

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Science Biologique
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude de la toxicité et des activités anti-
inflammatoire et analgésique des
alcaloïdes de *Matricaria pubescens*

Présenté par :

M^{elle} FETTIOUNE Zahra & M^{elle} FOUNAS Mabrouka

Soutenu le : **27 mai 2015**

Devant le jury composé de :

M ^{elle} TAHIRI O.	Maitre assistant A,A-Mira,Béjaia	Presidente
M ^{me} AMIR H.	Maitre assistant A,A-Mira,Béjaia	Promotrice
M ^{me} KHAMTACHE S.	Maitre assistant A,A-Mira,Béjaia	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice, M^{me} AMIR H. pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse

Nous tenons à remercier profondément M^{me} BEDJOU F. de nous accueillir au sein de son laboratoire.

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres de jury : M^{elle} TAHIRI O. et M^{me} KHAMTACHE S. Pour l'intérêt qu'ils ont manifesté envers notre travail en acceptant de l'évaluer.

Nous tenons à remercier aussi aux corps techniques de laboratoire M^{elle} BELHADI S. et M^{elle} MAMMASSE H.

Nous remercions également toute personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

MABROUKA ET ZAHRA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect et de remerciement :

À mon cher père, à ma chère mère qui ont toujours été présents pour me soutenir, que dieu vous protège.

À mes chères sœurs Kahina et Sarah

À mes chers frères Massinissa et Adel

À mes chers oncles et tentes

À mes chers cousins et cousines

À mon fiancé et toute sa famille

À mes chères amies surtout Mabrouka, Kahina, Marina, Saida, Souad, Djidji et Cylia

À toute la promotion de Biochimie appliquée 2015 sans exception

Merci à tous

Zahra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Je tiens d'abord à dédier ce travail, à remercier et à exprimer ma
profonde gratitude à mes très chers parents qui n'ont jamais
cessé de me soutenir. Mon père, ma mère merci pour tous que
vous avez fait pour moi, que dieu vous protège.*

Mes dédicaces s'adressent aussi :

A mes chères sœurs Nawal et Hizia

A mon unique cher frère Mehdi

A mes chers oncles et tentes

A mes chers cousins et cousines

A mes chers amies surtout Zahra, Samia, Marina et Saida

*A toute la promotion de Biochimie appliquée 2015 sans
exception*

Merci à tous

Mabrouka

Listes des figures

N°	Titre de la figure	Page
Figure 1	<i>Photographie de M. pubescens</i>	2
Figure 2	Classification de <i>M. pubescens</i>	2
Figure 3	Mécanisme d'action des anti-inflammatoires AINS et GC	12
Figure 4	La Transmission douloureuse	13
Figure 5	Transmission du message nerveux lors d'une inflammation	15
Figure 6	Elevage des souris Wistar (original)	17
Figure 7	Administration de l'échantillon par voie orale (original)	19
Figure 8	Préparation du matériel et fixation de l'animal (original)	20
Figure 9	Prélèvement de différents organes (original)	21
Figure 10	Injection de la carragénine (original)	21
Figure 11	La mesure de l'œdème par Le pléthysmomètre (original)	22
Figure 12	Injection intra-péritonéale de l'acide acétique (original)	23
Figure 13	Immersion et retrait de la queue de la souris (original)	24
Figure 14	Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe	26
Figure 15	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité aigüe	27
Figure 16	Evaluation de volume d'eau consommé durant le test de toxicité aigüe	28
Figure 17	Evaluation de poids corporel des organes de toxicité aigüe	29
Figure 18	Variation du poids corporel des différentes doses durant le test de la toxicité subaigüe	30
Figure 19	Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de toxicité sub-aigüe	31
Figure 20	Evaluation du volume d'eau consommé durant la toxicité sub-aigüe	32
Figure 21	Evaluation de poids corporel des organes de toxicité sub-aigüe	32
Figure 22	Pourcentage d'inhibition de l'œdème par l'extrait alcaloïdique de <i>M. pubescens</i> et le diclofénac en fonction du temps	34
Figure 23	Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales induit par l'acide acétique	37
Figure 24	Pourcentage de l'effet possible maximal chez les souris	39

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
Tableau I	Principaux types d'alcaloïdes vrais et leurs précurseurs de synthèse en acides aminés	5
Tableau II	Principaux types des pseudo-alcaloïdes vrais et leurs précurseurs de synthèse	6
Tableau III	Principaux types des pseudo-alcaloïdes vrais et leurs précurseurs de synthèse	6
Tableau IV	Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs	9
Tableau V	Evaluation des comportements, symptômes et la mortalité des souris lors de l'étude de la toxicité aiguë	25
Tableau VI	Evolution de l'œdème induit par la carragénine en fonction du temps	33
Tableau VII	Nombre de contorsions abdominales induit par l'acide acétique chez la souris	36
Tableau VIII	Temps de latence de retrait de la queue chez la souris	38

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la plante *Matricaria pubescens*.....2

I.2. Utilisations de la *M. pubescens*2

I.3. Composition chimique de la *M. pubescens*3

I.4. Les alcaloïdes4

I.4.1. Classification des alcaloïdes4

I.4.1.1. Les alcaloïdes vrais4

I.4.1.2. Les proto-alcaloïdes.....4

I.4.1.3. Les pseudo-alcaloïdes5

I.4.2. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes.....7

I.4.3. Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes.....7

I.5. Notion de toxicité.....8

I.5.1. Classification de la toxicité.....8

I.5.1.1. Toxicité aiguë.....8

I.5.1.2. Toxicité sub-aiguë.....9

I.5.1.3. Toxicité chronique.....9

I.5.2. Devenir d'un toxique dans l'organisme.....9

I.5.3. Organes ciblés par les toxiques.....10

I.6. Activité anti-inflammatoire.....10

I.6.1. Phases de l'inflammation.....10

I.6.2. Les médicaments anti-inflammatoires11

I.7. Activité analgésique.....12

I.7.1. Mécanisme de la douleur.....13

I.7.2. Différents types de douleur.....	14
I.7.3. Les analgésiques.....	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Préparation du matériel végétal.....	17
II.1.2. Choix des animaux et conditions d'hébergement.....	17
II.2. Méthodes.....	18
II.2.1. Extraction des alcaloïdes de <i>M. pubescens</i>	18
II.2.2. Détermination du taux d'extraction.....	18
II.2.3. Etude de la toxicité des alcaloïdes de <i>M. pubescens</i>	18
II.2.3.1. Etude de la toxicité aigüe.....	18
II.2.3.2. Etude de la toxicité sub- aigüe.....	19
II.2.3.3. Observation du comportement des animaux.....	19
II.2.3.4. Etude de l'évolution pondérale des souris.....	20
II.2.3.5. Mesure du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés.....	20
II.2.3.6. Prélèvement d'organes.....	20
II.2.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes de <i>M. pubescens</i>	21
II.2.5. Etude de l'activité analgésique des alcaloïdes de <i>M. pubescens</i>	22
II.2.5.1. Test de contorsion (acide acétique).....	22
II.2.5.2. Test de l'immersion de la queue.....	23
II.2.6. Etude statistique.....	24

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Le rendement d'extraction des alcaloïdes.....	25
III.2. Évaluation de la toxicité des alcaloïdique de <i>M. pubescens</i>	25
III.2.1. Toxicité aigue.....	25
III.2.1.1. Evaluation de comportement des animaux, signes de toxicité et mortalité.....	25
III.2.1.2. Evaluation pondérale.....	26
III.2.1.3. Evaluation de la quantité de nourriture et de volume d'eau consommés.....	27
III.2.1.4. Evaluation de la masse relative des organes.....	28
III.2.2. Etude de la toxicité subaiguë.....	29
III.2.2.2. Evaluation pondérale.....	29
III.2.2.3. Evaluation de volume d'eau consommés et de la quantité de nourriture	30
III.2.2.4. Evaluation de la masse relative des organes.....	32
III.3. Activité anti-inflammatoire.....	33
III.4. Activité analgésique.....	36
III.4.1. Activité analgésique périphérique.....	36
III.4.2. Activité analgésique centrale.....	38
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	43

INTRODUCTION

Introduction

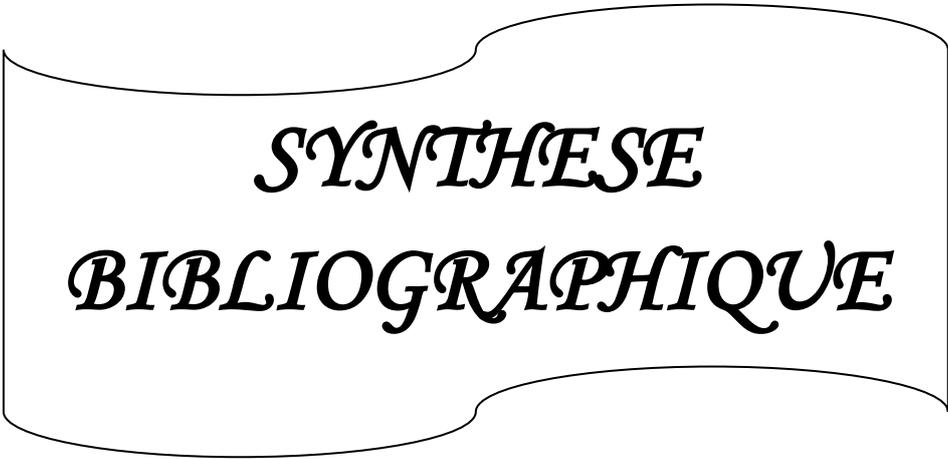
L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, autour de 80% de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le soin de santé (**Gomes et al., 2012**). Parmi ces plantes on trouve *Matricaria pubescens*.

Matricaria pubescens appartient à la famille des Astéracées qui compte environ 25000 espèces. Cette vaste famille est économiquement importante, vu que plusieurs de ses plantes sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.).

Matricaria pubescens est très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et notamment par les populations du Sahara central et septentrional (**Maiza et al., 2011**) en vue de son usage contre les troubles gastro-intestinaux, les rhumatismes, les douleurs des maladies infectieuses, la dysménorrhée, la toux, les maladies oculaires, la dentition, les piqûres de scorpion et les allergies (**Maiza et al., 1993**).

L'effet thérapeutiques de cette plante dépend de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques

A cause de la popularité de l'utilisation traditionnelle de la matricaire, il est important de l'étudier afin de mettre en évidence ses propriétés pharmacologiques et surtout toxicologiques. Pour cette raison, le présent travail consiste à étudier la toxicité aigüe et subaigüe et les activités anti-inflammatoire, analgésiques centrale et périphérique de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens in vivo*. Aucun travail similaire, sur l'étude de la toxicité et la détermination des activités anti-inflammatoire et analgésique des alcaloïd-es de *M. pubescens*, n'est rapporté dans la bibliographie.



*SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE*

I.1. Présentation de la plante *Matricaria pubescens*

La plante médicinale qui fait l'objet de notre étude est *Matricaria pubescens* (Figure 1), dérive du latin *Matricaria* désignant matrice; *pubescens* signifiant velu. La matricaire est classée selon Judd *et al.* (2002) (Figure 2) et sa dénomination se diffère d'une région à une autre : Guertoufa à El Goléa et Ouargla, Ainasnis à Tassili et Ouazouaza à Béchar (**Maiza *et al.*, 1993 ; Hammiche et Maiza, 2006**), et nommée Hairy camomille en anglais (**IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, 2005**).

Matricaria pubescens est une plante spontanée, elle pousse en abondance dans les régions sahariennes. Elle est très utilisée en médecine et dans les préparations traditionnelles, ses parties utilisées sont les fleurs, les feuilles, la tige et les racines (**Zarrou, 2012**).

C'est une plante de 10 à 20cm de hauteur à tiges nombreuses couchées puis redressées et sous forme de touffes ; Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre ; les fleurs toutes en tubes de coloration jaune groupées en capitules dont le diamètre est de 6 à 7 mm (**Ozenda, 2004 ; Makhloufi *et al.*, 2012**).



Figure 1: Photographie de *M. pubescens*.

Embranchement : Angiospermes ;
 Classe : Dicotylédones ;
 Sous-classe : Gamopétales ;
 Ordre : Astérales ;
 Famille : Asteraceae (Compositae) ;
 Genre : *Matricaria* ;
 Espèce : *Matricaria pubescens*.

Figure 2: Classification de *M. pubescens*.

I.2. Utilisations de *M. pubescens*

✓ En médecine

Matricaria pubescens est une herbe qui n'est pas signalée comme toxique par les nomades et elle est très appréciée par les habitants des régions sahariennes (**Bellakhdar, 1997; Ould el hadj, 2003**). Elle est utilisée pour traiter les troubles gastro-intestinaux, du les calculs biliaires, la dysménorrhée, la toux, les maladies oculaires, les maladies rénales, les rhumatismes, les douleurs des maladies infectieuses, les malaises de l'abdomen, la sécheresse, les maux liés à la dentition chez les enfants, ainsi que les allergies et les morsures des scorpions. La plante possède des propriétés antiseptiques (**Makhloufi *et al.*, 2012**).

Selon Maiza *et al.* (1993), l'usage traditionnel de cette plante en Algérie varie d'une région à l'autre :

- El-Goléa: rhumatismes, courbatures, déshydratation, dentition, dysménorrhée, affections oculaires, toux et allergies;
- Béchar : toux, allergies et affections oculaires ;
- Ouargla : toux, dysménorrhée, piqûres de scorpion et allergies.

En usage externe, la matricaire est utilisée couramment dans le domaine dermatologique (**Duraffourd *et al.*, 1990**) :

- Retenues de l'usage : vulnéraire (cicatrisant, antiseptique, antiphlogistique) ;
- Mucodermotrope : anti-inflammatoire, épithéliogène, antiulcéreux, lénitif ;
- Anti-infectieux : antifongique, antibactérien.

✓ **En alimentation**

La matricaire est utilisée afin d'aromatiser et d'améliorer le goût des aliments. Elle est récoltée et commercialisée à grande échelle dans les marchés. Les tiges broyées et les feuilles sont utilisées comme un filtre pour le beurre des chèvres, ce qui donne un arôme agréable au beurre et aide à le conserver (**Makhloufi *et al.*, 2012**). Cette plante est utilisée pour donner une bonne saveur au thé et à la soupe traditionnelle et donne à la nourriture une odeur très agréable (**Martinez *et al.*, 2012**).

I.3. Composition chimique de *M. pubescens*

Un grand nombre du genre de *Matricaria* ont fait à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés. Les recherches phytochimiques de la *M. pubescens* ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des terpénoïdes, des stéroïdes, et des cardenolides (**Djellouli *et al.*, 2013**).

I.4. Les alcaloïdes

En 1803, DEROSNE a isolé le premier alcaloïde semi-pur du latex sec de l'opium (*Papaver somniferum*), une drogue utilisée depuis des siècles pour des propriétés analgésiques.

Le terme alcaloïde a été introduit par Meisner au début du XIX^{ème} siècle et la définition admise de celui-ci est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910, définissant un alcaloïde comme étant un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Hurabielle et Paris, 1980; Facchini, 2001; Muniz, 2006; Seghiri, 200 ; Boudjerda, 2011**).

I.4.1. Classification des alcaloïdes

Depuis leur découverte et jusqu'à maintenant il y a plus de 10 000 alcaloïdes isolés ou détectés à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. La classification des alcaloïdes est basée sur plusieurs critères : l'origine biologique, la voie de biosynthèse et la structure (**Badiaga, 2011**). On distingue alors trois grandes classes selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle: Les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes.

I.4.1.1. Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais sont des substances d'origine naturelle et de distribution restreinte, de structure souvent complexe azotée et de caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative (Tableau I).

I.4.1.2. Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés (**Bruneton, 1999 ; Maldonado, 2012**) (Tableau II).

I.4.1.3. Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes sont des métabolites présentant les caractéristiques des alcaloïdes vrais, excepté leur origine biosynthétique. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (Tableau III).

Tableau I : Principaux types d'alcaloïdes vrais et leurs précurseurs de synthèse en acides aminés (Muniz, 2006).

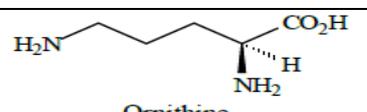
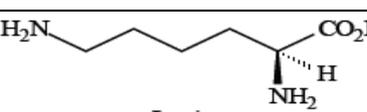
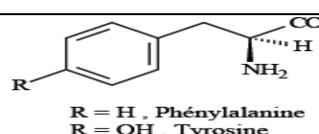
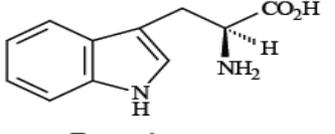
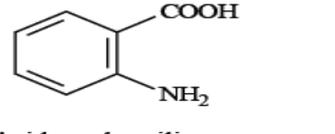
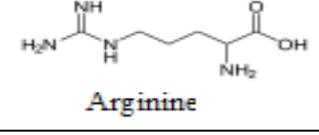
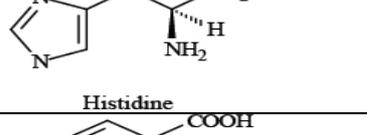
Précurseurs (acides aminés)	Groupe d'alcaloïdes	Exemples
 <p>Ornithine</p>	Pyrrolidines Pyrrolizidines Tropanes	Hygrine Mételoidine Atropine, Cocaïne
 <p>Lysine</p>	Pipéridines, Quinolizidines, Indolizidines	Conine, pipérine Lupinine Swansonine
 <p>R = H , Phénylalanine R = OH , Tyrosine</p>	Isoquinoléines	Codéine, morphine
 <p>Tryptophane</p>	Indoles	Sérotonine, tryptamine
 <p>Acide anthranilique</p>	Quinoléines Quinazolines Acridines	Perforine Péganine Acronycine
 <p>Arginine</p>	β -carboline	Saxitoxine
 <p>Histidine</p>	Imidazoles	Histamine
 <p>Acide nicotinique</p>	Pyridines	Nicotine

Tableau II: Principaux types des proto-alcaloïdes et leurs précurseurs de synthèse en acides aminés (Muniz, 2006).

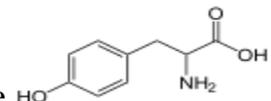
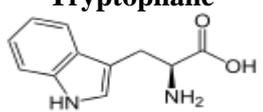
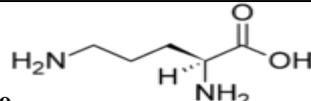
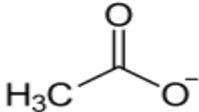
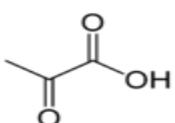
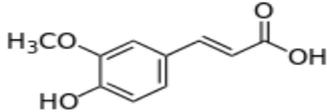
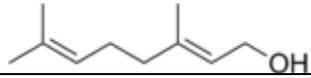
Précurseurs (acides aminés)	Groupe d'alcaloïdes	Exemples
<p>Tyrosine</p> 	Phényléthylamines	Adrénaline, Dopamine
<p>Tryptophane</p> 	Indolterpène	Yohimbine
<p>Ornithine</p> 	Pyrrolizidine	Stachydrine

Tableau III : Principaux types des pseudo-alcaloïdes vrais et leurs précurseurs de synthèse (Muniz, 2006).

Précurseurs (acides aminés)	Groupe d'alcaloïdes	Exemples
<p>Acétate</p> 	Pipéridine Sesquiterpène	Coniine, Pinidine Worforine, Evonine
<p>Acide pyrovique</p> 	Ephédra	Ephédrine, Cathine
<p>Acide férulique</p> 	Hényle	Capsaïcine
<p>Géraniol</p> 	Trepénoïde	Aconine, Gentianine
<p>Saponines</p>	Stéroïdes	Cholestane, Solanidine

I.4.2. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances azotées de masses moléculaires très variables de 100 à 900g/mol. La plupart des alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ambiante (nicotine, spartéine, coniine); ceux contenant l'oxygène dans leur formule sont le plus souvent des solides cristallisables, rarement colorés (berbérine) (**Bruneton, 1999**).

Les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires et solubles dans les alcools de titre élevé (**Hurabielle et Paris, 1980**). La basicité des alcaloïdes est très variable, étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité tandis que des groupements électro-donneurs la renforcent. La basicité est également influencée par des contraintes stériques, elle est un facteur d'instabilité pour ces molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière ainsi qu'à l'oxygène (**Bruneton, 1999**).

Les alcaloïdes ont une basicité plus ou moins marquée, ils peuvent former des sels avec des acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates). Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués, ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires, sauf rares exceptions. Les sels cristallisés se conservent plutôt bien, ils constituent la forme commerciale habituelle pour ces molécules (**Bruneton, 1999**).

I.4.3. Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés sur les mammifères comme l'Homme. Plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, épinephrine, norépinephrine, acide γ -aminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine. Les alcaloïdes présentent plusieurs activités pharmacologiques: Analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), détressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaïne), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (éphédrine), etc... (**Badiaga, 2011**).

Plusieurs alcaloïdes jouent également un rôle de paralysants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques et servent de modèle pour la synthèse d'analogues avec des propriétés meilleures (**Bruneton, 1999**).

I.5. Notion de toxicité

À l'origine, il n'existe pas de définition acceptée de manière générale pour la notion de toxique, un composé qui peut occasionner des lésions, internes ou externes, à l'organisme humain ou animal comme la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité, en cas de contact ou d'ingestion d'une quantité relativement faible de graines, de racines, de feuilles, de fruits ou de sève. Le degré de toxicité d'une plante dépend de la dose « Tout est poison, rien n'est poison seule la dose fait le poison (paracelse 1493-1551) » (**Richel, 2004**).

On distingue classiquement trois formes essentielles de toxicité: la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaiguë ou sub-chronique) et la toxicité à long terme (ou chronique). Si la toxicité est une propriété inhérente à la substance, d'autres facteurs peuvent intervenir pour en moduler la nature et l'étendue (**Viala et Botta, 2005**).

I.5.1. Classification de la toxicité

I.5.1.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'une substance correspond aux effets indésirables qui se manifestent après administration par voie orale ou cutanée d'une dose unique, ou de plusieurs doses réparties sur un intervalle de temps de 24 heures ou suite à une exposition par inhalation de 4 heures (**Claverie et Hedde, 2008**).

L'étude de la toxicité aiguë aboutit classiquement à la détermination de la dose létale 50 (DL50), qui désigne la dose d'une substance qui peut causer la mort de 50% d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. De ce fait, la mesure de la DL50 peut établir un classement pour ces substances plus qu'elle est faible, plus que la substance est toxique, et l'inverse est juste (**Reichl, 2004**) (Tableau IV).

Tableau IV : Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs (**Hodge et Sterner, 1949**).

DL50 Orale	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg/kg	extrêmement toxique
1 à 50mg/kg	Hautement toxique
50 à 500mg/kg	Modérément toxique
500 à 5000mg/kg	légèrement toxique
5000 à 15000mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	Relativement inoffensif

Cependant, la DL50 a une valeur très limitée, car il ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire (première analyse) qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de traitement, etc. (**Lapointe, 2004**).

I.5.1.2.Toxicité subaiguë (sub-chronique)

Lors de la toxicité sub-chronique, le xénobiotique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, de 28 aux 90 jours. On cherche à définir les organes et les fonctions touchées par ce toxique. Pour une dose déterminée l'effet attendu peut manifester immédiatement ou avec retard (**Claverie et Hedde, 2008**).

I.5.1.3.Toxicité chronique

La toxicité chronique est définie comme étant la mise en évidence d'effets toxiques après l'administration répétée d'une dose de la substance à tester, pendant une période de temps longue, supérieure à 90 jours (**Boukeloua, 2009**).

I.5.2. Devenir d'un toxique dans l'organisme

Une substance qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfastes (toxiques). La réponse de l'organisme à un toxique dépend de la quantité de la substance présente dans un tissu ou un organe. Plusieurs facteurs interviennent dans les processus d'action toxique, notamment les phases toxicocinétiques et toxicodynamiques (**Baynes et Hodgson, 2010**).

I.5.3. Organes ciblés par les toxiques

Un toxique n'affecte pas tous les organes avec la même intensité. Il agit plus spécifiquement sur certains organes du fait d'une très grande sensibilité de ces organes ou d'une concentration plus élevée de la molécule inchangée et/ou de ses métabolites à leur niveau (**Viala et Botta, 2005**).

Le foie et les reins, qui ont des fonctions métaboliques et excrétoires plus importantes et bénéficient d'une très large irrigation sanguine, sont particulièrement exposés aux toxiques. Les substances capables de traverser la barrière hémato-encéphalique peuvent exercer leur toxicité au niveau du système nerveux. Ainsi, le système respiratoire constitue un organe cible pour les toxiques gazeux ou volatiles (**Viala et Botta, 2005**).

I.6. Activité anti-inflammatoire

Les substances à activité anti-inflammatoire sont destinées à contrôler l'excès de la réaction spécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (**Muster, 2005**).

L'inflammation est la réponse des tissus vivants à une agression qui peut être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse, elle constitue l'un des mécanismes les plus importants des défenses de l'organisme (**Russo-Marie et al., 1998**).

I.6.1. Phases de l'inflammation

Trois séquences d'événements complexes composent la réponse inflammatoire :

- Phase d'initiation ou vasculaire qui est caractérisée par l'intervention des différents médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, les kinines, les prostaglandines, l'oxyde nitrique (NO) et les espèces réactives d'oxygène (ERO) (**Mackenzie, 2011**) qui entraînent l'activation de l'endothélium, ce qui provoque une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité capillaire et un ralentissement du

courant sanguin ce qui traduit par les signes suivants : chaleur, rougeur, douleur et œdème (**Aouissa, 2002**) ;

- Phase d'amplification ou cellulaire qui se manifeste par l'activation, mobilisation, différenciation et prolifération de nombreuses cellules telles que: les polynucléaires neutrophiles, les plaquettes, les mastocytes et macrophages (**Weill et batteux, 2003**), qui infiltrent les tissus lésés ce qui permet l'élimination du pathogène par la libération d'enzymes protéolytiques qui entretiennent l'inflammation (**Borel et al., 1997**) ;
- Phase de cicatrisation c'est la réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé, on assiste à une multiplication des fibroblastes et synthèse des constituants de la matrice cellulaire tel que : collagène et proteoglycanes (**Gazengel, 2000**).

I.6.2. Les médicaments anti-inflammatoires (anti-inflammatoires synthétiques)

Les médicaments anti-inflammatoires permettent de suspendre ou de ralentir le processus d'inflammation, d'en effacer ou d'en atténuer les manifestations cliniques, parfois même d'en guérir les lésions mais non d'en traiter la cause (**Bastide et al., 1993**). Ils se classent en deux grandes classes : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens.

- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes (GC)**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont des médicaments utilisés contre l'inflammation, dérivés d'hormones naturelles sécrétées par le cortex surrénale ou hémisynthétisés à partir d'extraits animaux ou végétaux (**Coyen, 1981**).

Les AIS sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Ils inhibent aussi l'activité de la phospholipase A2 en réduisant la production de l'acide arachidonique et, en conséquence la synthèse des prostaglandines, thromboxanes et des leucotriènes (Figure 3). Cela explique la grande efficacité des glucocorticoïdes sur les phénomènes inflammatoires, en réduisant les migrations cellulaires vers le site inflammatoire, modulent les fonctions cellulaires des lymphocytes et macrophages et modifient la production des cytokines (**Devillier, 2005**).

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens demeurent une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le cadre de la prescription médicale ou de celui de l'automédication, en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques ou antalgiques (Jouzeau *et al.*, 2004).

Les AINS inhibent la production des prostaglandines et des thromboxanes en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif de la cyclo-oxygénase (Blain *et al.*, 2000) (Figure 3).

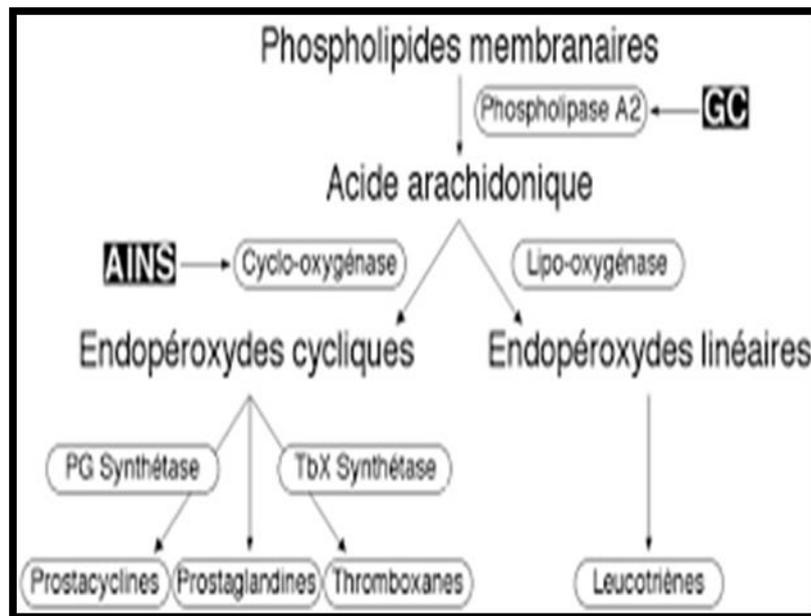


Figure 3: Mécanisme d'action des anti-inflammatoires AINS et GC (Nicolas, 2001).

I.7. Activité analgésique

Depuis 1967, l'association internationale pour l'étude de la douleur (IASP) définit la douleur comme «une expérience sensorielle ou émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire présent ou décrite en terme d'un tel dommage » (Mauray, 2000).

La douleur est définie; comme la sensation ressentie par un organisme dont le système nerveux détecte un stimulus nociceptif (Langlade, 2001). La douleur correspond à un signal d'alarme de l'organisme pour traduire une agression extérieure qui met en cause son intégrité physique. Selon le rapport de l'IASP (association international pour l'étude de douleur), la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, liée à des lésions tissulaires réelles ou décrites en termes de telles lésion (Maïga, 1989). Cette définition a été retenus par l'OMS (organisation mondiale de la santé) (OMS, 1990).

I.7.1. Mécanisme de la douleur

La transmission douloureuse est un phénomène complexe impliquant des mécanismes électro-physiologiques et neurochimiques, où trois étapes vont se succéder (Figure 4) :

- L'élaboration de l'influx au niveau du nocicepteur (récepteur nerveux assurant la transmission des stimulations produisant de la douleur) et sa transmission dans la fibre nerveuse périphérique (Chrrier et Wahl, 2007) ;
- Le relais et la modulation au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière (transmission de l'influx, blocage ou amplification, convergence des différents influx) ;
- L'intégration au niveau du cerveau qui le transforme en message conscient : sensation douloureuse avec une composante sensori-discriminative (intensité, localisation, durée du stimulus nociceptif), et une composante émotionnelle et affective désagréable (Chrrier et Wahl, 2007).

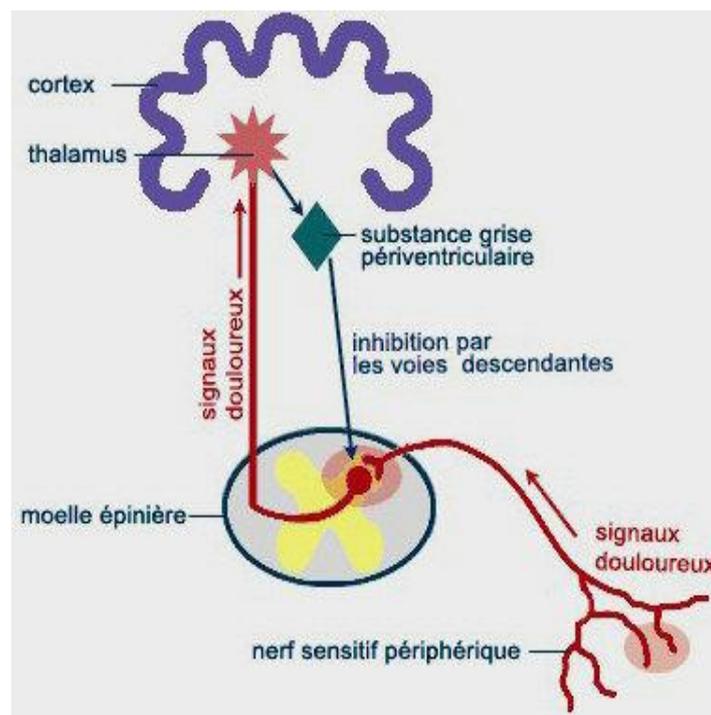


Figure 4 : La Transmission douloureuse (Chrrier et Wahl, 2007).

I.7.2. Différents types de douleur

En physiopathologie, on peut classer la douleur en trois catégories (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

- **La douleur physiologique**

La nociception, est une fonction biologique du système nociceptif dont le rôle est de préserver l'intégrité corporelle. Sa réponse est immédiate, prévisible, reproductible et modulée par des contrôles descendants (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

L'organisme est équipé d'une grande variété de nocicepteurs, c'est à dire des récepteurs sensoriels capables d'encoder certains stimulus nocifs et de l'informer (nociception) d'une menace réelle ou potentielle pour son intégrité corporelle ; ces nocicepteurs primaires sont omniprésents et peuvent constituer entre 60 à 95% du contingent des fibres afférentes dans un nerf périphérique (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

L'activation brève et sélective des nocicepteurs A delta évoque typiquement une sensation de piqûre très localisée (encore appelée «douleur rapide » ou «douleur picritique») tandis que l'activation brève et sélective des nocicepteurs C évoque une sensation de brûlure diffuse (encore appelée «douleur lente » ou « protopathique ») s'étendant bien au-delà des limites spatiotemporelles du stimulus nociceptif. La plupart de ces nocicepteurs sont capables d'encoder des stimuli nocifs mécaniques, thermique et chimiques (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

- **La douleur inflammatoire**

La persistance du stimulus nocif et la réaction inflammatoire qu'il déclenche vont profondément modifier les caractéristiques opératoires de ce système nociceptif «physiologique» en créant un état de sensibilisation. Cet état est caractérisé par les signes clinique suivants : allodynie, hyperalgésie primaire, hyperalgésie secondaire, hyperalgésie par sommation temporelle et douleur spontanée.

Cette transformation du système nociceptif se réalise à travers une série de mécanismes périphérique et centraux de sensibilisation (potentialisation, des inhibitions, plasticité de la connectivité neuronale...) plus au moins réversibles avec des constantes de temps pouvant aller de quelques minutes à plusieurs mois (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**) (Figure 5).

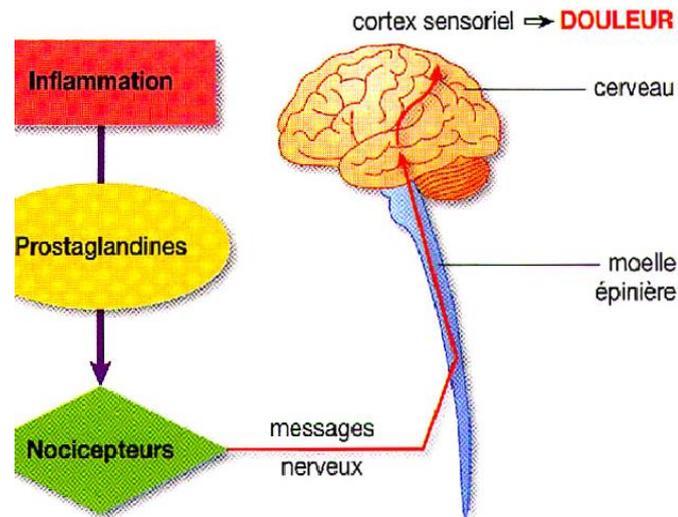


Figure 5 : Transmission du message nerveux lors d'une inflammation (**Kandel et Schwartz, 1985**).

- **La douleur neuropathique**

Lorsque le système nociceptif, périphérique ou central, fait lui-même l'objet d'une agression, d'autres phénomènes pathologiques vont se manifester. Ils apparaissent souvent avec une latence de plusieurs semaines (voire des mois) par rapport à la lésion initiale. Ils sont groupés sous l'entité «douleur neuropathique». Ces douleurs neuropathique sont souvent décrites comme des sensations de brûlure associées ou non, à des phénomènes paroxystique, ressenties comme des décharges électriques ou des éclairs douloureux (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

Elles sont fréquemment associées à des perturbations du système neurovégétatif, en particulier sympathique, responsables de troubles vasomoteurs et trophiques cutanées. Les dysfonctionnements qui résultant des transformations neuropathiques du système nociceptif n'ont pas de finalité biologique évidente (**Vanhaewyn et Cerexhe, 2004**).

I.7.3. Les analgésiques

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments ayant pour but d'éliminer ou d'atténuer la douleur par action périphérique et/ou centrale, sans provoquer une perte de conscience. Les analgésiques sont généralement répartis en deux classes (**Aouissa, 2002**).

- **Les analgésiques morphiniques (opioïdes)**

L'analgésique morphinique est sélectif. Elle supprime les sensations douloureuses, sans altérer les autres sensations en préservant l'état de conscience. Autrement dit, elle augmente le seuil de perception de tous les stimuli douloureux. La durée et l'intensité de l'analgésie sont en rapport direct avec la voie d'administration, la sensibilité individuelle et la dose (au-delà d'un seuil les effets toxiques sont majorés). La morphine soulage bien les douleurs sourdes (contusion, fracture), les douleurs viscérales et les douleurs aiguës (**Aouissa, 2002**).

- **Les analgésiques non morphiniques (non opioïdes)**

Les analgésiques non sont soit seulement sédatifs de la douleur, on les appelle encore antalgiques purs ; soit à la fois antalgiques ou antipyrétiques ou anti-inflammatoires. Ces médicaments ont une action analgésique beaucoup moins forte que celle analgésique centrale comme la morphine. Leurs effets se manifestent dans les douleurs peu intenses (céphalées, névralgie, arthralgie, maux de dents...) (**Aouissa, 2002**).



*MATÉRIEL ET
METHODES*

II.1. Matériel

II.1.1. Préparation du matériel végétal

La plante « *Matricaria pubescens* » a été récoltée dans la région de Hassi Massoud willaya de Ouargla durant le mois de mars 2014. Après la récolte, l'échantillon a été séché à température ambiante à l'abri de la lumière. La matière sèche obtenue est réduite en poudre puis tamisée, les fractions dont le diamètre est inférieur à 250 μ m sont utilisées pour la préparation de l'extrait.

II.1.2. Choix des animaux et conditions d'hébergement

Pour évaluer la toxicité, les activités anti-inflammatoire et analgésique *in vivo* de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, des souris mâles et femelles de variété Wistar (Figure 6), d'un poids corporel variant entre 18 et 26g avec une moyenne d'âge de 6 à 8 semaines ont été utilisées. Ces animaux proviennent du centre d'élevage de l'Institut Pasteur d'Alger. L'expérimentation a été réalisée au niveau de laboratoire d'expérimentation animale de l'université de Bejaia.

Les souris ont été logées aléatoirement dans des cages standards inoxydables, pour une période d'acclimatation d'environ un mois avec une quantité précise et mesurée de l'eau et de la nourriture (Aliments pour bétails, ONAB Bejaia), à une température ambiante (20 \pm 2°C). Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation n'ont pas été prises en considération. La litière utilisée est la sciure, qui est renouvelée chaque deux jour pour tous les groupes de souris.



Figure 6: Elevage des souris Wistar (original)

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction des alcaloïdes de *M. pubescens*

La méthode d'extraction des alcaloïdes totaux de la matricaire a été réalisée selon le protocole de Makkar et *al.* (2007) dont lequel des modifications ont été apportées. Ce protocole est précédé par une délipidation, en mélangeant 20g de poudre végétale avec 100mL d'hexane. Après 48 heures de macération, le mélange est filtré, le marc obtenu est séché à l'air libre, et le filtrat est jeté.

Afin d'extraire les alcaloïdes de *M. pubescens*, 10g de poudre délipidée est mélangée avec 100mL d'acide acétique à 15% (dans le méthanol). Après 72h de macération une filtration est réalisée, le filtrat récupéré est alcalinisé avec de l'ammoniaque jusqu'à PH = 9. Après la filtration, l'extrait est concentré au rota-vapeur, puis alcalinisé par l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque. La solution obtenue est extraite par le chloroforme jusqu'à épuisement total, la phase organique est concentré. Le résidu sec obtenu représente les alcaloïdes.

II.2.2. Détermination du taux d'extraction

Le rendement de l'extraction en alcaloïdes est déterminé par la différence entre le poids du bécher plein et le poids du bécher vide. Le pourcentage d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E] * 100$$

P₀: poids du bécher vide (g).

P₁: poids du bécher après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon initial (g).

II.2.3. Etude de la toxicité des alcaloïdes de *M. pubescens*

II.2.3.1. Etude de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë a été déterminée selon la méthode préconisée par l'article de l'OCDE n°425 (2008). Elle permet de évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court de 1 à 14 jours, après l'administration en une seule dose d'une substance chimique.

Après une nuit de jeûne, l'administration de l'extrait s'est effectuée par voie orale et en une seule dose. Notant que le volume de la solution administrée aux différents groupes de

souris est constant (0.5mL). Lors de cette étude, les souris ont été laissées à jeun pendant environ 16 h, puis réparties selon l'homogénéité de leur poids sur 3 lots de 6 souris chacun:

- **Lot I (lot témoin)** : ces souris ont reçu uniquement de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).
- **Lot II et III (lots traités)** : ces groupes de souris ont reçu respectivement les doses 2500 et 5000mg/kg.

II.2.3.2. Etude de la toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë a été déterminée selon les méthodes de l'article de l'OCDE n°407 (2008). Cette étude est réalisée dans le but de rechercher les organes et les fonctions touchés par un toxique administré quotidiennement, en une période de 28 jours.

Après une nuit de jeûne, l'administration de l'extrait (Figure 7) aux souris femelles qui ont été réparties sur 4 groupes de 6 souris chacun selon l'homogénéité de leur poids corporel, a été réalisée avec un volume constant de 0.5mL/souris :

- **Lot I (lot témoin)** : ce groupe de souris a reçu uniquement de l'eau physiologique (NaCl 0.9 %).
- **Lot II, III et IV**: lots traités par l'extrait, respectivement avec les doses de 200,400 et 800mg/kg.



Figure 7: Administration de l'échantillon par voie orale (original).

II.2.3.3. Observation du comportement des animaux

Les animaux ont été observés individuellement, au moins pendant les 4 premières heures suivant l'administration de l'échantillon, puis quotidiennement durant une durée de 30 minutes pour une période d'observation totalisant 14 jours pour l'étude aigüe et 28 jours pour l'étude subaiguë, afin de noter le comportement des souris, les symptômes manifestés ainsi que la mortalité.

II.2.3.4. Etude de l'évolution pondérale des souris

Le poids corporel des souris utilisées dans ces études a été mesuré, peu de temps avant l'administration de l'échantillon, et après chaque 7 jour du début du test de la toxicité aiguë (7^{ème} et 14^{ème} jour). Lors de l'étude de la toxicité subaiguë, le poids des souris a été noté chaque semaine (7^{ème}, 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jour).

II.2.3.5. Mesure du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

Le volume d'eau et la quantité de nourriture consommés ont été mesurés quotidiennement, soit lors de l'étude de la toxicité aiguë ou subaiguë. La nourriture déposée dans l'auge (couvercle des cages), a été préalablement pesée, et cela rendait possible la mesure de la quantité consommée en pesant la nourriture restante dans l'auge. Le volume d'eau consommé a été mesuré par la même méthode, en mesurant le volume d'eau restant dans les biberons.

II.2.3.6. Prélèvement d'organes

A la fin des expériences, les animaux ont été mis à jeun la veille du prélèvement d'organes. Le lendemain, ils ont été sacrifiés, après l'examen macroscopique du cadavre, ils ont été fixés en décubitus dorsal sur une plaque en bois, en fixant solidement les quatre pattes à l'aide d'aiguilles de fixation (Figure 8).



Figure 8: Préparation du matériel et fixation de l'animal (original)

Trois incisions ont été réalisées sur les souris. Une petite incision au niveau du périnée jusqu'au menton, puis deux autres incisions perpendiculaires à la première ont été également pratiquées. Après dissection les organes : le foie, la rate, les reins, les poumons, le cœur,

l'estomac et le cerveau sont observés macroscopiquement *in situ*, puis prélevés (Figure 9) et déposés dans l'eau physiologie, dégraissés, séchés par le papier filtre et pesés.



Figure 9: Prélèvement de différents organes (original)

II.2.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes de *M. pubescens*

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, la méthode de l'œdème à la carragénine de Winter et *al.* (1958) a été utilisée. Les souris ont reçu l'extrait de la plante étudiée aux différentes doses et le diclofénac, à raison de 0.5mL/souris, par voie orale une heure avant l'injection de la carragénine (Figure 10).

Les souris Wistar (mâle et femelle de 18 à 25 g) ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérimentation et réparties selon leur poids corporel en 5 lots de 8:

- **Lot I (lot témoin)** : a reçu de l'eau physiologique (NaCl 0.9%) ;
- **Lot II (lot contrôle)** : a reçu un anti-inflammatoire de référence le diclofénac à la dose de 50mg/kg dissous dans 0.9 % NaCl.
- **Lots III, IV et V (lots traités)** : ont reçus les doses 50, 100 et 200mg d'alcaloïdes /kg dissous dans 0.9 % NaCl.



Figure 10: Injection de la carragénine (original)

L'œdème est évalué par la mesure du volume de la patte (ml) par immersion dans le liquide contenu dans la cellule du pléthysmomètre avant et à des intervalles d'une heure, pendant 6 heures après injection de la carragénine. L'immersion de la patte provoque le déplacement du volume qui correspond au volume de la patte de la souris (Figure 11). Ce volume est traduit et enregistré grâce à la partie électronique du pléthysmomètre.



Figure 11: La mesure de l'œdème par le pléthysmomètre (original)

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème, suivant la formule (Daudet *al.*, 2006) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[\frac{(V_n - V_0)_{\text{témoin}} - (V_n - V_0)_{\text{traité}}}{(V_n - V_0)_{\text{témoin}}} \right] * 100$$

V_0 : volume moyen mesuré avant l'injection de la carragénine.

V_n : volume moyen mesuré aux heures de relevé $n=1$ à 6 heures après l'injection de la carragénine.

II.2.5. Etude de l'activité analgésique des alcaloïdes de *M. pubescens*

II.2.5.1. Test de contorsion (acide acétique)

Pour mettre en évidence l'activité analgésique périphérique des alcaloïdes de *M. pubescens*, une douleur abdominale a été induite aux souris par l'injection intra-péritonéale d'une solution d'acide acétique (0.6%) (Figure12), suivant la méthode décrite par Mohsin et *al.* (2012), une heure après l'administration des différents traitements.

Des souris mâle et femelles de 18 à 25g ont été mises à jeun une nuit avant le test, puis réparties selon leur poids corporel en 5 lots de 6 souris chacun. L'administration des différents traitements a été réalisée comme suit (en raison de 0.5mL/souris):

- **Lot I (lot témoin)** : a reçu de l'eau physiologique (NaCl 0.9%).
- **Lot II (lot contrôle)** : reçoit un analgésique de référence (aspirine) à 200mg/kg dissous dans du NaCl à 0.9%.
- **Lot III, IV et V (lots traités)** : ont reçu les doses d'extrait 50, 100 et 200mg/kg dissous dans NaCl (0.9%).



Figure 12: Injection intra-péritonéale de l'acide acétique (original)

Après cinq minutes de l'injection de l'acide acétique, le nombre de contorsion a été compté chez chaque souris durant 30 minutes. Cette douleur se traduit par des étirements des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale.

L'effet analgésique périphérique a été évalué selon la formule suivante (Sanogo *et al.*, 2006) :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(W_{\text{témoin}} - W_{\text{traité}}) / W_{\text{témoins}}] * 100$$

$W_{\text{témoin}}$: Moyenne du nombre de contorsions groupe témoin ;

$W_{\text{traité}}$: Moyenne du nombre de contorsion groupe traité.

II.2.5.2. Test de l'immersion de la queue

L'effet analgésique central des alcaloïdes du *M. pubescens* a été évalué en produisant des stimulus thermiques par la méthode d'immersion de la queue de la souris dans un bain d'eau chauffé à $54 \pm 1^\circ$ (Mohsin *et al.*, 2012) (Figure 13).

Des souris mâles de 18 à 25g ont été mises à jeun une nuit avant le test, puis réparties selon leur poids corporel en 5 lots de 8 souris chacun. Les souris ont été traitées par voie intra-gastrique comme suit (en raison de 0.5mL/souris) :

- **Lot I (lot témoin)** : reçoit l'eau physiologique (NaCl 0.9%).
- **Lot II (lot control)** : les souris ont été traitées avec l'aspirine à 200mg/kg.
- **Lot III, IV et V (lots traités)** : les souris reçoivent l'extrait à 50, 100 et 200mg/kg dissous dans NaCl 0,9%.



Figure 13: Immersion et retrait de la queue de la souris (original)

Le temps de retrait de la queue de l'eau chaude (en secondes) sera noté comme le temps de la réaction et il sera mesuré à 30, 60, 90, 120 et 180mn après le traitement. Le temps limite maximal pour le retrait de la queue de l'eau chaude était de 15 secondes pour éviter la blessure cutanée de la queue.

L'effet analgésique central a été évalué par la détermination du pourcentage d'effet maximal, selon la formule suivante (Ramabadran, 1989):

$$\% \text{ d'effet maximal} = [(T_n - T_0) / T_n] * 100$$

T₀ : Le temps de latence à 0 min (avant les différents traitements).

T_n : Le temps de latence aux heures de relevé n=30 min à 3 heures après les différents traitements.

II.2.6. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité $P < 0.05$. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm erreur standard (ES).



*RESULTATS ET
DISCUSSION*

III.1. Le rendement d'extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir de *Matricaria pubescens* est obtenue par macération en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol acidifié. Cette extraction est basée sur leur différence de solubilité et sur leur basicité en milieu acide, ce qui a permis de donner un taux d'extraction de 1.13%.

III.2. Evaluation de la toxicité des alcaloïdique de *M. pubescens*

III.2.1. Toxicité aigue

III.2.1.1. Evaluation de comportement des animaux, signes de toxicité et mortalité

Dans le tableau N° V sont présentés les résultats des comportements, signes de toxicité et de mortalité des souris exposées à une dose unique de la substance d'essai.

L'observation a été minutieusement effectuée durant 14 jours successifs après l'administration orale des différentes doses 2500 et 5000mg/kg de l'extrait de *M. pubescens*. Cependant pendant cette période d'observation, les souris n'ont pas montré aucun changement dans l'apparence physique générale et aucun comportement anormal.

Les résultats obtenus montrent que les doses de l'extrait administrées aux souris (2500 et 5000mg/kg) ont été bien tolérées, d'ailleurs aucun cas de mortalité liée à la substance d'essai n'a été signalé.

Tableau V: Evaluation des comportements, symptômes et de mortalité des souris lors de l'étude de la toxicité aigüe.

	Témoin	2500mg/Kg	5000mg/Kg
Désorientation	/	/	/
Tremblements	/	/	/
Convulsions	/	/	/
Salivation	/	/	/
Peau et fourrure	Normal	Normal	Normal
Léthargie	/	/	/
Diarrhée	/	/	/
Rythme Respiratoire	Normal	Normal	Normal
Saignement	/	/	/
Mortalité	0/6	0/6	0/6

(/) : Rien à signaler.

Selon la classification de toxicité selon l'échelle de **Hodge et Sterner** chez les rats de laboratoire (**Hodge et Sterner, 1949**), une DL50 orale $\geq 5000\text{mg/kg}$ signifie une substance presque non toxique, ce qui confirme que l'extrait testé lors de cette étude est presque non toxique.

En raison de l'absence de mortalité, nous pouvons dire que la DL50 de l'extrait administré est largement supérieure à 5000mg/kg qui présente la dose d'essai. Notant également que ce test sert d'un essai limite, qui détermine la dose de l'essai principal, lorsque plus de 50% des animaux meurent.

III.2.1.2. Evolution pondérale

Pour évaluer l'effet toxique d'une substance, on doit vérifier l'évolution du poids corporel, la prise de nourriture et les comportements généraux parce qu'ils sont les premiers signes de toxicité (**Mbaka et al., 2010; Almança et al., 2011; Panunto et al., 2011**).

L'un des paramètres étudié durant ce travail, est l'évolution pondérale des souris étudiées. Ce paramètre est en relation directe avec la toxicité. En fait l'apparition d'une toxicité s'accompagne souvent d'un amaigrissement et perte considérable du poids.

Les résultats de l'évolution du poids corporel des souris pendant la période expérimentale sont représentés sur la figure suivante.

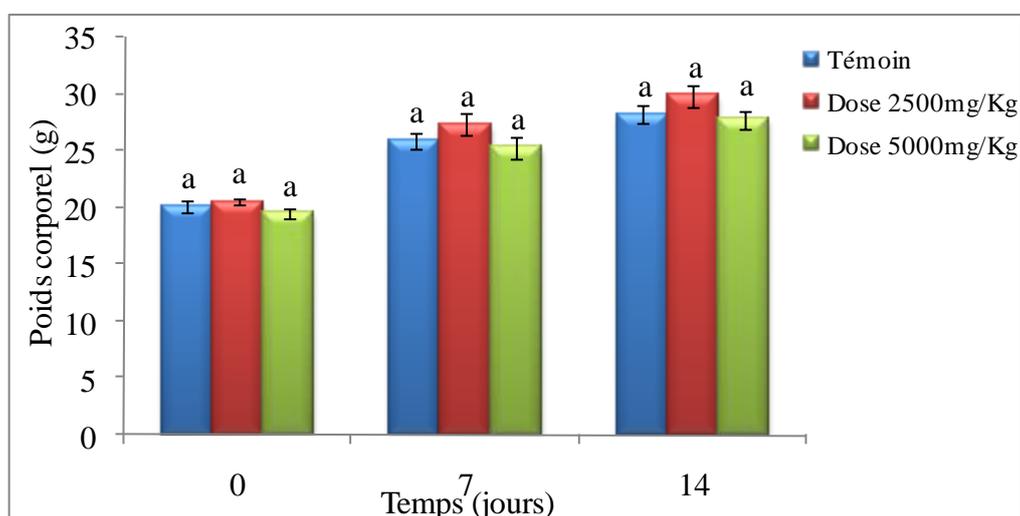


Figure 14 : Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

III.2.1.3. Evaluation de la quantité de nourriture et du volume d'eau consommés

La quantité de nourriture et le volume d'eau consommés sont représentés sur les figures 15 et 16.

L'étude statistique des résultats n'a montré aucune différence significative dans la prise de la nourriture entre les groupes de souris traitées et le groupe témoin durant la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine de l'expérience.

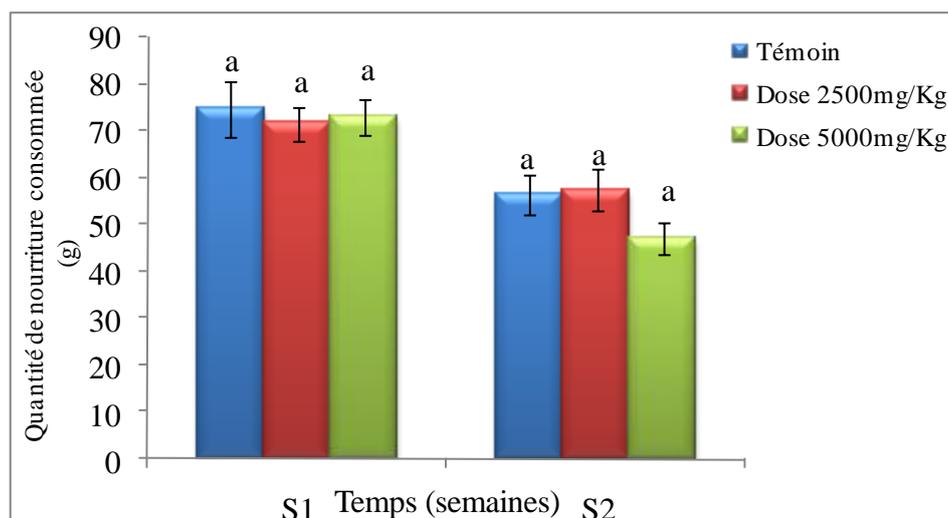


Figure 15: Evaluation de la quantité de la nourriture consommé durant le test de la toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6.

L'analyse des données révèle que la quantité de la nourriture consommée pour toutes les souris testées a diminué de la 1^{ère} à la 2^{ème} semaine. Cette diminution peut être due à la période d'adaptation des souris, cependant lors de la 1^{ère} semaine les souris ont été stressées donc elles ont consommé plus de nourriture.

La quantité de la nourriture consommée diminuée est corrélée à l'état physiologique de l'animal (**Betti et al., 2012**). Ce qui est en accord avec les résultats de la présente étude.

Concernant le volume d'eau consommé, durant la 1^{ère} semaine le groupe traité par la dose 2500mg/kg a consommé le volume d'eau le plus important d'une façon significative ($p < 0.05$) par rapport aux groupe témoin et celui traité par la dose 5000mg/kg. Durant la deuxième semaine aucune différence significative n'a été constatée entre les volumes d'eau consommés par les différents groupes de souris traitées.

L'analyse des résultats a montré que la consommation d'eau par toutes les souris testées durant la 2^{ème} semaine de l'expérience n'a pas présenté de différence significative.

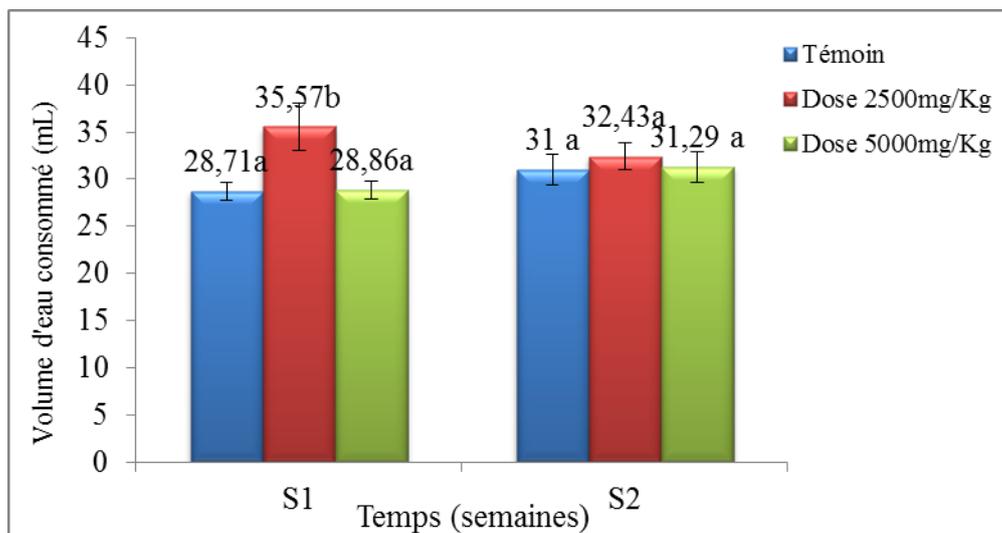


Figure 16: Evaluation de volume d'eau consommé durant le test de toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

III.2.1.4. Evaluation de la masse relative des organes

L'étude statistique des masses des différents organes des groupes traités avec l'extrait de *M. pubescens* (2500 et 500mg/kg) n'a pas montré aucune variation significative par rapport aux poids des différents organes du groupe témoin concernant les organes suivant : rein, rate, cœur et poumon (Figure 17).

Une différence significative ($p < 0.05$) a été révélée entre les masses des organes, estomac et foie, selon le groupe testés. La masse de l'estomac la plus élevée a été constatée chez le groupe traité avec la dose 2500mg/Kg, alors que la masse la plus faible a été trouvée chez le groupe témoin. Concernant le foie, la masse la plus importante a été observée chez le groupe traité avec la dose 5000mg/Kg.

La différence dans le poids de l'estomac et le foie observée chez les différents groupes de souris est due probablement à d'autres facteurs, à part celui des substances toxiques qui induisent généralement des nécroses et des dégénérescences cellulaires, habituellement traduites par des hypotrophies des organes donc diminution de leur poids. Parfois la substance toxique agit en augmentant la masse de l'organe touché, ce qui concorde avec les résultats de cette étude. Généralement, le changement du poids des organes internes est un indice de

toxicité après l'exposition à une substance toxique (Raza *et al.*, 2002; Teo *et al.*, 2002). L'augmentation du poids du foie peut être liée à une congestion par réservation du sang dans le foie (Rasekh *et al.*, 2008).

Généralement, les altérations de la masse relative des organes reflètent la toxicité après l'exposition à une substance toxique. Le cœur, le foie, les reins, la rate et les poumons sont les premiers organes affectés par la réaction métabolique provoquée par le toxique (Jothy *et al.*, 2011).

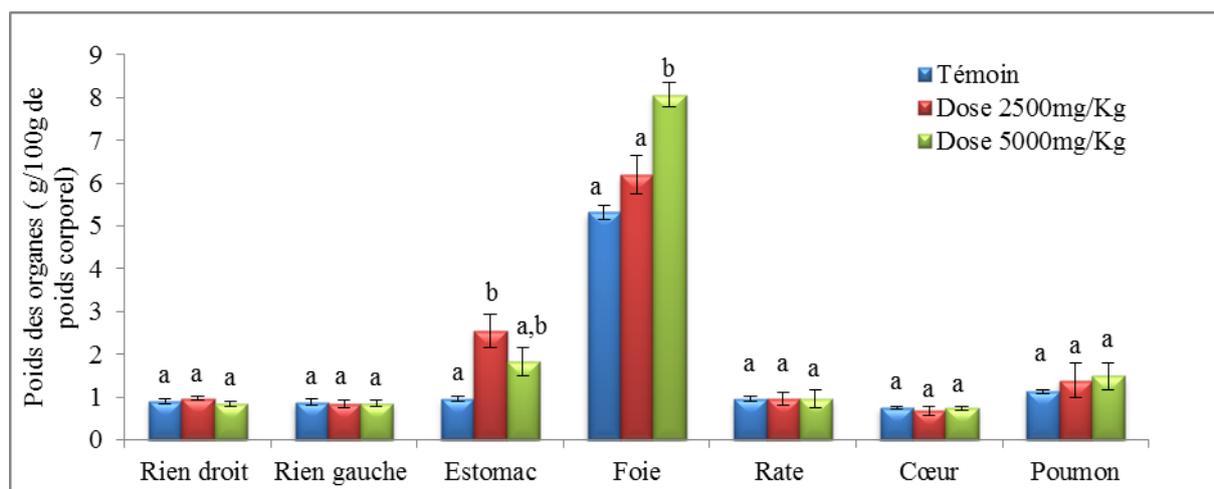


Figure 17: Evaluation de poids corporel des organes de toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

III.2.2. Toxicité subaigüe

Cette étude s'est étalée sur une période de 28 jours successifs, durant laquelle plusieurs paramètres ont été étudiés, des paramètres plus au moins complémentaires à fin d'aboutir à un résultat final confirmatif.

III.2.2.1. Evolution pondéral

Il est intéressant de suivre l'évolution du poids des animaux lors d'une étude toxicologique, car elle peut fournir des renseignements préliminaires sur la substance étudiée.

La variation dans le poids corporel des souris exposées à des doses répétées de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* a été illustrée sur la figure 18.

Après une semaine de traitement par des différentes doses de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* (200, 400 et 800mg/Kg), une augmentation dans le poids corporel des souris a

été enregistrée chez tous les groupes testés. Entre la première et la troisième semaine, une stabilité relative dans le poids corporel a été marquée pour tous les groupes de souris étudiées. Après la troisième semaine une augmentation dans le poids corporel a été notée chez toutes les souris traitées par l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* et non traitées.

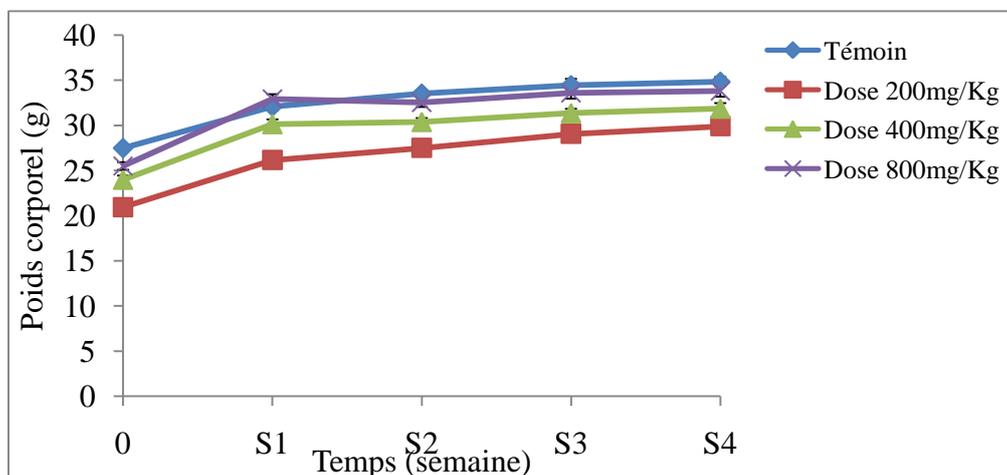


Figure 18: Variation du poids corporel des différentes doses durant le test de la toxicité subaiguë

Le changement du poids est un indice utilisé comme un indicateur général des effets indésirables des composés chimiques (El-Hilaly *et al.*, 2004). Cependant, Ce résultat nous renseigne en partie sur la toxicité de l'extrait étudié. Le poids corporel des souris ayant reçu des doses différentes de l'échantillon (200, 400 et 800mg/kg), n'a pas connu de variation de poids corporel des souris par rapport eux groupe témoin, ce qui nous laisse suggérer la non toxicité de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*.

III.2.2.2. Evaluation de volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

La quantité de la nourriture et du volume d'eau consommés sont représentés sur les figures 19 et 20.

L'analyse statistique des résultats montre une différence significative dans la prise de la nourriture durant la 1^{ère}, la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine entre les groupes traités par des différentes doses de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* ($p < 0.05$) et le groupe témoin. Les souris du lot témoin ont consommé plus de nourriture par rapport à celles des lots traités avec les alcaloïdes de la plante étudiée. Aucune différence significative n'a été révélée entre les lots étudiés pendant la 4^{ème} semaine.

Une diminution dans la consommation de la nourriture a été constatée pendant les quatre semaines du traitement pour toutes les souris des différents groupes. Cela pourrait être expliqué par le facteur stress.

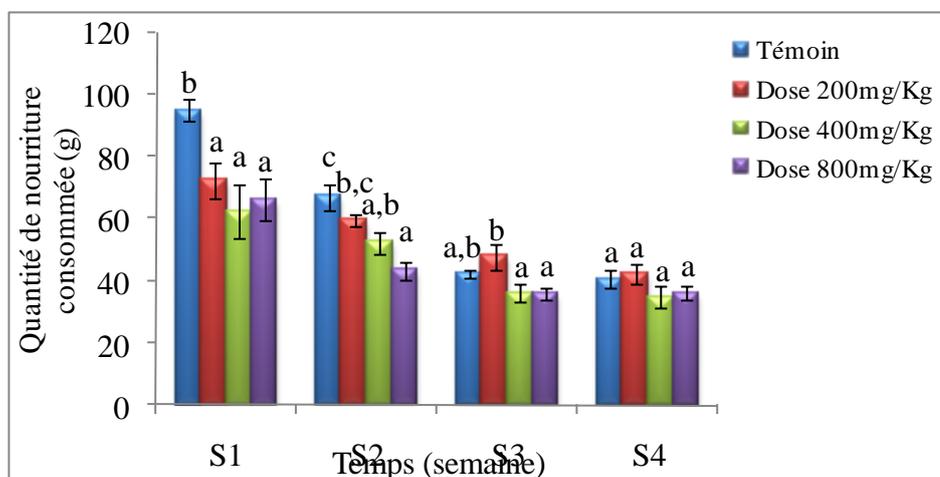


Figure 19: Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de toxicité

Sub-aiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

L'étude statistique des résultats n'a pas révélée des différences significatives entre la consommation d'eau par les souris traitées par les différentes doses de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* (200, 400 et 800mg/kg) et les souris du groupe témoin pendant la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine de l'expérience.

Durant la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine de l'administration de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, le volume d'eau consommé par le lot traité par la dose 800mg/kg est plus élevé par rapport à celui consommé par les autres lots.

La consommation d'eau pour tous les groupes étudiés durant les quatre semaines de cette expérience n'a pas présenté une différence.

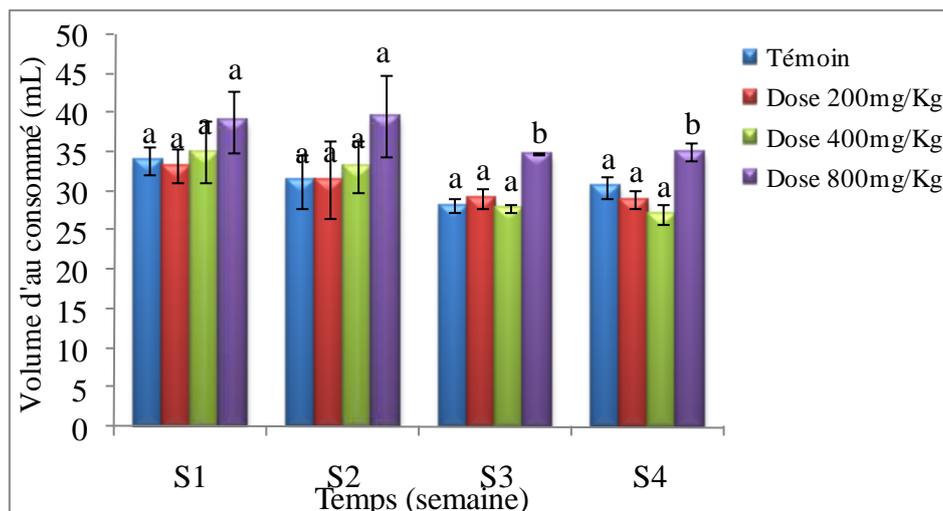


Figure 20: Evaluation du volume d'eau consommé durant la toxicité subaiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6.

III.2.2.3. Evaluation de La masse relative des organes

La figure ci-dessus, représente l'effet de l'extrait alcaloïdique sur le poids relatif des organes à savoir : le cœur, les poumons, la rate, l'estomac, les reins, le foie et le cerveau.

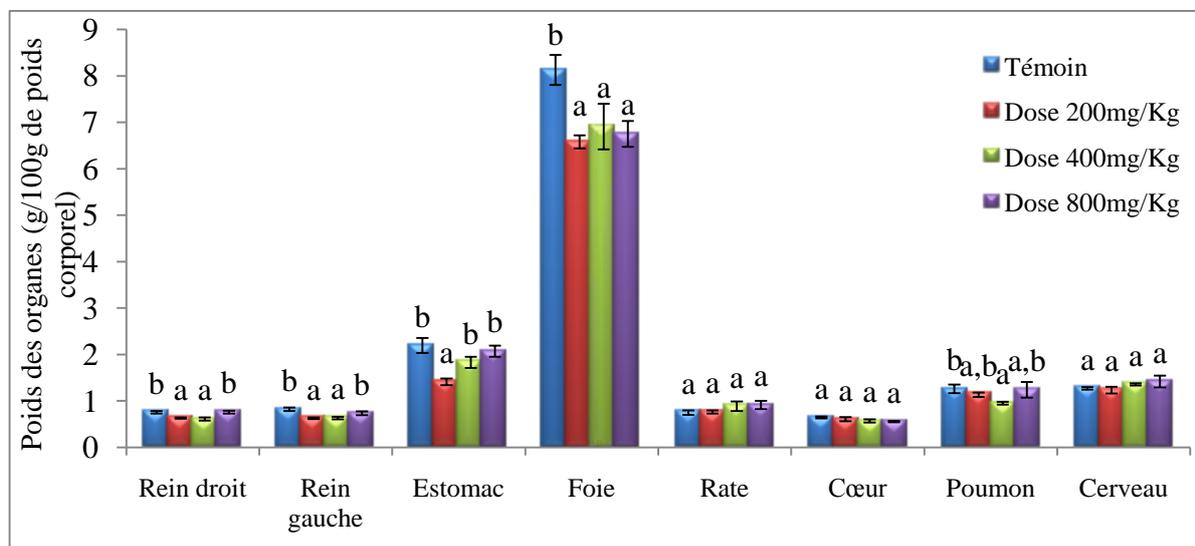


Figure 21: Evaluation de poids corporel des organes de toxicité subaiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6.

Les résultats de la toxicité aigüe n'ont pas montré de différence significative entre le poids des organes rate, cœur et cerveau des souris ayant reçu les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* et ceux des souris du groupe témoin. Cependant une différence significative a été constatée dans la masse relative des organes rein, estomac, foie et poumon des souris traitées comparées à celles du groupe témoin.

En effet la substance toxique agit généralement sur le foie ou le rein en induisant des dégénérescences cellulaires et des nécroses, qui se traduisent par l'hypotrophie de ces deux organes.

III.3. Activité anti-inflammatoire

Afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes contenant dans *M. pubescens*, trois doses 50, 100 et 200mg/Kg ont été testées. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du standard (diclofénac 50mg/Kg) et à ceux du témoin (eau physiologique) (Tableau VI).

Toutes les souris injectées par la carragénine présentent une augmentation du volume de la patte ce qui témoigne l'apparition d'œdème inflammatoire. Cependant l'œdème augmente pour atteindre une valeur maximale à la 3^{ème} heure puis diminue, d'une façon significative ($p < 0.05$).

Tableau VI: Evolution de l'œdème induit par la carragénine en fonction du temps.

	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Témoin							
Eau physiologique	0,17 ^a	0,21 ^a	0,25 ^b	0,27 ^b	0,23 ^b	0,23 ^b	0,22 ^b
Standard							
Diclofénac 50mg/Kg	0,18 ^a	0,21 ^a	0,23 ^a	0,24 ^{a,b}	0,21 ^{a,b}	0,19 ^a	0,18 ^a
Extrait <i>M. pubescens</i>							
Dose 50mg/Kg	0,17 ^a	0,22 ^a	0,24 ^{a,b}	0,25 ^{a,b}	0,22 ^{a,b}	0,20 ^a	0,19 ^a
Dose 100mg/Kg	0,17 ^a	0,21 ^a	0,23 ^{a,b}	0,24 ^{a,b}	0,21 ^a	0,20 ^a	0,18 ^a
Dose 200mg/Kg	0,17 ^a	0,21 ^a	0,23 ^a	0,23 ^a	0,21 ^a	0,20 ^a	0,18 ^a

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.
Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

L'œdème le plus important a été observé chez le groupe témoin tout au long de l'expérience, cependant le volume de la patte a augmenté de 0.17mL pour atteindre un maximum de 0.27mL à la 3^{ème} heure, puis diminue jusqu'à 0.22mL à la 6^{ème} heure.

L'administration des différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* et du diclofénac a diminué l'œdème d'une façon significative à partir de la 3^{ème} heure ($p < 0.05$). Cependant, les volumes des pattes des souris traitées par 50, 100 et 200mg d'alcaloïdes /Kg ont diminué à partir de la 3^{ème} heure de 0.25, 0.24 et 0.23mL à 0.19, 0.18 et 0.18mL, respectivement. Concernant le groupe traité par le diclofénac, le volume de la patte de souris a diminué de 0.24 à 0.18mL.

Avant et après 1 heure de l'injection de la carragénine, l'étude statistique n'a montré aucune différence significative entre le groupe témoin, le groupe traité par le diclofénac et les trois autres groupes traités avec des différentes concentrations en alcaloïdes. Une différence significative a été révélée entre tous les groupes testés à 2, 3, 4 et 5 heures après l'injection de la carragénine ($p < 0.05$). Tandis qu'à 6 heures la différence existe qu'entre le groupe témoin et le reste de groupe.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition de l'œdème montre que l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* possède une importante activité anti-inflammatoire (Figure 22).

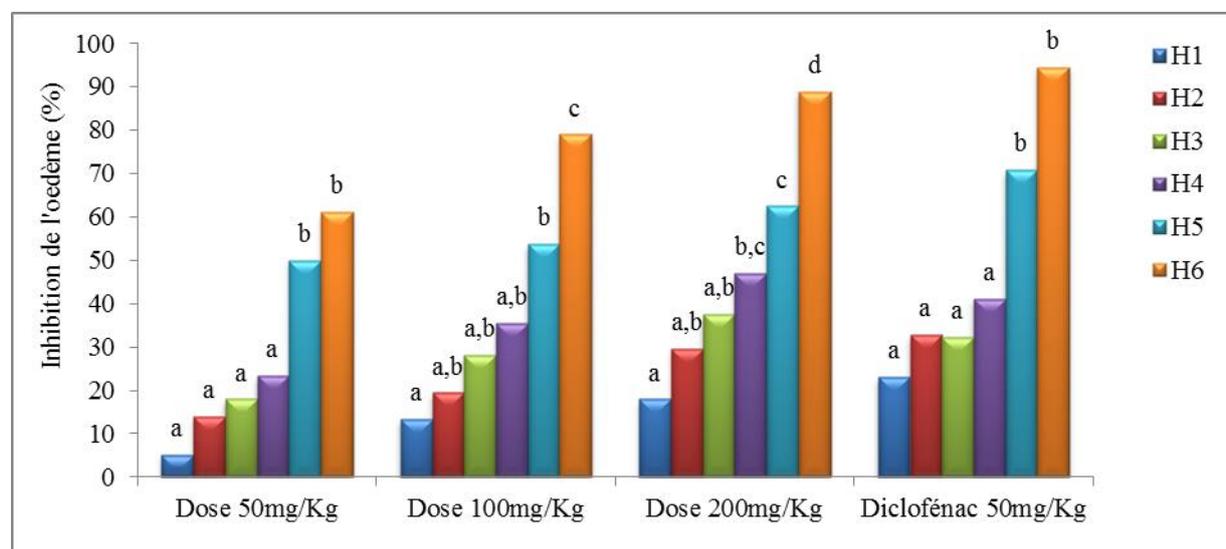


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème par l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* et le diclofénac en fonction du temps.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

L'étude statistique a révélé que le diclofénac et les doses 50, 100 et 200mg d'alcaloïdes/Kg ont inhibé d'une façon significative l'œdème induit par la carragénine ($p < 0.05$). Le pourcentage d'inhibition le plus important a été obtenu avec le diclofénac (94.44%) suivi par la dose 200mg/Kg (88.89%) puis la dose 100mg/Kg (79.01%), alors que la dose 50mg/Kg a permis d'exercer le pouvoir inhibant le plus faible (61.11%). Ces résultats montrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* est dose dépendante.

L'œdème à la carragénine introduit par Winter en 1962, est un excellent modèle inflammatoire aiguë pour la détermination des composés à activité anti-inflammatoire (Winter *et al.*, 1962 ; Arunachalam *et al.*, 2002 ; Pra *et al.*, 2009 ; subhashini *et al.*, 2010 ; Valli *et al.*, 2012). La réponse inflammatoire à l'œdème provoquée par injection de la carragénine dans la patte de la souris comporte trois phases distinctes ; une première phase (1-2h) caractérisée par la libération d'histamine et de sérotonine qui interviennent dans la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème; une seconde phase (2-3h) qui fait appel aux kinines plus exactement les bradikinines comme médiateurs qui augmentent la perméabilité vasculaire et une troisième phase(3-6h) dont le médiateur est supposé être les prostaglandines associées à la migration leucocytaire dans la zone enflammée (Lindsey *et al.*, 1999 ; Attal et Bouhassira, 2000 et Sanogo *et al.*, 2006).

Le Diclofénac utilisé dans cette étude comme contrôle positif, est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien très efficace contre l'œdème à la carragénine, il agit principalement en inhibant la synthèse des prostaglandines (PG) par inhibition de l'enzyme cyclo-oxygénase(COX) (Alam *et al.*, 2011).

L'activité anti-inflammatoire de *M. pubescens* est due à sa composition en métabolites secondaires tel que les alcaloïdes qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires s'exercèrent davantage sur les cyclo-oxygénases qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines (ouédraogo, 2012).

III.4. Activité analgésique

III.4.1. Activité analgésique périphérique

Afin d'évaluer l'activité analgésique des composés alcaloïdiques de *M. pubescens*, trois doses de 50, 100 et 200mg/Kg ont été testées. Les expériences ont été réalisées sur le modèle du test de contorsions abdominales induit par l'injection intra-péritonéale d'un volume d'acide acétique préparé dans une solution saline isotonique (NaCl 0.9%). Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'aspirine et à ceux du contrôle physiologique (Tableau VII). L'analyse des résultats montre que toutes les souris injectées par l'acide acétique développent des crampes abdominales.

Tableau VII : Nombre de contorsions abdominales induit par l'acide acétique chez la souris.

	Nombre de contorsions
Témoin Eau physiologique	78,63±2.64 ^d
Standard Aspirine 200 mg/Kg	55±1.26 ^b
Extrait <i>M. pubescens</i> Dose 50mg/Kg	57,25±3.12 ^c
Dose 100mg/Kg	54±3.10 ^{a,b}
Dose 200mg/Kg	52,63±3.10 ^a

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.
Chaque valeur représente la moyenne ±ES, n=6.

L'étude statistique a montré une différence significative entre les lots étudiés selon le nombre de contorsions, alors qu'aucune différence significative n'a été constatée entre le groupe traité par l'aspirine à 200mg/Kg et le groupe traité par l'extrait de *M. pubescens* à la dose 100mg/Kg ($p < 0.05$). Le nombre de contorsions le plus important a été observé chez le groupe témoin avec une valeur de 78.63 contorsions, tandis que le nombre de contorsion le plus bas a été enregistré chez les groupes traités avec l'extrait de *M. pubescens* à la dose de 200mg/kg, dont le nombre de contorsions est de 52.63 contorsions.

L'analyse des données indique que l'activité analgésique périphérique de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* est dose dépendante. Les souris traitées par les alcaloïdes de la plante étudiée et l'aspirine ont montré une réduction significative ($p < 0.05$) des crampes abdominales en les comparant au groupe témoin non traité. Ceci indique que les alcaloïdes de la plante étudiés sont dotés d'une activité analgésique périphérique.

L'analyse statistique des pourcentages d'inhibition des contorsions révèle une différence significative ($p < 0.05$) entre les groupes testés (Figure 23). Le pouvoir inhibant des contorsions abdominal le plus élevé a été constaté chez les souris traitées par 200mg d'alcaloïdes/kg avec un pourcentage de 33.07%, tandis que la dose 50mg d'alcaloïdes/Kg a exercé le pouvoir inhibant le plus faible avec un pourcentage de 27.19%. Les alcaloïdes de *M. pubescens* à la dose de 100 et 200mg/Kg ont permis d'inhiber les contorsions abdominales d'une façon plus importante que l'aspirine à la dose de 200mg/Kg.

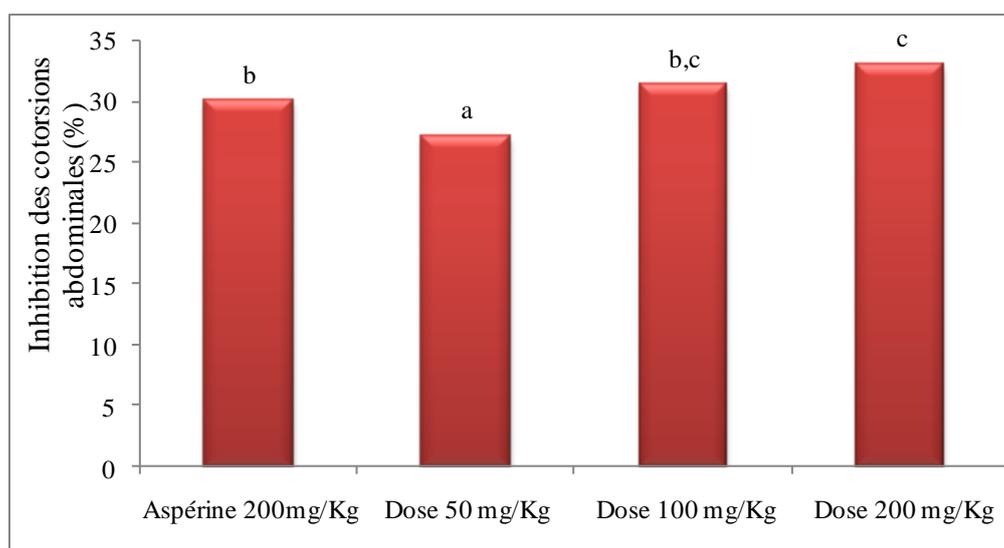


Figure 23: Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales induit par l'acide acétique.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.
Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

Les contorsions abdominales induites par l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique est une méthode utilisée pour évaluer l'effet analgésique périphérique d'une substance (Mohsin, 2012), les douleurs provoquées se manifestent par des contorsions de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures (crampes), qui peuvent être réduites par un produit analgésique. Ces douleurs sont dues à la libération de la sérotonine, de l'histamine, de la bradykinine, de la substance P et des prostaglandines ($PGE2\alpha$, $PGF2\alpha$). Ces médiateurs

stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Ouédraogo *et al.*, 2012).

L'aspirine est un analgésique capable de réduire la douleur induite par l'acide acétique, par inhibition de la cyclo-oxygénase (COX) dans les tissus périphériques (Trongsakul *et al.*, 2002). De ce fait, on pourrait assimiler l'effet analgésique de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* à l'aspirine, il se peut donc que l'effet de l'extrait alcaloïdique soit lié à l'inhibition de la cyclo-oxygénase, cette inhibition entraîne une diminution de la douleur périphérique (Mylari *et al.*, 1990; Griswaold *et al.*, 1999; Rioja *et al.*, 2002 ; Ojewole, 2007 ; Soro, 2009).

III.4.2. Activité analgésique centrale

L'activité antalgique centrale a été évaluée en provoquant des réactions douleur par des stimuli thermique, en plongeant le bout de la queue de l'animal dans un bain d'eau chauffée à $54 \pm 1^\circ \text{C}$. Les temps moyens de réflexe de retrait de la queue enregistrés à différent moment chez les souris de différents groupes sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau VIII: Temps de latence de retrait de la queue chez la souris (secondes).

	0mn	30mn	60mn	90mn	120mn	180mn
Témoin						
Eau physiologique	2,27 \pm 0,08 ^a	2,25 \pm 0,07 ^a	2,37 \pm 0,04 ^a	2,45 \pm 0,04 ^a	2,49 \pm 0,04 ^a	2,73 \pm 0,03 ^a
Standard						
Aspirine 200mg/Kg	2,29 \pm 0,08 ^a	3,15 \pm 0,10 ^b	3,83 \pm 0,10 ^{b,c}	4,60 \pm 0,09 ^c	5,10 \pm 0,10 ^c	6,12 \pm 0,15 ^c
Extrait <i>M. pubescens</i>						
Dose 50mg/Kg	2,00 \pm 0,08 ^a	2,64 \pm 0,12 ^{a,b}	3,40 \pm 0,14 ^b	3,60 \pm 0,13 ^b	4,01 \pm 0,18 ^b	4,63 \pm 0,22 ^b
Dose 100mg/Kg	2,44 \pm 0,08 ^a	3,14 \pm 0,12 ^b	4,06 \pm 0,14 ^c	4,82 \pm 0,14 ^c	5,51 \pm 0,19 ^c	6,40 \pm 0,24 ^c
Dose 200mg/Kg	2,12 \pm 0,07 ^a	3,89 \pm 0,12 ^c	4,68 \pm 0,14 ^d	5,61 \pm 0,13 ^d	6,58 \pm 0,19 ^d	8,23 \pm 0,23 ^d

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.
Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6.

L'analyse statistique des résultats montre que le temps de latence de retrait de la queue des souris témoins est inférieur à ceux des groupes traités par l'aspirine et les alcaloïdes de *M. pubescens*. Cependant le temps de latence de retrait de la queue des souris témoins est compris entre à 2.27 et 2.73 secondes tout au long de l'expérience. En augmentant la durée d'observation des souris des lots traités par l'extrait alcaloïdique et l'aspirine jusqu'à 180mn, le temps de latence de retrait de la queue augmente de 2.00 à 4.63 secondes pour la dose

50mg d'extrait alcaloïdique/Kg, de 2.44 à 6.44 secondes pour la dose 100mg d'extrait alcaloïdique/Kg, de 2.12 à 8.23secondes pour la dose 200mg d'extrait alcaloïdique /Kg et de 2.29 à 6.12 secondes pour la dose 200mg d'aspirine/Kg.

Le temps de latence du lot qui a reçu l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* à 200 mg/kg est significativement supérieur ($p < 0.05$) à celui du lot qui a reçu l'extrait à 100mg/kg suivi par celui qui a reçu l'aspirine à 200mg/kg et en dernière position se trouve le lot qui a reçu la dose 50mg d'extrait alcaloïdique/Kg. Ceci montre que l'activité analgésique centrale de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* est dose dépendante. L'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* et l'aspirine ont montré une diminution significative du seuil de la douleur, correspondant à une augmentation significative du pourcentage de protection, par rapport au groupe témoin ($P < 0.05$) (Figure 24).

Les pourcentages d'effet maximal les plus élevés ont été observés à la 180^{ème} mn avec des valeurs de 15.50, 29.92 et 44.83%, respectivement pour les doses 50, 100 et 200mg d'extrait alcaloïdique/kg et de 27.59% pour l'aspirine. Ces résultats montrent que les extraits alcaloïdiques de *M. pubescens* à la dose 200 et 100mg/Kg ont un effet analgésique central plus important que celui de l'aspirine à la dose 200mg/Kg.

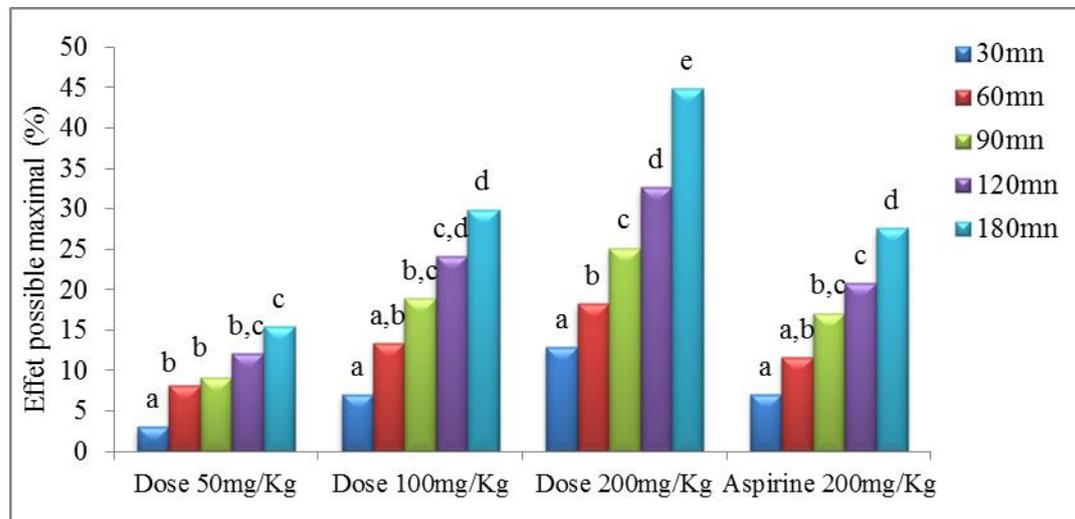


Figure 24: Pourcentage de l'effet possible maximal chez les souris.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, $n=6$.

Le test d'immersion de la queue a été utilisé pour évaluer l'effet analgésique central de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*. Ce test est considéré comme sélectif pour examiner les composés qui agissent sur les récepteurs d'opioïde au niveau de système nerveux central (SNC) (Mohsin *et al.*, 2012).

La réponse par le retrait de la queue de l'eau chaude semble être un reflex spinal, qui est modulé par un mécanisme inhibiteur supra spinal (Trongsakul *et al.*, 2002 ; Kang *et al.*, 2007). L'aspirine utilisé dans ce travail comme substance analgésique de référence, a présenté un léger effet analgésique centrale, cela concorde avec les résultats obtenus par (Owoyele *et al.*, 2009 ; Zhu *et al.*, 2011) qui ont montré que l'aspirine est un analgésique central peu puissant.

CONCLUSION

CONCLUSION

Conclusion

Le travail que nous avons mené sur l'étude de la toxicité et les activités anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait alcaloïdique de *Matricaria pubescens* provenant de la localité saharienne, nous a permis de dégager les points essentiels suivants :

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir de *M. pubescens* par macération en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol acidifié a permis de donner un taux d'extraction de 1.13%.

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, après administration orale d'une dose unique de 2500 et 5000mg/kg, n'a montré aucun signe de toxicité ni sur le comportement, ni sur l'évolution du poids total, ni sur la quantité de la nourriture et de volume d'eau consommé, ou sur le poids des organes des souris traitées (cœur, reins, poumon et rate).

L'étude de la toxicité subaiguë de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, après administration orale des doses de 200, 400 et 800 mg/kg/jours pendant 28 jours, n'a enregistré aucun effet toxique, soit sur l'évolution du poids corporel, la quantité de nourriture et volume d'eau consommé ou le poids des organes (cœur, reins, cerveau et rate) des souris traitées.

La détermination de l'activité anti-inflammatoire a montré que les alcaloïdes de *M. pubescens* ont un effet inhibiteur significatif de l'inflammation induite par la carragénine, le pourcentage d'inhibition le plus important a été obtenu avec le diclofénac (94.44%) suivi par celui de la dose 200mg/Kg (88.89%), alors que la dose 50mg/Kg a permis d'exercer le pouvoir inhibant le plus faible (61.11%). Ces résultats montrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* est dose dépendante.

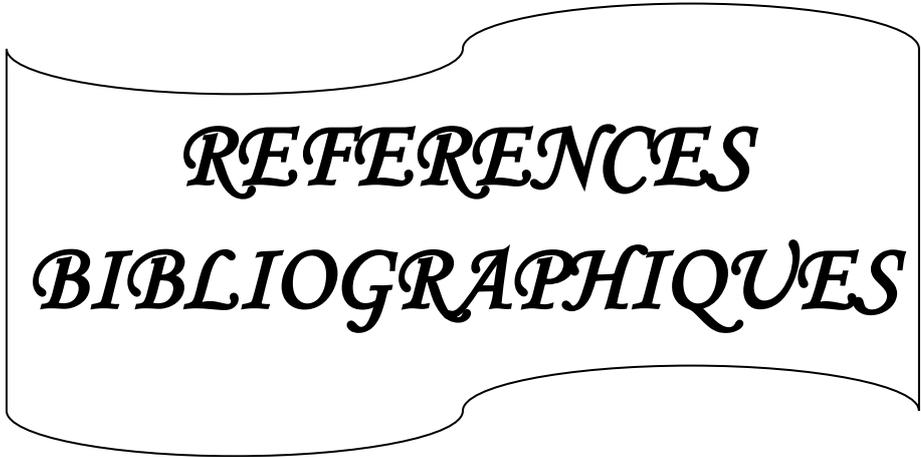
Le pouvoir analgésique périphérique des différentes doses de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* (50, 100, 200mg/kg) a montré que le pouvoir inhibant des contorsions abdominal le plus élevé a été constaté chez les souris traitées par 200mg d'alcaloïdes/kg avec un pourcentage de 33.07%, tandis que la dose 50mg d'alcaloïdes/Kg a exercé le pouvoir inhibant le plus faible avec un pourcentage de 27.19%. Les alcaloïdes de *M. pubescens* à la dose 100 et 200mg/Kg ont permis d'inhiber les contorsions abdominales d'une façon plus importante que l'aspirine.

CONCLUSION

Les doses 200 et 100 mg/Kg de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* ont montré les effets analgésiques centraux les plus importants avec des valeurs de 29.92 et 44.83% respectivement, par rapport à l'aspirine qui a exercé un effet antalgique de 27.59%.

Dans ce travail la plante étudiée s'est révélée non toxique et présente des activités anti-inflammatoire et analgésique importantes, ce qui justifie son utilisation traditionnelle.

Ces résultats restant préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre des études sur la toxicité chronique afin de déterminer les effets à long terme. De même, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour identifier et purifier les alcaloïdes de *M. pubescens* responsables de ces effets anti-inflammatoire et analgésique et d'autre part d'envisager le mécanisme d'action par lequel ces composés réalisent leurs effets biologiques.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

Alam, K., Pathak, D and Anasari S.H. (2011). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Ammomum subulatum* Fruit Extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 3(1): 35-37.

Almança, C. C.J., Saldanhab, S.V., Sousaa, D. R., Trivilin, L. O., Nunesa, L. C., Porfírio, L.C and Marinhoc, B. G. (2011). Toxicological evaluation of acute and sub-chronic ingestion of hydroalcoholic extract of *Solanum cernuum* Vell. In mice. *Journal of Ethnopharmacology* 138,508– 512.

Aouissa, I W R. (2000). Etude des activités biologique et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica*. (Anacardiaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamaco.128p.

Aouissa Itian, W.R. (2002). Etudes des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mengifera Indical* (Anacardiaceae), thèse doctorale université de bamako, P : 48.

Arunachalam, K., Parimelazhagan, T and Manian, S. (2010). Analgesic and anti-inflammatory. Effects of *Merremia Tridentata* L.*International Journal of Phrmaceutical Sciences* 3 : 75-79.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologique de *Nauclea latifolia smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. P : 20-22.

Bastide, P., Belon J. P., Boulu R., Costentin J., Fialip J., Hoin G., Marchand J., Mihout M. F and Thuillez C. (1993). Pharmacologie et pratique officinale. Ellipses, Paris, 332 p.

Baynes, R.E and Hodgson, E. 2010. Absorption and Distribution of Toxicants. In: Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey), 79-114.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

Blain, H., Jouzeau, J.Y., Netter, P and Jeandel, C. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs selectifs de la cyclooxygénase –intérêt et perspectives, Médecine interne 21 :88-978

Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. IBIS Press. 764 p.

Betti, HA., Betti, HA., Stein, AC., Dallegrave, E., Barth Wouters, AT., Negrão Watanabe, TT., Driemeier, D., Buffon, A and Kuze Rates, MS (2012). Acute and repeated- doses (28 days) toxicity study of *Hypericum polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt (Guttiferare) in mice. *Food and Chemical Toxicology* (In press).

Boukeloua, A. (2009). Caractérisation botanique et clinique et évaluation pharmactoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentisca* L.(Anacardiaceae).Thèse de magister.Université de Constantine.73p.

Boudjerda, A. (2011). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de *Achillea ligustica* (Anthemideae) et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae). Thèse de Doctorat. Université Mentouri- Constantine. P: 9.

Borel, J.P., Randoux, A., maquart F and Gillery P. (1997). Biochimie dynamique. De Boeck. France. 942p.

Bruneton, J. (1999). Terpènes et stéroïdes. In pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition : Lavoisier. pp : 484-535.

B.Zarrou., (2012), "Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de le plante *Matricaria Pubescens* (Astéracéas) et evaluation de leur activité antioxydante", Mémoire master, Université Kasdi Merbah Ouargla, 1.

C

Claverie, I and Hedde, H. (2008) .Pharmacologie générale, mécanisme fondamentaux ,2^{ème} Edition Porphy. pp : 48-61.

Coyen, Y. (1981). Abrégés de pharmacologie. Ed 4, Masson, Paris, 355 P.

Chrrier, S and Wahl K. (2007). Différents mécanismes de douleur. Comilité de Lutte contre la douleur. pp.1-9.

D

Daud, A., Habib, N and Sàncchez Riera. (2006). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antipyretic effects of *Phrygilanthus acutifolius* flowers. *Journal of Ethnopharmacology* 108: 198-203.

Devillier, P. (2004). Effets synergiques et additifs entre les différentes classes d'anti-inflammatoires de l'asthme. *Allergologie et immunologie clinique* 45 :416-421.

Djellouli, M., Moussaoui, A., Benmehdi, H., Ziane, L., Belabbes, A., Badraoui, M., Slimani, N and Hamidi, N. (2013). Ethnopharmacological study and, phytochemicalscreening of three plants (Asteraceae family) from the region of south west Algeria. *Asian J. Nat. Appl. Sci.* 2 (2), 159–165.

Duraffourd, C., D'Hervicourt, L and Lapraz, J. C. (1990). *Cahiers de Phytothérapie Clinique*. Examen de laboratoire galénique, Eléments Thérapeutiques Synèrgiques, 2^{ème} Ed. Masson, 87 p., Paris.

F

Facchini, P.J. (2001). Alkaloid biosynthesis in plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications, Alberta. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 29–66.

G

Gazengel, J.M and Arechioui, A.M. (2000). Médicaments anti-inflammatoires, le préparateur en pharmacie dossier 5, pharmacologie, Tec &Doc, paris, P : 51.

Gomes, C., Lourenc, E.L.B., Liuti, E. B., Duque, A.O., Nihi, F., Lourenc, A.C., Mendes, T.C., Junior, A.G and Dalsenter, P. R. (2012). Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 481-487.

Griswold, D.E., Marshall, P., Martin, L., Webb, E.F and Zabko- Potapovich, B. (1991). Analgesic activity of SK & F 105809, a dual inhibitor of arachidonic acid metabolism, *Agents and Actions* 32 113–117.

H

Hammiche, V and Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'Ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 358-367.

Hodge, H.C and Sterner, J.H. (1949). Tabulation of Toxicity Class. *Americans Industrial Hygien Association Quarterly*, 10(4):93-96.

Hilaly, J.E., Israili, Z.H and Lyouss, B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91 : 43–50.

Hurabielle, M and Paris, M. (1980). Abrégé de matière médicale pharmacognosie : Généralités-Monographie (1^{ère} partie). *Edition Masson*. Paris. P : 3497 :256.

I

IUCN (International Union for Nature and Natural Ressources), Centre for Mediterranean Cooperation). (2005). A guide to medicinal plants in North Africa, Ed: IUCN Centre for Mediterranean Cooperation Malaga (Spain). 6: 7.

J

Jothy, S. L., Zakaria, Z., Chen, Y., Lau, Y. L., Latha, L. Y and Sasidharan, S. (2011). Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. *Molecules*, 16, 5268-5282; doi: 10.3390.

Jouzeau, J.Y., Daouphars, M., Benani, A and Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin Biol* 28:7-17.

Judd Walter, S., Campbell Christopher, S., Kellogg Elizabeth, A and Stevens Peter. (2002). Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université, 84-87, 396-399.

K

Kandel, E.R. and Schwartz, JH. (1985). Principles of neural science. New York: Elsevier Science Publishing. P: 214.

Kang, J.Y., Khan MNA., Park, N.H., Cho, JY., Lee, M.C., Fujii, H and Hong, Y.K. (2007). Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of sea weed *Sargassum fulvellum* and *Sargassum tunbergii* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 116: 187-190.

L

Lakmichi, H., Bakhtaoui, F.Z., Gadhi, C.A., Ezoubeiri, A., El-Jahiri, Y., El-Mansouri, A., Zrara, I and Loutfi, K. (2011). Toxicity Profile of the Aqueous Ethanol Root Extract of *Corrigiola telephiifolia* Pourr. (Caryophyllaceae) in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.

Langlade, A., Serrie, A and Thurel, C. (2001). Le dictionnaire de la douleur.

Lapointe, G. (2004). Notions de Toxicologie. 2nd ed. Commission de la santé et de la sécurité du travail (Québec, Canada), 16-20.

Lindsey, K., Jager, AK, Raidoo ,DM and van Staden 1(1999). Screening of plants used by South African traditional healers in the treatment of dysmenorrhoea for prostaglandin synthesis inhibitors and uterine relaxing activity. Journal of Ethnopharmacology, , volume 64 (1), 9-14.

M

Mackenzie, A. (2011). Endothelium-derived vasoactive agents, AT1 receptors and inflammation. Pharmacology & Therapeutics 131: 187-203.

Maïga, M. S. (1989). Les analgésiques non morphiniques et leurs inconvénients: Consommation au Mali. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 79p.

MAIZA, K., BRAC DE LA PERRIERE, R.A and HAMMICHE, V. (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et aliments: l'approche ethnopharmacologique. Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11^{ème} Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 24-27 mars 1993, 169-171.

Makhloufi, A., Moussaoui, A and Lazouni, H. (2012). Anti-bacterial activity of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (desff grouiny wild in Bechar, south west of algeria. *journal of medicinal plants research*: 3124-3128.

Makkar, H., Siddhuraju, P and Becker, K. (2007). Plant secondary metabolites. New Jersey: Humana Press; 2007.

Maldonado, M. (2012). *Peumus boldus* M. De la botanique à la thérapeutique. thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. université joseph fourier, faculté de pharmacie de grenoble. P 16-19.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

Martinez, J.J., Hernandez, F., Haddioui A., Legua, P., Martinez, R., Ajal, A and Melgarejo, P. (2012). Physico-chemical characterization of six pomegranate cultivars from Morocco: Processing and fresh market aptitudes. *Sci. Hortic.* 140, 100-106.

Mauray, J. C. (2000). *Bases physiologiques de la douleur*. 6p.

Mohsin Ali., Mele Jesmin., Abul Kalam Azad., Khairul Ismlam and Ronok Zahan. (2012). Anti-inflammatory and analgesic activities of acetophenone semicarbazone and benzophenone semicarbazone. *Asian journal of Tropical Biomedicine*: 1036-1039.

Muniz, M.N. (2006). *Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine*. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier, Grenoble I. P: 11-29.

Muster, D. (2005). *Médicaments de l'inflammation*. EMC-Stomatologie 1 :21-29.

Mylari, B.L., Carty T.J., Moore P.F and Zembrowski W.J. (1990). 1, 2-Dihydro- 1-oxopyrrolo [3,2,1-kl] phenothiazine-2-carboxamides and congeners, dual cyclooxygenase/5-lipoxygenase inhibitors with anti-inflammatory activity, *J. Med. Chem.* 33 2019– 2024.

N

Nicolas Jean-François., Florence Cousin and Jean Thivolet. (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, 55-58.

O

OCDE (2002), *Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies*, Série sur les essais et évaluations No. 35 et Série sur les pesticides No. 14, ENV/JM/MONO (2002)19, OCDE, Paris.

O.C.D.E. Organisation De Coopération Et Développement Economique n °407. (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Etude de toxicité orale a dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

O.C.D.E. Organisation De Coopération Et Développement Economique n °425. (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques toxicité orale aiguë - Méthode de l'ajustement des doses.

Ojewole, J.A.O. (2007). Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic effects of *Rhus chirindensis* (Baker F.) [Anacardiaceae] stem-bark aqueous extract in mice and rats, J. Ethnopharmacol. 113, 338–345.

(OMS) Organisation Mondiale de la Santé (1990). Nature de la douleur cancéreuse. In : *Traitement de la douleur cancéreuse et soins palliatifs*. Genève : O.M.S.3-22.

Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R.W., Tibiri, A., Hay, A.E., Koudou, J., Dijoux, M G and Guissou, I.P. (2012). Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctée aqueux des feuilles et racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie* 10: 286-292. Springer.

Ould el hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M and Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla. *Courrier du Savoir – N°03*, Janvier 2003, 47-51.

Owoyele, B.V., Abdulrazaq, B., Nafiu, A.B., Oyewole, L.A and Soladoye, A.O. (2009). Studies on the analgesic, anti-inflammatory and antipyrétic effets of Prquetina nigrescens leaf extract. *Journal Ethnopharmacology* 122: 86-90.

Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. Troisième édition. CNRS édition.750005 Paris, 92 :438-662.

P

Panunto, W., Jaijoy, K., Lerdvuthisopon, N., Lertprasertsuke, N., Jiruntanat, N., Soonthornchareonnon, N and Sireeratawong, S. (2010). Acute and chronic toxicity studies of the water extract from dried fruits of *Terminalia chebula* Rezt. In rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products* Vol. 3 (4), pp. 36-43.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

Patra, A., Jha, S., Murthy, P.N., Vaibhav, A., Chattodhyay, P G and Roy, D. (2009). Anti-inflammatory and Antipyretic Activities of *Hygrophilaspinosa* T. Anders Leaves (Acanthaceae) *Pharmaceutical Sciences Research Journal* 8 (2): 133.

R

Ramabadran, K., Bansinath, M., Turndort, H and Puig, M.M. (1989). Anti-inflammatory Activity of Chloroform Extract of *Andrographis Paniculata* Nees Stem. *Research Journal of Bio Technology* 2:35-38.

Rasekh, H.R., Nazari, P., Kamli-Nejad, M and Hosseinzadeh, L. (2008). Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 21-26.

Raza, M., Al-Shabanah, O.A., El-Hadiyah, T.M and Al-Majed, A.A. (2002). Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss *albino* mice. *Scientia Pharmaceutica* 70, 135–145.

Reichi, F.X. (2004). Toxicologie générale. Dans « Guide pratique de toxicologie ». 2ème édition De Boeck, pp : 6.

Rhiouani, H., El-Hilaly, J., Israili, Z.H and Lyoussi, B. (2008). Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 118: 378-386.

Rioja, I., Terenci, M.C., Ubeda, A., Molina, P., Tarraga, A., Gonzalez-Tejero, A and Alcaraz, M.J. (2002). A pyrroloquinazoline derivative with anti-inflammatory and analgesic activity by dual inhibition of cyclo-oxygenase-2 and 5-lipoxygenase, *Eur. J. Pharmacol.* 434 177–185.

Russo-marie, F., Peltier, A.P., Barbara, S and Polla. (1998). L'inflammation. Amazon. Jhon libbey Eurotext (Eds).554p.

S

Sanogo, R., Maiga, A and Diallo, D. (2006). Activités analgésiques et anti-inflammatoires des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereopemum kuntrianum* et *trichilia emetica* utilisées dans le traitement traditionnel des dtsménorrhées au Mali. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* XIV: 123-136.

Seghiri, R. (2009). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Centaurea* : *C africana*, *C nicaensis*. Thèse de Doctorat. Université de Mentouri–Constantine. P : 17.

Soro, T.Y., Traore, F and Sakande, J. (2009).Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximennia a mericana* (Linné) (Olacaceae). *C.R. Biologies* 332 : 371-377.

Subhashini, T., Krishnaveni, B and Reddy, C.S. (2010). Anti-inflammatory Activity of Leaf Extracts of *Alternanthera asensis Hygeia*. *Jornal Drugs & Medicine* 2(1) : 54-57.

T

Teo, S., Stirling, D., Thomas, S., Hoberman, A., Kiorpes, A and Khetani, V. (2002). A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d, l-methylphenidate in Sprague–Dawley rats. *Toxicology*. 179, 183–196.

Trongsakul, S., Panthong, A., Kanjanapothi, D and Taesotikul, T. (2003). The analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities of *Diospyros variegata* Kruz. *Journal of Ethnopharmacology* 85: 221-225.

V

Valli, G., Vasanthi, A., Vijayalakshmi, R and Thanga, T.A. (2012). Anti-pyretic and anti-inflammatory activity of *Thephorosiapurpura* root extract. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 3(11): 146-152.

Vanhalewyn and Cerexhe. (2004).recommandation de bonne pratique : la douleur chronique. *Société Scientifique de Médecine Générale*. P : 1-40.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

Viala, A and Botta, A. (2005). Notions sur la toxicologie. In: Toxicologie. 2nd ed. *Lavoisier* (Paris) ,1026-1037.

W

Winter, C.A., Risley, E.A and Nuss, G.W. (1962). Anti-inflammatory and antipyretic activities of ibdomethacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. *J. Pharmacol.* 141, 369–376.

Weill, B and Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires de Boeck. France.312p.

Z

Zhu, Z-Z., Ma K-J.Ran, X., Zhang, H., Zheng, C-J., Han T Zhang, Q-Y and Qin, L-P. (2011). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the petroleum ether fraction from the ethanol extract of *Desmodium podocarpum*. *Journal Ethnopharmacology* 133: 1126-1131.

Résumé

La présente étude a été consacrée à l'évaluation *in vivo* de la toxicité aigüe et subaigüe, des activités anti-inflammatoire et analgésique des alcaloïdes de *Matricaria pubescens*. L'extraction des alcaloïdes a permis d'obtenir un rendement de 1.13%. L'étude de la toxicité des alcaloïdes totaux n'a montré aucun signe de toxicité soit à court terme ou à long terme. Le test anti-inflammatoire a révélé que les alcaloïdes de la plante étudiée présentent un important effet anti-inflammatoire, cependant le pourcentage d'inhibition le plus important a été obtenu avec le diclofénac (94.44%) suivi par la dose 200mg d'alcaloïdes/Kg (88.89%). L'activité analgésique périphérique de l'extrait alcaloïdique à des concentrations de 50, 100 et 200mg/kg a montré que le pouvoir inhibiteur des contorsions abdominal le plus élevé a été constaté chez les souris traitées par 200mg/kg avec un pourcentage de 33.07%. L'effet antalgique central de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* à la dose 200 et 100mg/Kg, avec des pourcentages de 29.92 et 44.83% respectivement, est plus important que celui de l'aspirine dont le pourcentage est de 27.59%.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, alcaloïde, toxicité, activité anti-inflammatoire, activité analgésique.

Abstract

In this study we evaluated the acute and sub-acute toxicity of the total alkaloids of *M. pubescens*. Also, we investigated the ant-inflammatory and analgesic activities of the alkaloids. This plant contains a yield of 1.13% of total alkaloids. The results of the study of the acute and sub-acute toxicity showed that the alkaloids of *M. pubescens* don't produce any toxicity effects in both models. The anti-inflammatory test revealed that the alkaloids of the plant have a significant effect in the evaluation of the anti-inflammatory activity (88.89%) with the dose of 200 mg, however the effect was very important with diclofenac (94.44%) used as drug (control). In fact, in the study of the peripheral analgesic effects of the total alkaloids extract (50, 100 and 200mg / kg) showed that the dose of 200 mg/kg posses an important power in the reduction of the pain (33.07%). In the second test of the evaluation of central analgesic effect, the alkaloid extract of *M. pubescens* with the doses 200 and 100 mg/kg, produce a significant inhibition, 29.92 and 44.83%, respectively, more important than that of aspirin (27.59%).

Keywords: *Matricaria pubescens*, alkaloid, toxicity, anti-inflammatory, analgesic activity.

ملخص

في هذه الدراسة قمنا بتقييم السمية الحادة وشبه الحادة من إجمالي قلويدات من *pubescens M.* والتحقيق في أنشطة (*pubescens M.*) من حيث انها مضادة للالتهابات ومسكنة للالم. يحتوي هذا النبات على عائد يقدر ب 1.13% من إجمالي القلويدات. أظهرت نتائج دراسة السمية الحادة وشبه الحادة لقلويدات *M. pubescens* انها لا تنتج أي آثار سمية في كلا النموذجين. وكشف الاختبار المضاد للالتهابات أن قلويدات النبات لها تأثير كبير في تقييم النشاط المضاد للالتهابات (88.89%) مع جرعة 200 ملغ، ولكن كان له أثر هام جدا مع ديكلوفيناك (94.44%). في دراسة تأثيرات مسكنة الطرفية من إجمالي مستخرج القلويدات التركيز (50 و 100 و 200 mg / كغ) أظهرت أن جرعة 200 ملغ / كغ تمتلك قوة هامة في الحد من الألم (33.07%). في الاختبار الثاني لتقييم تأثير مسكن المركزي، ومستخرج قلويد من *M. pubescens* مع الجرعات 200 و 100 مغ / كغ، تنتج إعاقة واضحة، 29.92 و 44.83%، على التوالي، أكثر أهمية من الأسبرين (27.59%).

كلمات البحث: *pubescens M.*، قلويد، سمية، المضادة للالتهابات، مسكن آخر.