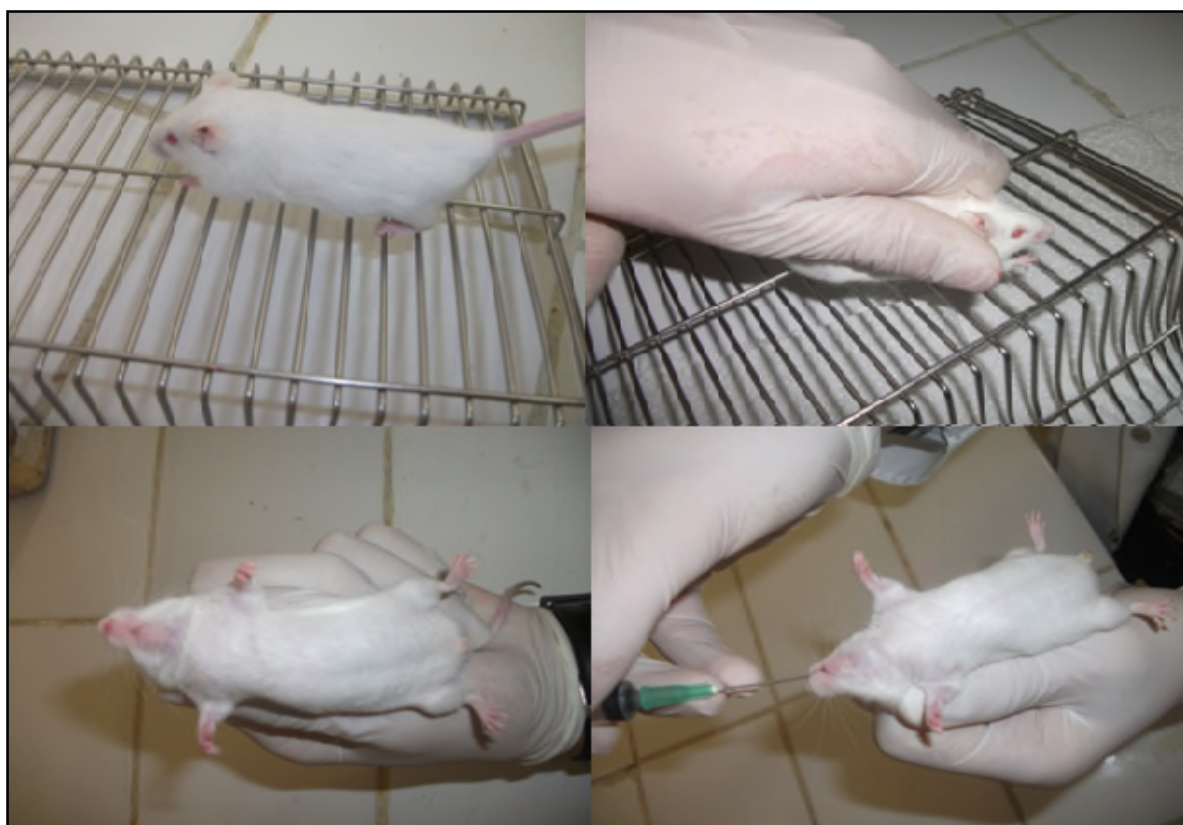


Figure N°18 : Les différentes étapes d'une administration intra-gastrique

A l'aide du pléthysmomètre, le volume de la patte arrière gauche de la souris a été mesuré avant l'induction de l'œdème par émersion dans l'eau distillée contenu dans la cellule de l'appareil (**Figure N°19**), puis après injection de la carragénine, les volumes de la patte seront mesurés à chaque heure durant une période de 5 heures puis à 24 heures.

L'émersion de la patte provoquera alors un déplacement du volume d'eau de la cellule de l'appareil, ce dernier correspond au volume de la patte qui sera traduit et enregistré par le pléthysmomètre (Zhu *et al.*, 2011).



Figure N°19 : Mesure de la patte arrière gauche de la souris par le pléthysmomètre

II.2.4. Etude de l'activité analgésique

II.2.4.1. Test de writhing

L'effet analgésique des extraits a été évalué suivant le nombre de contorsions abdominales induites par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique (0,6 %) (**Figure N°20**) suivant la méthode décrite par **Sawadogo et ses collaborateurs en 2006**.

Des lots de 08 souris ont été constitués. Le lot témoin blanc a reçu de l'eau physiologique, par contre les autres lots ont reçu l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* à des concentrations de 100, 150 et 200 mg/kg et l'acide salicylique.

55 minutes après administration des extraits, les animaux ont reçu par voie intrapéritonéale l'acide acétique (0,6 %) à la dose de 20 ml/kg (**Ouédraogo et al., 2012).**

Cinq minutes après l'injection de l'acide acétique, le nombre de contorsion (**Figure N°21**) a été compté chez chaque souris durant 30 minutes. L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[1 - \frac{Wt}{Wb} \right] \times 100$$

Wb représente la moyenne du nombre de contorsions des souris du lot témoin blanc.

Wtest la moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.

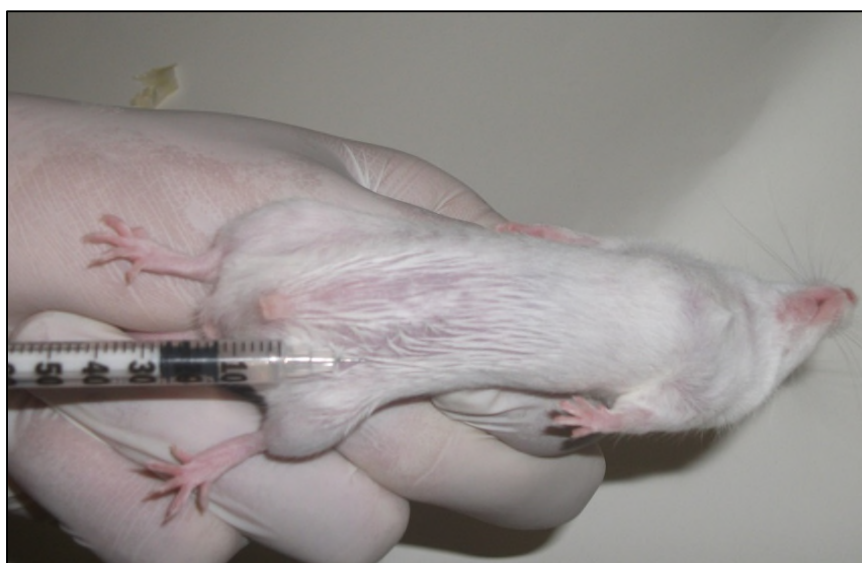


Figure N°20 : Injection de l'acide acétique par voie intrapéritonéale

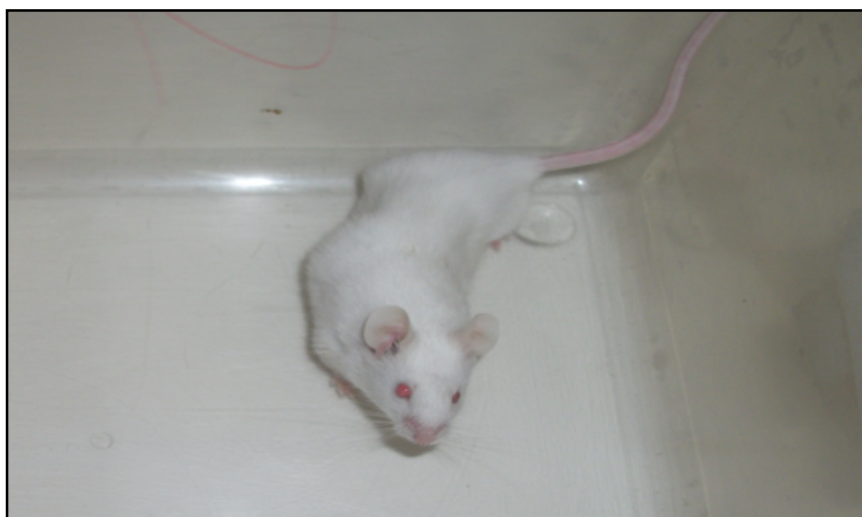


Figure N°21: Contorsion abdominale chez la souris

II.2.4.2. Test de l'immersion de la queue

Pour évaluer le mécanisme central d'activité analgésique la méthode d'immersion de la queue sera utilisée. Cette méthode est similaire à celle décrite par **Mohsinet ses collaborateurs** en **2012**. Les réactions de douleur seront produites par des stimuli thermiques, en plongeant le bout de la queue de la souris dans un bain d'eau chauffé à $54\pm 1^\circ\text{C}$ (**Figure N°22**).

Le temps de retrait de la queue de l'eau chaude (en second) sera noté comme le temps de la réaction et il sera mesuré à 30, 60, 90, 120 et à 180 min après le gavage.

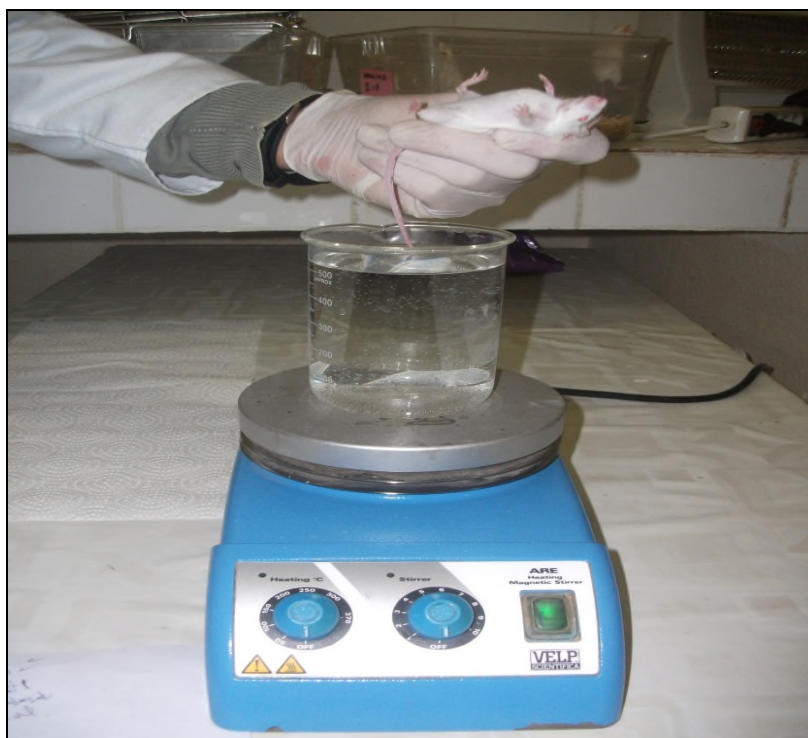


Figure N°22 : Test de l'immersion de la queue

II.2.5. Analyse statistique

Les données sont présentées comme moyenne \pm SEM. Les analyses ont été faites grâce au logiciel Prism Graph Pad 5.03 (Graph Pad, San Diego, CA).

Toutes les données étaient normalement distribuées. Des comparaisons multiples dans des groupes ont été exécutées par des mesures répétées ANOVA. La signification statistique a été acceptée à $p < 0,05$, $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Résultats et discussions

III.1. Activité anti-ABTS^{•+}

La réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium génère le radical ABTS^{•+} (2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphanique) de couleur bleu-vert qui à un maximum d'absorbance à 734 nm (Hung et al., 2005; Re et al., 1999; Boukhari et al., 2013). En présence d'un antioxydant la couleur s'éclairci et devient incolore (Ruch et al., 1989).

Les résultats du test ABTS effectué par les différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo* et de la quercétine à des concentrations de 10, 25, 50, 75 et 100 µg/ml sont représenté dans la **Figure N°23** et **Figure N°24**.

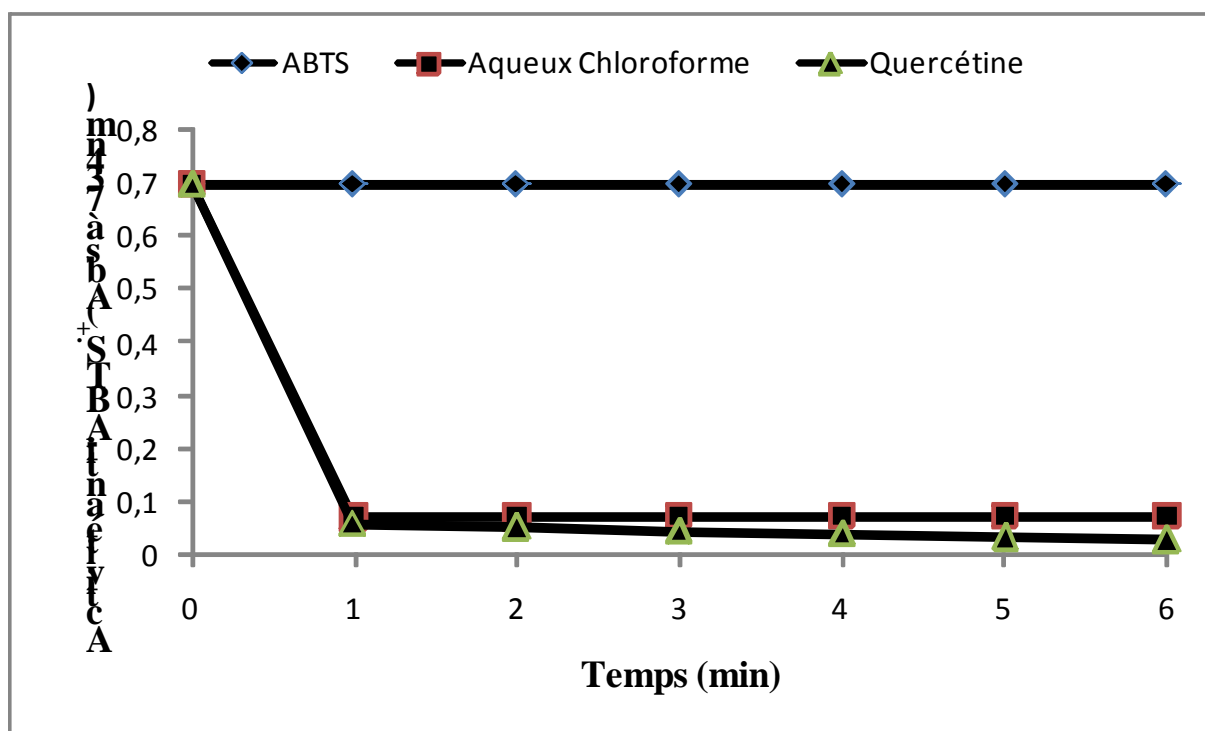


Figure N°23 : Activité anti- ABTS^{•+} de l'extrait aqueux du *Galium mollugo* à une concentration en fonction du temps à une concentration de 100µg/ml.

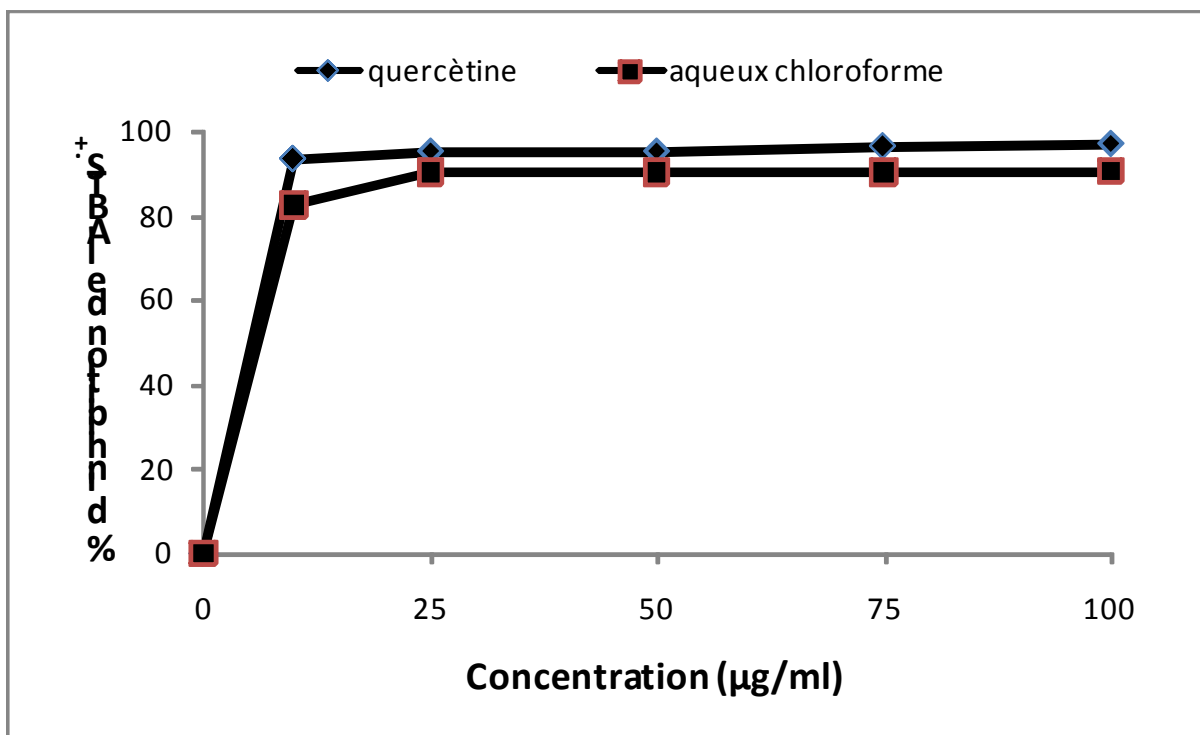


Figure N°24 : Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme de *G.mollugo* sur la réduction du radical ABTS*+

Les résultats montrent que, les différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo*, ont un très bon pouvoir anti-radicalaire ($IC_{50} = 2,87 \mu\text{g/ml}$ contre $1,17\mu\text{g/ml}$ pour la quercitrine). En remarque que l'activité de cette extrait augmente en fonction de la concentration (varie de 82,28% à $10 \mu\text{g/ml}$ jusqu'à 90,02% à $25 \mu\text{g/ml}$). Cet effet se stabilise à partir de la concentration de $25\mu\text{g/ml}$. Cette bonne activité est peut être due a la richesse de cet extrait en composés capable de réduire le radicale ABTS*+ tel que les composés phénolique et les flavonoïdes.

Ce résultat est en accord avec une étude menée par Milić et collaborateurs en 2013, qui a montré que l'activité antioxydant contre le radical DPPH de *Galium mollugo* est due aux flavonoides contenus dans son extrait. Et ces molécules sont concédérés comme des puissants agents réducteurs capables de réagir directement avec les espèces chimiques réactives en formant des produits moins réactifs (Derbel et Ghedira, 2005).

Campos et Lissi, 1999 a montré que l'activité antioxydant des composés peut être due à la nature chimique de la molécule.

III.2. Activité anti-inflammatoire

III.2.1. Test de l'inhibition de la XO (*In vitro*)

L'étude cinétique de l'enzyme en présence de la xanthine a révélé une augmentation de l'absorbance à 295nm en fonction du temps pendant 3mn, qui caractérise l'apparition de l'acide urique suite à une hydroxylation oxydative de la xanthine par la XO, ce qui confirme la présence de l'activité XOR dans la solution enzymatique (**Figure N°25**).

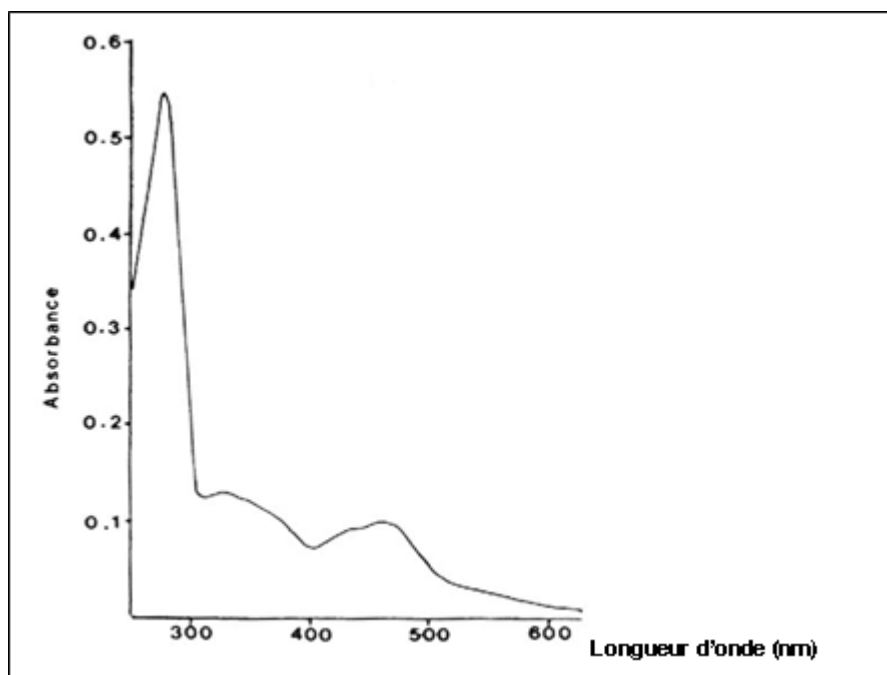


Figure N°25: Spectre de balayage de la solution XOR purifiée.

L'inhibition de la XO par un composé peut avoir un double rôle en plus de la diminution de la concentration de l'acide urique donc traiter plusieurs maladies comme, les maladies inflammatoires (**Borges et al., 2002**), l'inhibition de cette enzyme peut prévenir les maladies liées au stress oxydant en inhibant la formation des ERO (**Favier, 2003**).

Nous avons étudié le mode d'inhibition de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium Mollugo* et cela après avoir testé l'effet de différentes concentrations d'extrait (**Figure N°26**) dans le but de déterminer l'IC₅₀.

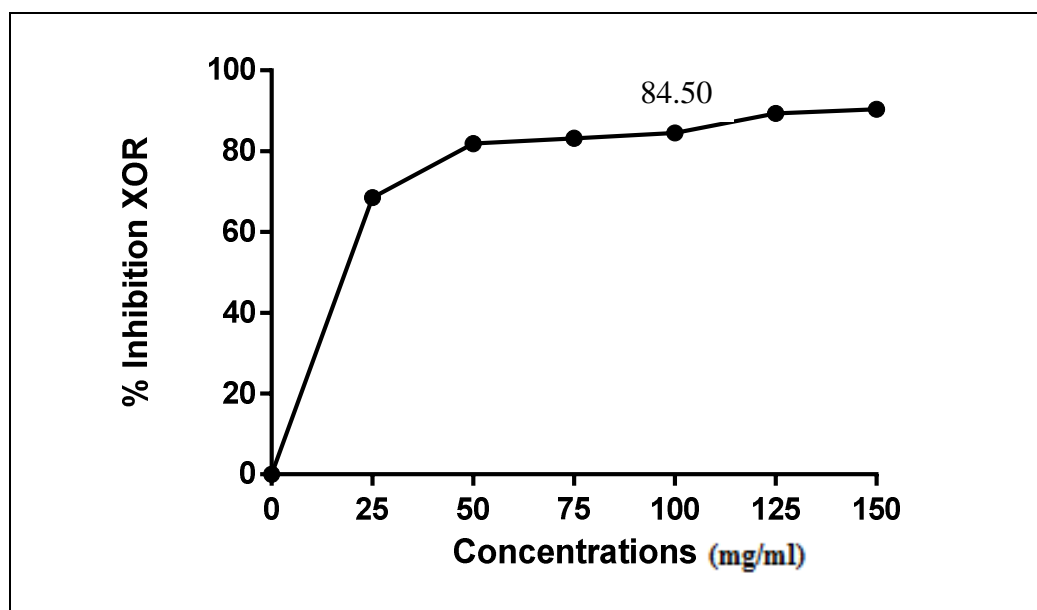


Figure N°26 : L'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de chloroforme du *Galium mollugo*

D'après la figure N°26, on remarque l'augmentation de l'activité inhibitrice des extraits aqueux chloroforme du *Galium Mollugo* avec l'augmentation de la concentration de ces derniers, avec un pourcentage de $84.50 \pm 0.0002\%$ à une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$, qui est inférieur à celle enregistrées par l'allopurinol ($98.18 \pm 0.3\%$) et quercetine ($91.47 \pm 0,2\%$). Ces molécules ont été décrites comme de puissants inhibiteurs de la XO (Masayoushi et al.1985 ; Kong et al. 2000).

A noter aussi que l'activité est dépendante de la concentration ($IC_{50} = 20,33 \mu\text{g/ml}$), l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* s'est révélé actif à des concentrations faibles ($81,84 \pm 0.0001\%$) à $50 \mu\text{g/ml}$.

Mersereau et Ditommaso, ont révélé en 2002 la présence de flavonoïdes, coumarines et acides phénoliques dans les extraits de *Galium mollugo*. D'après Tamas et ses collaborateurs en 2006, cette plante possède deux flavonoïdes hétérosides. Une autre étude menée par Milic et ses collaborateurs en 2013 a montré que les extraits de *Galium mollugo* ont une teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Plusieurs études ont prouvé l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur la XO (**Masayoshi et al. 1985 ; Havlik et al. 2010**). L'activité inhibitrice de la XO par les flavonoïdes est due à leur richesse en groupements hydroxyles, les études de corrélation moléculaire entre la structure de la molécule et l'activité anti-XO a montré l'importance des groupements hydroxyles qui participent aux liaisons hydrogènes et aux interactions électrostatiques entre les inhibiteurs et le site actif de la XO (**Da Silva et al. 2004**). Ces composés se concentrent surtout au niveau des phases aqueuses (**Berboucha et al., 2010**). Ainsi, on peut suggérer que la présence des composés tel que les flavonoïdes et les acides phénoliques dans l'extrait de la plante testée est en partie responsable de l'activité anti-XO.

- **Détermination de type d'inhibition**

La cinétique de l'enzyme en présence de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* a été étudiée en utilisant les parcelles doubles réciproques de Lineweaver-Burk (**Figure N°27**).

Le type d'inhibition est déterminé par les différentes concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 125 μM) de la xanthine et celle de l'extrait à 100 $\mu\text{g/ml}$.

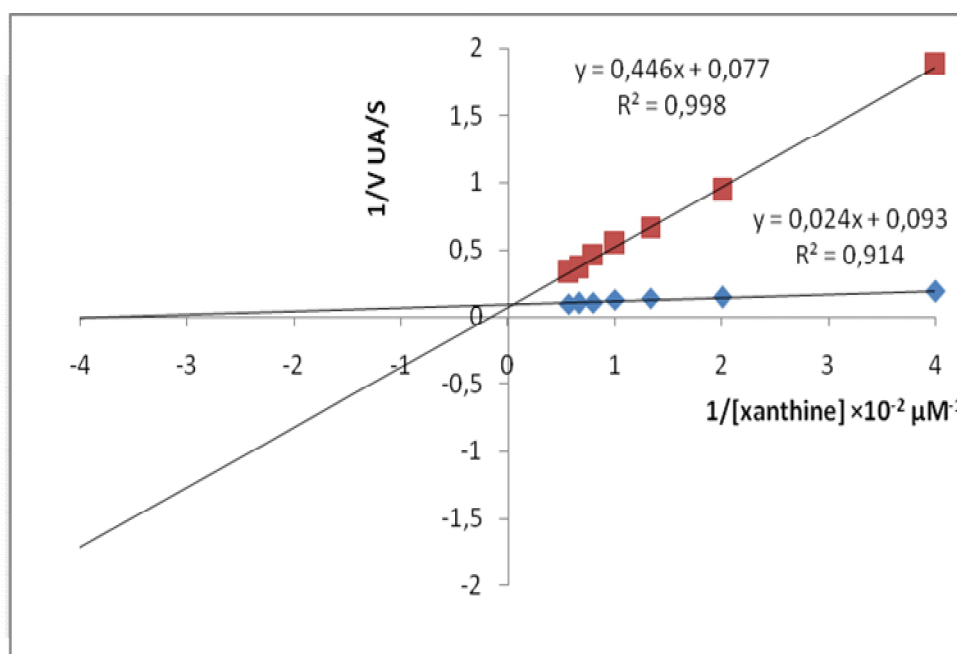


Figure N°27: Représentation de Lineweaver et Burk de l'inhibition de la XO par l'extrait aqueux chloroforme de *Galium Mollugo*.

Une inhibition de type compétitive a été enregistrée par l'extrait aqueux chloroforme, caractérisé par l'empêchement de la formation de la liaison enzyme-substrat, concurrentement à cette dernière, il y a une liaison enzyme-inhibiteur qui aboutit à un complexe enzyme-inhibiteur (E-I) inactif. La constante de dissociation de ce complexe E-I, soit K_i est définie par rapport aux concentrations de l'enzyme libre, de l'inhibiteur (extrait) et du complexe E-I.

D'après la **figure N° 27**, l'extrait peut se lier directement au site actif de XO et de concurrencer avec le substrat de la xanthine pendant la catalyse.

Selon **Lin et son équipe (2002)**, ont montrés que les flavonoïdes tels que la quercetin, myricetin et apigenin, présentent des modes d'inhibitions de type compétitif, donc nos résultats peut être due a la présence de l'une de ces molécules, se qui est en accord avec une étude mené par **Milic et ses collaborateurs (2013)** qui a montré la richesse du *Galium Mollugo* en cette classe de composés.

III.2.2. Test de l'œdème plantaire (*In vivo*)

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo*, a été évaluée par la mesure et l'observation des volumes des pattes des souris (**tableau IV**), ce qui permet de calculer le pourcentage d'augmentation de l'œdème en fonction du temps (**Figure N°28**) et le pourcentage d'inhibition des traitements anti-inflammatoire (**Figure N° 29**).

Tableau IV : Effet de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo* et du diclofénac sur l'œdème induit chez la souris par injection de la carragénine.

Traitements	Dose (mg/kg)	Volume de l'œdème						
		Av inj	1h	2h	3h	4h	5h	24 h
Control	-	0,15±0.01	0,19±0.02	0,22±0.02	0,23±0.02	0,22±0.01	0,21±0.03	0,20±0.03
Diclofénac sodique	50	0,17±0.02	0,20±0.02	0,22±0,03	0,20±0,03	0,19±0,02	0,18±0,02	0,17±0,02
Aqueux Chloroforme	100	0,15±0.02	0,18±0.02	0,20±0,02	0,20±0,02	0,18±0,01	0,18±0,02	0,16±0,02
	150	0,15±0.03	0,19±0,02	0,21±0,02	0,20±0,03	0,19±0,02	0,19±0,02	0,18±0,02
	200	0,15±0.02	0,19±0,02	0,22±0,02*	0,21±0,02	0,19±0,02	0,18±0,02	0,16±0,03

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM, n=15 dans chaque lot. Av inj : avant injection.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire obtenus ont été comparés à ceux du diclofénac et à ceux du contrôle ayant reçu le sérum physiologique. L'évolution de l'inflammation pour les différents groupes est représentée par la **figure N°28**. Nous constatons que l'inflammation causée par la carragénine augmente en fonction du temps, elle s'élève de $25,92 \pm 1,52\%$ à $41,16 \pm 1,92\%$ dans les quatre premières heures, mais une légère diminution a caractérisée les heures suivantes ($23,09 \pm 1,76\%$ à la sixième heures).

L'administration du diclofénac (50 mg/kg) prévient l'évolution de l'inflammation au niveau plantaire de la patte de la souris à la deuxième et à la troisième heure après l'administration de la carragénine (respectivement de $33,3 \pm 0,7\%$ et de $36,9 \pm 0,7\%$).

L'administration de l'extrait aqueux chloroforme aux doses de 100, 150 et de 200 mg/kg prévient l'œdème plantaire chez la souris à partir de la deuxième heure du traitement.

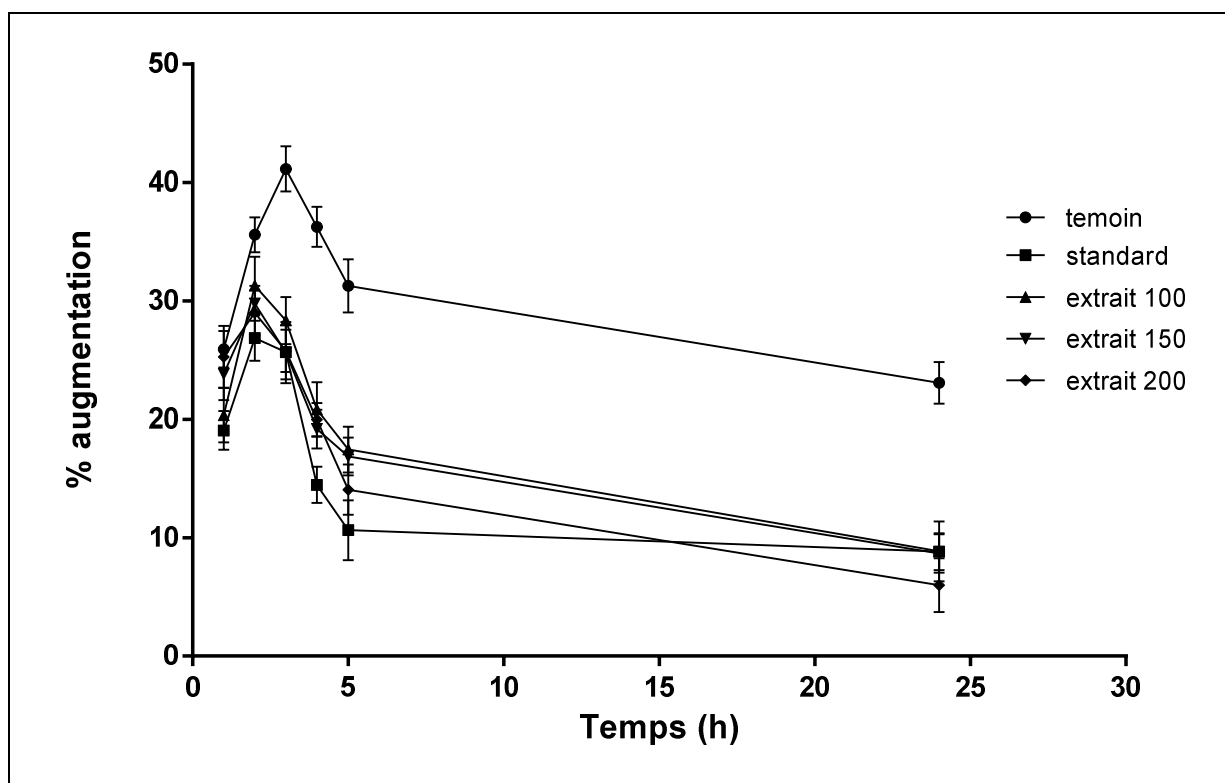


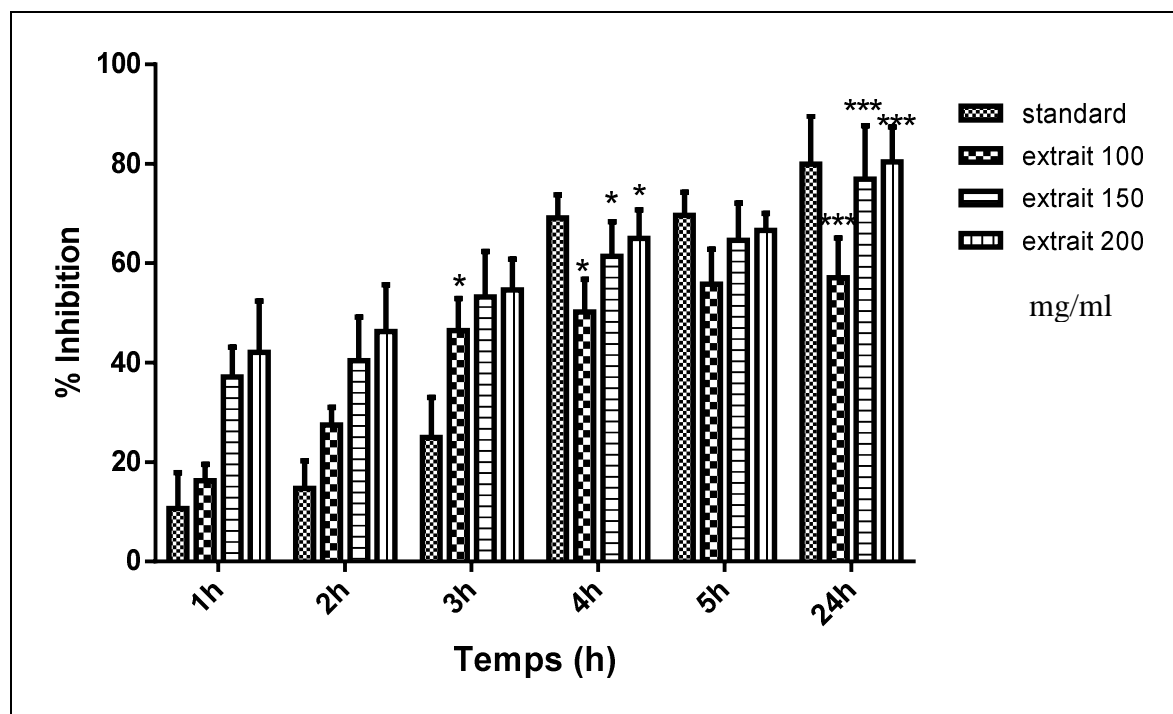
Figure N°28 : Pourcentage d'augmentation de l'œdème, en présence de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo* et le diclofénac

Le traitement avec l'extrait aqueux chloroforme aux doses de 100, 150 et 200 mg/kg provoque un effet inhibiteur de l'inflammation important et significativement différent du contrôle ayant reçu le sérum physiologique (**figure N° 28**).

A la troisième heure, l'extrait aqueux chloroforme à la dose de 100 mg/kg montre un pourcentage d'inhibition de $46,45 \pm 12,46$ % significativement différent des autres groupes traités. Tandis qu'à la quatrième heure, le diclofénac est plus significative ($69,08 \pm 4,63\%$) que l'extrait aqueux de 100 et 150mg/kg avec un pourcentage de $50,16 \pm 6,60\%$ mg/kg, $61,37 \pm 7,02\%$, respectivement et proche de ce lui à 200mg/kg avec $64,90 \pm 5,75\%$ mg/kg vis-à-vis du témoin.

L'œdème a significativement diminué à 24 heures après injection de la carragénine, pour l'extrait aqueux chloroforme et le diclofénac par rapport au témoin, allant respectivement de $57,06 \pm 7,80\%$ à 100 mg/kg, $76,91 \pm 10,73\%$ à 150 mg/kg, $80,36 \pm 7,07\%$ à 200 mg/kg pour l'extrait aqueux et $79,94 \pm 9,62\%$ pour le diclofénac.

Le développement de l'œdème après injection de la carragénine au niveau de la patte de la souris est attribué à la libération des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, les kinines et la prostaglandine (Subhanet *al.*, 2007 ; Akinedele et Adeyni, 2007).



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM, * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$, sont considérés significatifs par rapport au témoin. $n=15$ dans chaque lot

Figure N°29 : Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par l'extrait aqueux chloroforme du *Galium mollugo* et le diclofénac.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que cet extrait possède une activité anti-inflammatoire. *Galium mollugo* n'a pas encore fait l'objet d'étude, pour cela on peut suggérer que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux chloroforme est liée à sa richesse en composés bioactifs, principalement les polyphénols et les flavonoïdes (Milic, 2012). Ces résultats peut être en accord avec les travaux de Akkol et ses collaborateurs (2008), qui ont montrés que les flavonoïdes jouent un rôle primordiale dans l'inhibition de l'inflammation de l'œdème, aussi cette inhibition est due probablement à l'inhibition de l'histamine, la sérotonine, les kinines et la prostaglandine (Daset *al.*,2010).

III.3. Activité analgésique

2.1. Test de writhing

Les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique a été utilisées pour évaluer l'effet analgésique des extraits aqueux chloroforme des sommités fleuris du *Galium Mollugo*. La **figure N° 20** représente les pourcentages d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme du *Galium Mollugo*.

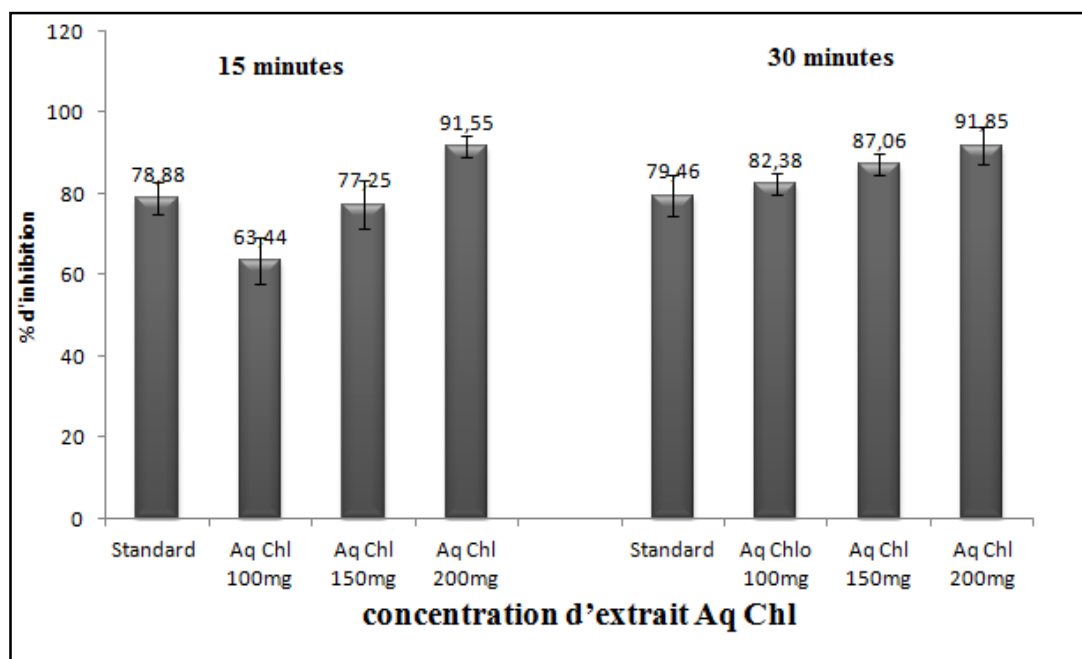


Figure N°30: Pourcentage d'inhibition de l'effet de l'acide acétique en fonction de la concentration d'extrait aqueux chloroforme

Les résultats obtenue durant les premières 15 min de l'injection d'acide acétique, montre que, l'extrait aqueux chloroforme de *Galium Mollugo* à une concentration de 200mg/Kg, a exhibé une meilleur inhibition de l'acide acétique avec 91.55% qui est supérieur à celle exhibé par le standard (acide acétylsalicylique) avec 78.88%, tandis que l'aqueux chloroforme a une concentration de 150mg et 100mg ont montré une inhibition de 77.25 et 63.44 %, respectivement qui sont inférieure à celle exhibé par le standard.

Dans la deuxième 15 min, on remarque une légère augmentation de l'inhibition de l'effet de l'acide acétiques par l'extrait aqueux chloroforme, à des concentrations de 200, 150, et 100 mg/Kg dont les pourcentages d'inhibitions sont de 91.85%, 87.06% et 82,38% respectivement, qui sont supérieur à celle de standard avec 79,46%.

L'acide acétique injecté, provoque une lésion tissulaire et qui agit d'une façon indirecte en incitant l'activation des différents médiateurs endogènes à savoir, la sérotonine, l'histamine, la bradykinine, la substance P et les prostaglandines (PGE₂ α , PGF₂ α) (**Kumar et al., 2010**), aussi bien que des produits issus des réactions de la Lipo-oxygénases et de la Cyclo-oxygénase (**Derardt et al., 1980 ; Collier et al., 1968**).

Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire, donc une sensation de douleur se produit (contractions abdominale) (**Frederico et al., 2009 ; Wantana et al., 2009**).

L'effet analgésique des extraits aqueux chloroforme pourrait être lié à l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques cité auparavant d'une part ou à l'inhibition des deux cycles Lipo-oxygénase et /ou le cycle Cyclo-oxygénase (**Hasan et al., 2010**). L'effet antalgique des extraits pourrait être dû à la réduction de la libération des cytokines et de la biosynthèse des prostaglandines.

Des études antérieures ont montré que les effets anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique sont dus aux tanins, flavonoïdes, saponosides et aux triterpènes/stéroïdes (**Akindele et al., 2007 ; Bose et al., 2007**). La présence de ces composés chimiques dans l'extrait des sommités fleuris du *Gallium Mollugo* pourrait être responsable des propriétés pharmacologiques observées (**Milić et al., 2013**).

III.3.2. Test d'immersion de la queue

L'analyse statistique des résultats obtenus dans le test d'immersion de la queue (**Tableau V**) montre que l'acide acétylsalicylique à 100 mg/kg montre l'augmentation de la période de latence de la réponse de 30 minutes ($2,34 \pm 0.51$ sec) à 90 minutes ($3,10 \pm 1.16$ sec) après la stimulation nocive thermique, puis commence à diminuer à partir de 120 minutes après son administration. Ces résultats sont concordants avec les données de la littérature qui démontrent les effets antinociceptifs des antalgiques dans des modèles de douleur expérimentaux cutanés et viscéraux différents (**Choi et al., 2001; Wilson et al., 2003**).

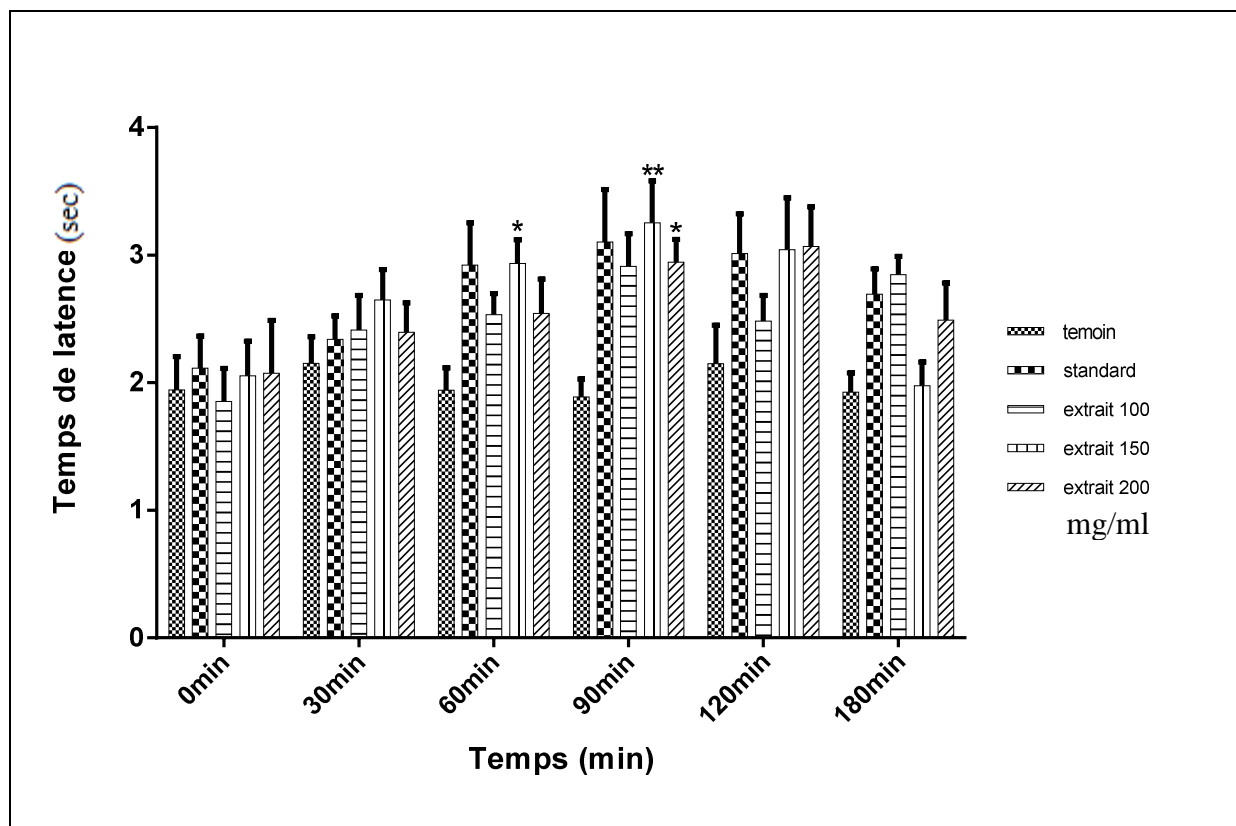
Les différentes concentrations (100, 150 et 200 mg/kg) de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* et de l'acide acétylsalicylique, ont aussi montrées un effet analgésique assez important à la 60^{ème} et 90^{ème} minutes après leur administration avec une activité analgésique significativement plus efficace pour l'extrait 150 mg/kg ($2,93 \pm 0.52$ sec et $3,25 \pm 0.92$ sec) comparé aux autres traitements (**figure N°31**).

A partir de la 120^{ème} minutes, le temps de latence commence à diminuer pour l'extrait aqueux chloroforme et l'acide acétylsalicylique jusqu'à revenir à l'état initial à la 180^{ème} minutes.

Tableau V: Effet des différentes concentrations des extraits aqueux chloroforme de *Galium mollugo* et de l'acide acétylsalicylique dans le test de l'immersion de la queue chez les souris.

Traitements	Dose (mg/kg)	Temps de latence (sec)					
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min
Control	-	1,94±0.74	2,15±0.59	1,94±0.50	1,88±0.40	2,14±0.86	1,92±0.42
Acide acétylsalicylique	100	2,11±0.71	2,34±0.51	2,92±0.93	3,10±1.16	3,04±0.87	2,69±0.56
Aqueux chloroforme	100	1,85±0.73	2,41±0.76	2,53±0.47	2,91±0.72	2,48±0.57	2,42±0.40
	150	2,05±0.76	2,65±0.67	2,93±0.52*	3,25±0.92**	3,04±1,15	1,97±0.52
	200	2,07±1.17	2,39±0.65	2,54±0.76	2,94±0.50*	3,06±0.88	2,16±0.82

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, sont considérés significatifs par rapport au témoin. n=8 dans chaque lot



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM, $p < 0,05$; $p < 0,01$, sont considérés significatifs par rapport au témoin. $n=8$ dans chaque lot

Figure N°31 : Effet des différentes concentrations de l'extraits aqueux chloroforme de *G. mollugo* et de l'acide acétylsalicylique dans le test de l'immersion de la queue

L'effet analgésique des extraits aqueux chloroforme contre les stimuli nocifs thermiques peut être suscité par des récepteurs opioïdes ou par la modulation de plusieurs neurotransmetteurs impliqués dans les phénomènes de nociception (Akriti et Pawar, 2011). Il a été rapporté qu'un certain nombre de flavonoïdes et de composés phénoliques possèdent des effets biologiques multiples tels qu'une activité analgésique par inhibition de la prostaglandine-synthétase (Vijusha et al, 2013), et une activité inhibitrice sur le métabolisme de l'acide arachidonique et sur l'histamine, antinociceptive, inhibition de l'accumulation plaquettaire, antioxydant et anti-inflammatoire (Delmore et al., 1977 ; Bors et Saran, 1987 ; Van Waive et Goosens, 1989 ; Moreira et al., 2000 ; Rao et al., 2003 ; Amreshet al., 2007).

Le caille-lait blanc (*Galium mollugo*) est une plante herbacée vivace de la famille des rubiacées, cette dernière est connue pour son utilisation dans la médecine traditionnelle pour soigner différentes pathologie dont l'épilepsie et l'obésité.

L'étude de l'activité antioxydant de l'extrait aqueux chloroforme des sommités fleuris de *Galium mollugo*, réalisée par le test de l'ABTS, a démontré son effet inhibiteur sur les cations radicalaire avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $90,16 \pm 0,07\%$ à $100 \mu\text{g/ml}$.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo*, a été confirmée par des pourcentages d'inhibitions important de la XOR ($84.50 \pm 0.0002\%$ à $100 \mu\text{g/ml}$) et de l'œdème induit par la carragénine dans les pattes des souris ($80,36 \pm 7,07\%$ à 200 mg/kg), ceci s'explique par la présence des molécules à caractère anti-inflammatoire.

Les tests de writhing et de l'immersion de la queue des souris démontrent que l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* à des propriétés analgésiques importantes. L'administration de cet extrait a enregistré un pourcentage d'inhibition de l'effet de l'acide acétique ($91,85 \pm 4,75\%$ à 200 mg/kg) pour le premier test et une augmentation du temps de latence ($3,25 \pm 0.92 \text{ sec}$ à 150 mg/kg) aux stimuli thermiques chez les souris dans le deuxième test.

Ces propriétés antioxydant, anti-inflammatoire et analgésique sont probablement liées à la présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes. Des expériences ultérieures utilisant des molécules isolées sont envisagées pour identifier les composés responsables de ces activités et comprendre leurs mécanismes d'action.

Références bibliographiques

A

- **Aarskorg, R.** (2011). Comparison of two resistance training protocols, 6rm versus 12rm, to increase the 1rm in healthy younger adults. *Phystherapy*, **97** : 917-924.
- **Adeyemi, O ; Okpo, S.O ; and Oguni, O.** (2002). Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea Americana* Mill (Lawraceae). *Fitoterapia*, **73**:375–80.
- **Akindele A.J ; and Adeyemi O.** (2007). Antipyretic activity of *Byrsocarpus coccineus* Schum and Thonn. *Internat J Pharmaocol*, **4**: 357–612.
- **Akkol, E.K ; Yes ; Ilada, E ; and Guvenc, A.** (2008). Valuation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Erica* species native to Turkey. *J Ethnopharmacol*,**116**: 251–7.
- **Akriti, P ; and Pawar, RS.** (2011). A study on *Ajuga bracteosa* wall ex. Benth for analgesic activity. *Int J cCur Bio Med Sci*, **1** (2) : 12-14.
- **Akyol, Ó ; Işci, N ; Temel, I ; Özgöçmen, S ; Uz, E ; Murat, M ; and Buyukberber, S.** (2001). Relations entre les enzymes anti-oxydantes plasmatiques et érythrocytaires et la peroxydation des lipides chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, *Rev Rhum*, vol. **68** : 601-8.
- **Amresh, G ; Zeashan, H ; and RAO, C.** (2007). Prostaglandin mediated antiinflammatory and analgesic activity of *Cissampelos pareira*. *Acta Pharmaceutica Science*, **49**, 153-160.
- **Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, and Atmani D** (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants ». *Fd chem*, **112(2)**: 303-309.



- **Baba Aissa, F.** (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, P: xvii-xxxxv, 4-77,101-87.
- **Bannwarth, B ; Bouvenot, G ; and Bouvenot, J.** (2005). «Chapitre 4, Module 11», *Synthèse clinique et thérapeutique-Urgence*, p. 1-3.
- **Bargnoux, A.S ; Morena, M ; Badiou, S ; Dupuy, A ; Canaud, B ; and CRISTL, J.** (2009). Stress carbonylé et modifications oxydatives des protéines au cours de l'insuffisance rénale chronique. *Ann Biol Clin*, **67** (2) : 153-8.
- **Barton, G. M.** (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, **118** : 413-420.
- **Bartosz, G.** (2009). Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochemical pharmacology*, **77**: 1303– 1315.
- **Berboucha, M; Ayouni, K; Atmani, D; Atmani D; and Benboubetra, (2010). M.** Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the traitement of inflammatory diseases. *Journal of Medicinal Food*, **13**, No.4, pp.1-9.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, Tec. & Doc, 1120p.
- **Borges, F; Fernandes, E; and Roleira, F.** (2002). Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Current Medical Chemistry*, vol.**9**, pp. 195-217.

- **Bors, W ; and Saran, M.** (1987) Radical scavenging by flavonoid antioxidant. *Free Radical Research Communication*, **2**, 131.
- **Bose, A ; Mondal, S ; and Jayanta, K.** (2007). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. *Fitot*, **78**: 515–20.
- **Boukhari, J ; Khan, R ; Shabbir, M ; Rashid, U ; Jan, S ; and Zai, J.A.** (2013). Evaluation of diverse antioxidant activities of *Galium aparine*. *Sci Verse*, **102** ; 24-29.

C

- **Capron, F.** (1998). Forme anatomo-clinique de l'inflammation, *in* trouble de la mortalité et de la sensibilité digestive. *Revue du praticien*, **20** : 2273-2276.
- **Cavaillon, J.** (2005). Médiateurs de l'inflammation, *in* : Sepsis sévère et choc septique. *Vincent J.-L., Martin. Eds*, 23-49 .
- **Cazin, F.J.** (1866). *Traité des plantes médicinales*, Paris, Labé. 1er vol., XI-661 p.
- **Charles, N ; Ward, P ; and Gilroy, D.** (2010). *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.
- **Cheref, Y.** (1999) *La santé au naturel, édition NEA*, Page: 3-99.
- **Chiang, H, Wen, P, Lu, F.** (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *alsophila spinulosa* (Hook) tryon . *J of Enzyme Inhibition*, **8 (1)**: 61-71.
- **Choi, S ; Lee, J.K ; and Su, H.** (2001). Antinociceptive profiles of aspirin and acetaminophen in formalin, substance P and glutamate pain models, *Brain Res*, **921**(1-2), pp. 233-239.

- **Collier, H.O ; Dinneen, L.C ; Johnson, C.A ; and Schneider, C.** (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, **32**, 295- 310.

D

- **Da Silva, S; Honorio, K; Marangoni, S; and Toyama, H.** (2004). The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure*, Vol.**684**, pp.1-7.
- **Das, S ; Dey Y ; Kumar, A ; and Ghosh.** (2010). Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Amorphophallus paeoniifolius* and its possible mechanism. *Inter J of Pharma and Bio Sci*, **1**, 8 p.
- **DeBandt, J.** (2007). Cytokines, in : *Traité de nutrition artificielle de l'adulte ; Nourrir l'Homme malade. Cano N., Barnoud D., Schneider S., Vasson M.-P., Hasselmand M. and Lerverve X. eds, 3^{ème} édition. Chapitre, 17 :225-236.*
- **Defraigne, J.O ; and Pinceman, J.** (2007). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liege*, **62** : 4p.
- **Delorme, P ; Jay, M ; and Ferry, S.** (1977). Antiinflammatory and analgesic activity from roots of *Angelica pubescens*. *Planta Medica*, **61**, 2-8.
- **Deraedt, R ; Jougne, S ; Devalceee, F ; and Falhout, M.** (1980). Release of prostaglandin E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *Eur.J. Pharmacol*, **51**, 17-24.
- **Derbel S. et Guedira K.**(2005) Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, **1** : 28-34.

- **Diebold, J ; Molina, T ; Bigorgne, C ; Audouin, J ; and Le Tourneau, A.** (1995). Les expressions morphologiques de la réaction inflammatoire. *Rev fra Lab*, **276** : 1-2.
- **Duflos, G ; Dervin, C ; Malle, P ; and Bouquelet, S.** (1999). Relevance of matrix effect in determination of biogenic amines in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangus merlangus*). *J. AOAC Internat*, **82** : 1097-1101.
- **Duthie, G ; Ardner, P.T ; and Kyle, J.A.** (2003). Plant polyphenols : are they the magic bullet ?, *Proc Nut Soc*, **62** (3) : 599-603.

E

- **Eugene, J.** (1828). Manuel de l'herboriste de l'épicier-droguiste et du grainier-pépiniériste horticulteur: contenant la description des végétaux, les lieux de leur naissance, leur analyse chimique et leurs propriétés médicales Roret, *Libraire paris*, 416 p.

F

- **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, **27**, p. 108-115
- **Frederico, A.V ; Higor, F.L ; and Elson, A.C.** (2009). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L., *Brazil. J Pharmaceut Sci*, **45**: 437-42.
- **Friguet, B.** (2003). Le vieillissement moléculaire et cellulaire et ses futurs enjeux. *L'actualité chimique*, 103-107.
- **Fortuno, A; San José, G; Moreno, M.U; Diez, J. and Zalba, G.** (2006). Oxidative stress and vascular remodeling. *Experimental Physiology*, **90**: 457-462.

G

- **Gaillard, A.** (2014). Emotional pain, physical pain: Neurobiological mechanisms and treatment. *Annales Méd Psy*, **172** : 104-107.
- **Garait, B.** (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat d'université. Grenoble : *Université Joseph FOURIER*, 159 p.
- **George, S ; Brat, P ; Alter, P ; and Amiot, M.J.** (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived product, *J.Agric.Food Chem* , **53**: 1370-1373.

H

- **Hasan, S.M ; Hossain, M.M ; Akter, R ; Jamila, M ; Mazumder, M.E ; Alam, M.A ; Faruque, A ; Rana, S ; and Rahman, S.** (2010). Analgesic activity of the different fractions of the aerial parts of *Commelina benghalensis* Linn. *International Journal of Pharmacology*, **6** (1): 63-67.
- **Havlik, J; Raquel, G.H; Katerina, H; Javier, F; Jitka, S; Martin, M; and Vojtech, R.** (2010). Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.**132**, pp. 416-465.
- **Hopkins, W.G.** (2003). *Physiologie végétale*. Edition Debock et lancier, 276p.
- **Hostettmann, K ; Marston, A ; and Hostettmann, M.** (1998). Preparative Chromatography Techniques. Applications in Natural Product Isolation, *2nd edition*. Springer, Berlin Heidelberg.
- **Hung, C ; Tsai, W. J; Kuo, L ; Kuo, Y ; and Bioorg, H.** (2005). Evaluation of a toxicity of *Sergia hepaltica*. *Med. Chem*, **13**, 1791

I

- **Illiers, L ; and Querel, D.** (2011). «Chapitre 6, Module 1», *Cours d'immunologie*, 13 p.

J

- **Jakson, L ; and Ever, B.** (2006). Chronic inflammation and pathogenesis of GI and pancreatic cancers, in : The link between inflammation and cancer, *Dagleish A.G. and Hae Finer B eds*, **130** : 39-65.
- **Janeway ; Travers ; Waport ; and Chlomchik.** (2003). Immunologie. 2^{ème} édition. De Boeck. Paris, 782p.

K

- **Koechlin-ramonatxo C.** (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, **20**:165-177.
- **Kumar, A ; Lakshman, K ; Jayaveera, K ; Sheshadri, S ; and Vivek, S.** (2010). Antinociceptive and antipyretic activities of amaranthus viridis linn. in different experimental models. *Arch. Biol. Sci.* Belgrade, **62** (2), 397-402.

L

- **Laroche, F ; Doubrere, J.F ; and Soyeux, E.** (2008). Vivre avec des douleurs neuropathiques. *Editions Scientifiques L&C*, p. 8
- **Laroche, F.** (2014). Douleur chronique. Thérapies comportementales et cognitives. *Annales Médico-Psychologiques*, **172** : 132-135.
- **Larousse.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. *Larousse*, 335 p.

- **Lin, C-M ; Chen, C-S ; Chen, C-T ; Liang, Y-C ; and Lin, J-K.** (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **294** : 167-172.
- **Chun-Mao Lin,A,C Chien-Shu Chen,b Chien-Tsu Chen,c Yu-Chih Liang,a,c and Jen-Kun Lina.** (2002) Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **294**: 167–172
- **Lissitzky, S ; and Rolland, M.** (1961). Oxydation de la tyrosine et de peptides ou prot~ines la contenant, par la polyph~noloxydase de champignon. *Biochimica & biophysica*, Vol. **4** : 95-106.

M

- **Machlin, L ; and Bendich, A.** (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *Faseb J*, **1** (6):441-5.
- **Matieu, M ; and Guimezanes, M.** (2012). Inflammation et maladie : clés de compréhension. *Arthritis*,, 65 p.
- **Masayoshi, T ; Sakurai, M ; Goto, M ; and Hayashi, S.** (1985). Effect of xanthine derivatives on hippocampal long-term potentiation. *Brain Research*, **522** : 63-68.
- **Mercereau, D; and Dictommaso, A.** (2002). The biology of canadian weeds-121. *Galium mollugo*. *Department of crop and soil sciences Cornell University*, pp. 453-464.
- **Milić, P ; Ljiljana, P ; Stanojevic ; Katarina, M ; Rajkovic ; Slavica, M ; Milić ; Vesna, D ; Nikolic ; Ljubisa, B ; Nikolic ; Vlada, B ; and Veljkovic.** (2013). Antioxidant activity of *Galium mollugo* L. extracts obtained by different recovery techniques. *SCIENTIFIC PAPER, Hem. Ind.*, **67** (1) 89–94.

- **Mohsin, A ; Jesmin, M ; Azad, M ; Islam, K ; and Zahan, R.** (2012). Anti-inflammatory and analgesic activities of acetophenone semicarbazone and benzophenone semicarbazone. *The Asian Pacific Tropical Biomedicine*, **1691** (12) ; 60357-8.
- **Moreira, A.S ; Spitzer, V ; Schapoval, E.E. and Schenkel, E.P.** (2000). Antiinflammatory and antinociceptive activity of extracts and fractions from the leaves of *Gochnatia polymorpha*, *Phytotherapy Research*, **14**, 638-640.

N

- **Nardi, G ; Felippi, R ; and Caploy, Z.** (2003). Anti-inflammatory and antioxydant effects of croton celtidifolius bark. *Phytomedicine*, **10** : 176-184.
- **Nathan, C.** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, **420** : 846-852.
- **Nehme, C.** (2006). La douleur neuropathique : Un défi pour les soignants, *Inf MSC*, 2006, 4 p.
- **Nourshargh, S ; Krombach, F ; and Dejana, E.** (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leucocyte Biology*, **80** ; 714-718.

O

- **Osborn, A.E ; and Lanzotti, V.** (2009). Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application. *Springer*, 612 p.
- **Ouedraogo, N ; Lompo, M ; Sawadogo, R.W ; Tibiri, A ; Hay, E ; Koudou, J ; Djoux, G ; and Guissou, P.** (2012). Étude des activités anti-inflammatoire,

analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. *Springer-Verlag*, **10** ; 671-682.



- **Pacheco, Y ; Cheria, S ; Hosni, R ; Aloui, R ; Gormand, F ; Chabannes, B ; Perrin Fayolle, M ; and Lagarde, M.** (1993). Cytokines et éicosanoides dans les processus inflammatoires, *Rev allergol*, **33**(4) : 298-310.
- **Pastre, C.** (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat d'université. Toulouse : *Université Paul-Sabatier*, 110 p.
- **Payen, J.F.** (2002). «Chapitre 2, Module 2», *Bases physiopathologiques et évaluation de la douleur*, 65 p.
- **Pelli, K ; and Lyly, M.** (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. *VTT Biotechnology*, **3**: 4p.
- **Perrot, S ; Poulain, P ; Serrie, A ; Eschalié, A ; Mick, G ; Langley, P ; Pomerantz, D ; and Ganry, H.** (2013). Description des prescriptions de traitements pharmacologiques à visée antalgique et de leur observance en France : résultats de l'étude épidémiologique *National Health and Wellness Survey* réalisée auprès de 15 000 personnes adultes, *Elsevier*, **14** (3) : 119-130.
- **Prouillac, C ; Vicendo, P ; Garrigue, J.C ; Poteau, R ; and Ghassoub, R.** (2010). Evaluation of new thiadiazoles and benzothiazoles as potential radioprotectors: Free radical scavenging activity in vitro and theoretical studies (QSAR, DFT), *Free Radical Biology and Medicine*, **46** (8) ; p. 1139-1148.
- **Pousset, J.L.** (1989). Plantes médicinales africaines. ACCT, Paris, P. 15.

R

- **Rabaud, C ; Rogeaux, O ; Launay, O ; Strady, C ; Mann, C ; Chassany, O ; Bouhassira, D ; and Gaillat, J.** (2013). Early antiviral treatment fails to completely prevent herpes-related pain. *Med & maladie inf*, **43** : 461-466.
- **Radat, F.** (2014). Stress et douleur. *Annales Médico-Psychologiques*, **172** : 108-110.
- **Rat, P ; Bonin-Guillaume, S ; Pickering, G ; and Leglise, M.S.** (2014). Algorithme d'évaluation de la douleur chez les patients âgés. *Elsevier*, **15**(2) : 52-56.
- **Rao, C.H ; Ojha, S.K ; Amresh, G ; Mehrotra, S ; and Pushpangadan, P.** (2003). Analgesic, antiinflammatory and antiulcerogenic activities of unripe fruit of *Aeglemarmelos*. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **45**, 85-91.
- **Re, R ; Pellegrini, N ; Proteggente, A ; Pan-Nala, A ; Yang, M ; and Rice-Evans C.** (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**, (9- 10), 1231-1237.
- **Richter, C ; Park, J ; and Ames, B.** (1988). Normal oxydative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Acad Sci*, **85** : 6465-6467.
- **Roulet, L ; Luthy, C ; Garin, N ; Di Polina ; De Gold, L ; Zoccatelli, D ; Escher Imohf, M ; Desmeules, J ; and Piguët, V.** (2007). Rotation des opioïdes : de la théorie à la pratique. *Rev Med Suisse*, **7** : 1400-6.
- **Ruch, R.J ; Cheng, S.J ; and Klaunig, J.E,** (1989). *Carcinogenesis*, **10** ; 1003–1008.

S

- **Said, O ; Khalil, K ; Fulder, S ; and Azaizels, H.** (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region; *Journal of ethnopharmacology*, **83**: 251-263.

- **Salunkhe, D.K ; Chavan, J.K ; and Kadam, S.S.** (1990). Dietary tannins ; consequences and remedies. *Boca raton*, 4 : 200 p.

- **Sawadogo, W.R. ; Boly, R ; and Lompo, M.** (2006). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Dicliptera verticillata*. *Int J Pharmacol*, **2**(4): 435–8.

- **Servais, S.** (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : Effets de l’âge et d’une supplémentation en Oméga-3. Thèse de doctorat d’université. Lyon : *Université Claude BERNARD*, 161 p.

- **Sies, H.** (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application». *Am J Med*, **91** : 31S-38S.

- **Steinbuch, M ; and Audran, R.** (1971). Relations entre le système du complément et le système des kinines. *Rev fr allergol*, **11**(3) : 213-228.

- **Sohal, R.S ; Mockett, R.J ; and Orr, W.C.** (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Rad. Biol. Med.*, **33**(5), p. 575.



- **Tamas, M; Stana, D; and Timis, S.** (2006). Comparative phytochemical research of *Galium verum L* and *Galium mollugo L*. *Not. Bot. Hort. Agrobot*, P 1-8.

- **Tonnel, A.B ; Oudini, S ; Hammad, H ; and Duez, C.** (1998). Molecules d'adhérence et réaction inflammatoire allergique. *Rev Allergol*, **38** : 495-498.

- **Turpin, C ; and Webber, M.** (2012). Anti-inflammatoires en ophtalmologie : quand ? pour qui ? comment ? ». *Revue générale Thérapeutique*, **2**, 1-7.

V

- **VanWauve, J.P ; and Goosens, J.G.** (1989). Arabinolactan and dextran induced ear inflammation in mice: differential inhibition of H1-antihistamines, 5HT-serotonin antagonist and lipoxygenase blockers. *Agents Action*, **28**, 78-82.
- **Venereol, A.D.** (2005). «Chapitre1, Module 11», *Item n°174 : Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens : traitement dermocorticoïde*, 4 p.
- **Vijusha, M ; Shalini, K ; Veeresh, K ; Rajini, A ; and Hemamalini, K.** (2013). Analgesic effects of methalonic extracts of *Anogeissus latifolia* wall on swiss albino mice. *Pelagia Research Library*, **4** (5) : 79-82.

W

- **Wantana, R ; Tassanee, N ; and Subhadhirasakul, S. Antinociceptive.** (2009). Antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals . *J Nat Med*, **63**: 290–6.
- **Wichtl, M ; and Anton, R.** (2003). Plantes thérapeutiques. *Edition Tec et Doc*, **6** : 7-11.
- **Wilson, S.G ; Bryant, C.D ; Lariviere, W.R ; Olsen, S ; Giles, E ; Chesler, E.J ; and Mogil, S.** (2003). The Heritability of antinociception II: pharmacogenetic mediation of three over-the-counter analgesics in mice, *J. Pharmacol. Exp. Ther*, Vol. **305**, Issue 2, 755-764.
- **Winter, C.A ; Risley, E.A ; Nuss, G.W.** (1962). Carrageenan-induced edema in

the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*, **111**:544–7.

- **Wrobel, J.** (2003). Aspects psychologiques de la douleur chronique. Paris : *Institut UPSA de la douleur*, 155 p

y

- **Yoon, S.Y ; Cha, S.K ; Yang, N.J ; Eum, J.H ; Lee, W.S ; and Lee, D.R.** (2013). Extended culture in prophase I stage after vitrification may induce recovery of antioxidant systems in vitrified mouse immature oocyte, *Sci Pro Supp*, **100** : 184-185.

z

- **Zhu, Z.Z ; and Zhang, H.** (2011). analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the petroleum ether fraction from the ethanol extract of *desmodium podocarpum*. *journal of ethnopharmacology*, **133**, 1126-1131.

Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et analgésiques de l'extrait aqueux chloroforme des sommités fleuries de *Galium mollugo*.

Le pouvoir antioxydant a été évalué par le test de l'ABTS et celle d'anti-inflammatoire par de manière, *in-vitro* par l'inhibition de la XOR et *in vivo*, à l'aide du modèle de l'œdème plantaire induit chez la souris par la carragénine alors que l'effet analgésique a été étudié par 2 méthodes (writhing et immersion de la queue).

L'extrait montre un bon effet antioxydant à des concentrations de 75 et 100 µg/ml avec des pourcentages d'inhibitions des cations radicalaires de 90,14 et 90,16%. L'administration de la dose 100 µg/ml montre un pourcentage d'inhibition de la XOR de $84,50 \pm 0,0002\%$. Tandis que l'administration intra-gastrique des concentrations 100, 150 et 200 mg/kg prévient l'œdème plantaire chez la souris ($64,90 \pm 5,75\%$) pour le 200 mg/kg. Pour l'évaluation de l'activité analgésique, l'extrait 100 mg/kg a inhibé (82,38%) l'effet de l'acide acétique pour le test de writhing. Tandis que l'extrait 200 mg/kg a augmenté ($3,06 \pm 0,88$ sec) le temps de latence de réponse au stimulus de chaleur.

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux chloroforme de *Galium mollugo* contient des composés bioactifs d'une forte activité antioxydant ainsi que des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques intéressantes.

Mots clés : *Galium mollugo*, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire, activité analgésique, douleur.

Abstract

The present study relates to the evaluation of the properties antioxydants, anti-inflammatory drugs and analgesics of the aqueous extract chloroform of the celebrities flowered of *Gallium mollugo*.

The antioxydant capacity was evaluated by the test of the ABTS and that of anti-inflammatory drug by manner, *in-vitro* the inhibition of the XOR and *in vivo*, using the model of the plantar edema induced in the mouse by the carragénine whereas the analgesic effect was studied by 2 methods (writhing and immersion of the tail).

The extract shows a good antioxydant effect with concentrations of 75 and 100 µg/ml with percentages of inhibitions of the radicalizing cations of 90,14 and 90,16%. Administration of the dose 100 µg/ml watch a percentage of inhibition of the XOR of $84,50 \pm 0,0002\%$. While the intra-gastric administration of concentrations 100, 150 and 200 mg/kg prevents the plantar edema in the mouse ($64,90 \pm 5,75\%$) for the 200 mg/kg. For the evaluation of the analgesic activity, the extract 100 mg/kg inhibited (82,38%) the effect of the acetic acid for the test of writhing. While the extract 200 mg/kg with increased ($3,06 \pm 0,88$ dry) the latency time of answer to the stimulus of heat.

Our results show that the aqueous extract *Gallium mollugo* chloroform contains compounds bioactifs of a strong antioxydant activity as well as interesting properties anti-inflammatory drugs and analgesics.

Key words: *Gallium mollugo*, antioxydant activity, anti-inflammatory activity, analgesic activity, pain.