

Réf :

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

MASTER

Thème

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire
des extraits de quelques plantes
médicinales.

Présenté par :
M^{elle} REHRAH Hassiba
Soutenu le : 10 juin 2015

Devant le jury composé de :

M ^{elle} ADRAR S.	MAA, UAMB	Presidente
M ^{me} BEDJOU F.	Professeur, UAMB	Encadreur
M ^{me} BENAI Y.	MAA, UAMB	Examinatrice
M ^{elle} BOUREBABA L.	Doctorante, UAMB	Invitée

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Je remercie, Dieu, le tout puissant pour m'avoir donné la foi qui m'a guidé jusqu'à la réalisation et l'aboutissement de ce projet.

Tout d'abord, je tiens à remercier ma promotrice, Pr. BEDJOU F., pour sa qualité d'enseignement, pour le suivi qu'elle m'a accordé au déroulement de ce mémoire.

Je voudrais exprimer mes remerciements les plus vifs à ma co-promotrice Melle BOUREBABA L, pour ces encouragements, son aide inestimable, sa grande disponibilité, son soutien et sa patience sans limite, m'a permis de mener à bien ce travail.

Merci à Mme Oukil N. pour nous avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Je tiens à remercier les membres du jury

(Mme BEDJOU F., MELLE ADRAR S., Mme BENNAI Y., MELLE BOUREBABA L) D'avoir consacré de leur temps à la lecture de ce manuscrit, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi a remercie les techniciens de laboratoires en particulier M^{elle} BELHADI Saida et M^{me} OUAAR Nadia

A toute personne ayant participé de pré ou de loin à ma formation et à tous mes amis qui m'ont apporté leurs soutiens et encouragements durant la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A

Mes très chère parents pour leur amour, soutient et encouragements

Mes frères : Lahlou, Khoudir et Ferhat

Mes très chères sœurs : Hadjira, Linda et Naima pour leurs conseils et leurs encouragements.

Mon adorable Mamie Mnana

Tout le reste de ma famille

Mes copines de chambre et mes amies : Halima, Sonia, Yasmine, Nabila, Moumah, Lydia, Babi, Linda, Souad et damia (lahbibat)

A toute les personnes que j'aime et qui m'aime, et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.



Hassiba

Created with



nitro PDF

professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

Liste des abréviations

Cox 1 : Cyclooxygénase-1

Cox 2 : Cyclooxygénase-2

Lox : Lipooxygénase

AINS : Anti-inflammatoire Non stéroïdien

NO: Monoxyde d'azote

PG: Prostaglandine

PAF : Facteur d'activation plaquettaire

IgG : Immunoglobuline G

AA : Acide arachidonique

PLA2 : Phospholipase A2

LT : Leucotriène

GI : Gastro-intestinale

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : photographies de <i>Lavandula stoecha</i> , (A : Fleurs, B : Parties aériennes).....	2
Figure 2 : Photographie de la partie aérienne d' <i>Origanum vulgare</i>	5
Figure 3 : photographie d' <i>Artemisia herba-alba</i>	8
Figure 4 : photographie des plantes étudiées A) <i>Lavandula stoechas</i> B) <i>Origanum vulgare</i> C) <i>Artemisia herba-alba</i>	16
Figure 5 : Elevage des souris SWISS	17
Figure 6 : photographie de l'hydrodistillateur.....	18
Figure 7 : Administration intra-gastrique et injection intra-articulaire.....	22
Figure 8 : La patte avant et après l'injection de la carragénine.....	22
Figure 9 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique.....	25
Figure 10 : Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des parties aériennes d' <i>origanum vulgare</i> , <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Artémisia herba-alba</i>	26
Figure 11 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des extraits éthanoliques.....	28
Figure 12 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des huiles essentielles.....	29
Figure 13 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par l'acide acétyle Salicylique.....	29
Figure 14 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème Des extraits éthanoliques (A : 50mg/kg; B : 100mg/kg).....	31
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème Des huiles essentielles (A : 50mg/kg; B : 100mg/kg).....	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification de l'espèce <i>Lavandula stoechas</i>	3
Tableau II: Classification de l'espèce <i>Origanum vulgare</i>	5
Tableau III: Classification de l'espèce d' <i>Artemisia herba-alba</i>	9
Tableau IV: Rendements pondérales d'extraction.....	24

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1- Généralités sur les plantes étudiées..... 2

I.1.1- Lavande (*Lavandula stoechas*)..... 2

I.1.1.1-Description de la plante 2

I.1.1.2- Classification de l'espèce *Lavandula stoechas* 3

I.1.1.3- Composition phytochimique... 3

I.1.1.4- Activité biologique..... 4

I.1.2- Origan (*Origanum vulgare*)... 4

I.1.2.1 Description de la plante... 4

I.1.2.2 Classification de l'espèce *Origanum vulgare*... 5

I.1.2.3- Composition phytochimique..... 6

I.1.2.4 Activité biologique..... 6

I.1.3 Armoise (*Artemisia herba-alba*)..... 7

I.1.3.1. Description de la plante..... 7

I.1.3.2 Classification de l'espèce *Artemisia herba-alba*..... 9

I.1.3.3 Composition phytochimique..... 9

I.1.3.4 Activité biologique..... 10

I.2-Activité anti-inflammatoire 11

I.2.1-L'inflammation	11
I.2.2-Les type d'inflammation.....	11
I.2.2.1-Inflammation aigue	11
I.2.2.2-Inflammation chronique.....	12
I.2.3-L'inflammation et la dénaturation protéique	12
I.2.4-Méthodes d'études de l'activité anti-inflammatoire... ..	12
I.2.4.1-Etude <i>In-vitro</i>	12
I.2.4.2-Etude <i>In-vivo</i>	14

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1-Matériel Végétal	16
II.1.1-Récolte et identification du matériel végétal.....	16
II.1.2-Traitement du matériel végétal.....	16
II.2-Matériel Animal	17
II.3-Méthodes	17
II.3.1-Extraction des molécules bioactives.....	17
II.3.1.1-Extraction des huiles essentielles	17
II.3.1.2-Préparation des extraits éthanoliques.....	18
II.3.2-Dosage des composés phénoliques totaux.....	19
II.4-Activité Anti-inflammatoire	20
II.4.1-Effet sur la dénaturation protéique.....	20
II.4.2-Effet sur l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine.....	21

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1-Extraction	24
III.2-Dosage des phénols totaux	25
III.3-Activité Anti-inflammatoire	27
III.3.1-Effet sur la dénaturation protéique	27

III.3.2-Effet sur l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine.....	30
Conclusion et perspectives.....	35
Références bibliographiques.....	36

Introduction

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

La réponse inflammatoire aiguë est le premier système des signaux d'alarme du corps qui sont orientés sur la retenue et l'élimination d'éventuels pathogènes. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou un cancer (**Barton, 2008**).

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques en Afrique est une partie intégrante de la culture et de la tradition. Ainsi, plus de 80% de la population à recours exclusif à la médecine traditionnelle pour les besoins de santé primaires. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle (**Muthu et al., 2006**).

Parmi la multitude de plantes aromatiques existant dans le monde, nous nous sommes particulièrement intéressés à trois plantes d'usage assez répandu en médecine traditionnelle à savoir *Origanum vulgare*, *Lavandula stoechas* et *Artemisia herba-alba* très connues pour leurs richesses en huiles essentielles et en polyphénols.

Par conséquent, notre travail sera porté sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des six extraits des parties aériennes de ces trois plantes médicinales.

Cette étude est présentée en deux parties :

- Le premier chapitre traite des généralités sur les trois plantes, le deuxième chapitre définit les différents types d'inflammation et les méthodes d'étude de l'activité anti-inflammatoire des substances naturelles.
- Le deuxième chapitre comporte le dosage des composés phénoliques totaux, et la détermination de l'activité anti-inflammatoire par deux tests différents : l'étude *In-vitro* de l'inhibition de la dénaturation protéique et étude *In-vivo* de l'inhibition de l'œdème induit par la carragénine, des extraits éthanoliques et des huiles essentielles de ces trois plantes.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

I.1-GENERALITES SUR LES PLANTES ETUDIEES

I.1.1-LAVANDE (*LAVANDULA STOECHAS*)

I.1.1.1-DESCRIPTION DE LA PLANTE

Le nom de Lavande dérive du latin "lavare", qui signifie laver. Elle appartient à la famille des labiées (Lamiaceae) (Chu et Kemper, 2001), le genre *Lavandula* se compose d'environ 28 espèces, qui sont pour la plupart originaires du bassin méditerranéen (Barrett, 1996).

- **FAMILLE DES LAMIACEES**

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées (Labiées, qui signifient "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs). Les Lamiacées constituent une large famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 7200 espèces et près de 236 genres répartis en 7 ou 8 sous-familles. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres ou des lianes, largement répandus autour du monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes. (Badamtsetseg et al., 2012).

- **CARACTERISTIQUE DE L'ESPECE *LAVANDULA STOECHAS***

Lavandula stoechas (Figure1) est une plante tendre, qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, les tiges étroites sont quadrangulaire à feuilles opposés, tendent à être plus vertes que grises, à son extrémité une inflorescence termine par un toupet de longue bractées violettes (Chu et Kemper, 2001).



(A)



(B)

Figure 1 : photographies de *Lavandula stoecha*, (A : Fleurs, B : Parties aériennes).

I.1.1.2- CLASSIFICATION DE L'ESPECE *LAVANDULA STOECHAS*

La classification de *Lavandula stoechas* est présentée dans le tableau I

Tableau I : Classification de l'espèce *Lavandula stoechas* (Quezel et Santa., 1963)

Règne	Plantes
Sous règne	plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales (labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas L</i>

I.1.1.3-COMPOSITION PHYTOCHYMIQUE

- **HUILE ESSENTIELLE**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de différents composés aromatiques volatils naturels responsables de donner aux plantes et aux épices leur essence et couleur caractéristiques (Benchaar, 2008). Les principaux constituants de l'huile essentielle de la lavande sont le linalol, le cineole1-8, -ocimene, le terpinen-4-ol et le camphre linalyliques. (Cavanagh et Wilkinson, 2002)

- **FLAVONOÏDES**

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont, entre autres et pour certains, responsables de la coloration des fleurs dont le pouvoir attracteur conditionne la pollinisation entomophile (Bruneton, 2009).

Les principaux flavonoïdes de *Lavandula stoechas* sont: apigénine 7-rutinoside, vitexine et lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide (**Upson et al., 2000**)

I.1.1.4- ACTIVITE BIOLOGIQUE

La Lavande a une longue histoire en usage médicinal. Elle est employée comme expectorant, antispasmodique, carminative, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermiques, psoriasis. Elle possède également des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide. Aujourd'hui, la Lavande est généralement utilisée dans la préparation des parfums et des savons (**Mohammedi et Atik, 2012**)

I.1.2 -ORIGAN (*ORIGANUM VULGARE*)

I.1.2.1-DESCRIPTION DE LA PLANTE

L'origan est le nom commun pour un arôme et une saveur généraux, principalement dérivés d'une pléthore de genres et d'espèces de plantes utilisées partout dans le monde comme épice. L'origan appartient à la famille des Lamiaceae, et largement connu comme plante très souple avec beaucoup de propriétés thérapeutiques (diaphorétique, carminatif, antispasmodique, antiseptique, tonique) utilisée en médecine traditionnelle dans beaucoup de pays (**Baricevic et Bartol, 2002**)

- **CARACTERISTIQUES DE L'ESPECE *ORIGANUM VULGARE***

Origanum vulgare est une plante vivace de 30 à 80 cm de haut, aux tiges rougeâtre et velues. Les feuilles opposées, ovales, sont pointues à l'extrémité. Les fleurs, rose-pourpre ou blanches, apparaissent en glomérules terminaux. La floraison a lieu de juillet à septembre. L'origan pousse dans des lieux secs, y compris en montagne ; seuls les sols siliceux semblent ne pas lui convenir. (**Goetz et Ghedira, 2012**)



Figure 2 : Photographie de la partie aérienne d'*Origanum vulgare* (Goetz et Ghedira, 2012).

I.1.2.2-CLASSIFICATION DE L'ESPECE *ORIGANUM VULGARE*

La classification d'*Origanum vulgare* est présentée dans le tableau II

Tableau II : Classification de l'espèce *Origanum vulgare* (Quezel et Santa, 1963)

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>

I.1.2.3-COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE

- **HUILES ESSENTIELLES**

L'origan fournit une huile essentielle (au moins 25 mL/kg) généralement riche en thymol et/ou en carvacrol. Sa composition chimique varie largement en fonction du chémotype ainsi qu'en fonction de la période de récolte. Le plus souvent, le carvacrol est majoritaire (teneur entre 40-70 %) et accompagné d' α -terpinène (8-10 %), de p-cymène (5-10 %), de myrcène, limonène, ocimène, caryophyllène, β -bisabolène, germacrène, α -pinène, camphène, α -terpinène, α -phellandrène. (Mockute et al., 2001)

- **COMPOSITION PHENOLIQUE**

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamentale qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2009).

Cinq composés phénoliques connus ont été identifiés dans les extraits d'origan en tant que 2.5 acide dihydroxybenzoïque, l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque, acide rosmarinique, orig-anoside, et maltol 6-O- (5-O-p-coumaroyl) - β -D-apiofuranosyl- β -D glucopyranoside (Zhang et al., 2014).

I.1.2.4-ACTIVITE BIOLOGIQUE

- **ACTIVITE ANTIBACTERIENNE**

L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* a été testée sur deux souches : Escherichia coli et Staphylococcus aureus. Pour la souche Escherichia coli, l'huile essentielle d'origan à thymol est le plus efficace. Pour la souche Staphylococcus aureus, on note une moindre activité. Ainsi, il a été démontré que ce sont les phénols présents dans cette huile essentielle qui présentent une bonne activité antibactérienne. (kaloustian et al., 2008)

- **ACTIVITE ANTIFONGIQUE**

L'huile essentielle d'origan à 0,25 mg/mL est responsable de l'inhibition complète de Candida albicans in vitro, autant sur la croissance mycélienne que sur la germination.

L'activité du carvacrol est semblable. Des études chez la souris ont montré que l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* est 100 fois plus efficace que l'acide caprylique pour inhiber *Candida albicans*. (Khosravi et al., 2011)

➤ **ACTIVITE ANTIPARASITAIRE (PARASITES INTESTINAUX)**

L'huile essentielle d'origan à 600 mg en émulsion permet la disparition complète d'*Entamoeba hartmanni* (4 cas), *Endolimax nana* (1 cas) et *Blastocystis hominis* (8 cas). Dans 7 cas d'infection à *Blastocystis hominis*, la symptomatologie a été significativement améliorée. (Goetz et Ghedira, 2012)

➤ **ACTIVITE ANTI-HYPERGLYCEMIANTE**

L'extrait aqueux (à raison de 20 mg/kg) issu des feuilles présente une activité anti-hyperglycémique chez le rat diabétique (diabète induit par la streptozotocine) (Goetz et Ghedira, 2012).

➤ **AUTRES ACTIVITES**

L'huile essentielle et ses principaux constituants exercent in vitro des propriétés antioxydantes mises en évidence par différents protocoles ainsi qu'un effet analgésique sur le rat traité par l'extrait hydroalcoolique (test au formol) (Goetz et Ghedira, 2012).

I.1.3-ARMOISE (*ARTEMISIA HERBA ALBA*)

I.1.3.1-DESCRIPTION DE LA PLANTE

Le genre *Artemisia* L. (Famille des Asteraceae, tribu Anthemideae), comprend un nombre variable d'espèces (De 200 à plus de 400, selon les auteurs) retrouvées dans toute la moitié nord du monde.

Artemisia herba-alba, connu comme absinthe du désert (connu en arabe comme shih, Armoise blanche (Fr)), a été utilisé dans la médecine traditionnelle depuis les temps anciens. La tisane de cette espèce a été utilisée comme analgésique, anti-bactérien, antispasmodique, agents hémostatiques (Mohamed et al., 2010).



Figure 3 : photographie d'*Artemisia herba-alba* (Mohamed et al., 2010).

- **FAMILLE DES ASTERACES**

Les Asteraceae sont l'une des plus grandes familles de plantes, avec plus de 1600 genres et environ 23.000 espèces, la plupart d'entre eux se produisent dans des régions tempérées. Ces plantes sont généralement herbacées et moins fréquemment des arbustes ou des sous-arbrisseaux (Garcia-Herrera et al., 2014).

- **CARACTERISTIQUES DE L'ESPECE ARTEMISIA HERBA-ALBA**

Artemisia herba-alba est une plante herbacée vivace de couleur verte argentée poussant jusqu'à 20-40 cm de hauteur; c'est un chamaephyte (c.a.d les bourgeons donnant lieu à une nouvelle croissance chaque année sont à la charge près du sol). Les tiges sont rigides et dressés. Les feuilles grises de pousses stériles sont pétiolées, ovales à orbiculaires dans les grandes lignes. Les têtes des fleurs sont sessiles, oblongues et effilées à la base. La floraison de la plante s'étale de Septembre à Décembre (Mohamed et al., 2010).

I.1.3.2-CLASSIFICATION DE L'ESPECE ARTEMISIA HERBA-ALBA

La classification d'*Artemisia herba-alba* est présentée dans le tableau III

Tableau III : Classification de l'espèce d'*Artemisia herba-alba* (Quezel et Santa, 1963)

Règne	Plantes
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophytes
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba- alba</i>

I.1.3.3-COMPOSITION PHYTOCHYMIQUE

- **HUILE ESSENTIELLE**

Les constituants principaux de l'huile essentielle de l'armoise sont le camphre, les / - thujones, 1.8 cineole et les dérivés de chrysanthenyl. D'autres études, ont montré la présence de camphène (3%), bornéol (3.6%), éther de davana (8.8%), davanone (36.1%) (Zouari et al., 2010).

- **LES COMPOSES PHENOLIQUES**

Les composés phénoliques principaux de l'armoise sont : l'acide chlorogénique, 4,5-O-dicaffeoylquinique acide, isofraxidin 7-O- -D-glucopyranoside, acide 4-O- -D-glucopyranosylcaffeic, rutine, schaftoside, isoschaftoside, et vicenin-2 (Mohamed et al., 2010).

- **LES FLAVONOÏDES**

Les principaux flavonoïdes qui se trouvent dans l'armoise sont : flavone (apéginie), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (Mohamed et al., 2010).

- **SESQUITERPENE LACTONES**

Les lactones sesquiterpéniques sont parmi les produits naturels importants trouvés dans des espèces d'*Artemisia* et sont largement responsables de l'importance de ces plantes dans la pharmacopée. Plusieurs types structuraux de lactones sesquiterpéniques ont été retrouvés dans les parties aériennes d'*A. herba-alba* avec essentiellement le 1-, 9- -Diacetoxyeudesm-4-en-6, 11bH-12,6-olide et 1-, 9- -Diacetoxyeudesm-3-en-6, 11 H-12,6-olide. (Mohamed et al., 2010)

I.3.4-ACTIVITES BIOLOGIQUES

➤ **ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

Beaucoup de plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants, qui pourront être isolés et utilisé comme anti-oxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés à des radicaux libres. *Artemisia herba-alba* a montré une forte activité anti oxydantes. Il a été également noté que les plantes algériennes sont de forts piègeurs de radicaux et peuvent être considérées comme une bonne source d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciale (Khlifi et al., 2013). L'activité antioxydante potentielle de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* était déterminée sur la base de l'inhibition de l'oxydation du β -carotene et de l'acide linoléique et la réduction du radical stable libre (DPPH) (Zouari et al., 2010).

➤ **ACTIVITE NEMATOCIDE**

L'activité nématocide *In-vitro* de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia herba-alba* (20 ug/ml) a provoqué 22, 51, et 54% de mortalité après 24, 48 et 72 h d'exposition, respectivement sur deux espèces de nématodes. (Mohamedi et al., 2010)

➤ ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Artemisia herba alba est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaires. **Mohamed et al., (2010)** ont testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, ils ont trouvé que Toutes les huiles ont une activité antibactériennes à une concentration de 2.1 mg / ml. Les huiles étaient actives contre les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) et contre les bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*).

I.2-ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

I.2.1-L'INFLAMMATION

L'inflammation est un processus adaptatif coordonné induit par une infection microbienne ou par une blessure de tissu (**Barton, 2008**). La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par 4 signes cardinaux : Œdème, rougeur, chaleur et douleur et par une série de processus cellulaires et biochimiques : afflux leucocytaire, plaquettaire et macrophagique, libération de dérivés de l'acide arachidonique (prostaglandines dont les PGE2, thromboxanes et leucotriènes), de facteur d'activation plaquettaire (PAF), d'hémoglobine, d'amines vasodilatatrices telles que l'histamine, la sérotonine et les kinines, des enzymes protéolytiques et des ions superoxydes (**Yam et al., 2009**).

I.2.2-LES TYPES D'INFLAMMATION

I.2.2.1-INFLAMMATION AIGUE

Il s'agit de la réponse immédiate, à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. (**Serhan et al., 2010**). L'inflammation est caractérisée par quatre signes typiques qui sont l'œdème, la douleur, la chaleur et la rougeur. Elle peut également s'accompagner d'atteintes fonctionnelles régionales selon la gravité de l'agression (**barton, 2008**).

I.2.2.2-INFLAMMATION CHRONIQUE

L'inflammation chronique n'est pas une persistance de l'inflammation aigue mais est définie morphologiquement par la présence des lymphocytes, des macrophages, et des cellules de plasma dans les tissus. Dans beaucoup de cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pour de longues périodes (mois ou années). On la considère comme étant provoqué par l'enclenchement persistant de réactions immunitaires innées et acquises, comme dans le rhumatisme articulaire (Serhan et al., 2010).

I.2.3-L'INFLAMMATION ET LA DENATURATION PROTEIQUE

Les peroxydes et les radicaux libres formés pendant l'inflammation peuvent causer l'oxydation, la décarboxylation, la désamination, et les dommages structurels aux acides aminés tels que le clivage et la modification des chaînes polypeptidiques (Govindappa et al., 2011). La modification des protéines par des médiateurs de l'inflammation peut mener à leur dénaturation ce qui peut potentiellement rendre ces protéines non fonctionnelles. Par exemple, le carbonylation de la lysine affecte des fonctions de protéines pendant le processus de signalisation. On observe souvent la présence de ces protéines modifiées chez les patients présentant la maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, et le cancer (Sakat et al., 2010).

Des suggestions ont été faites que la dénaturation des protéines les rend antigéniques, lançant de ce fait une immuno-réaction et produisant les changements biochimiques tissulaires, qui mènent finalement au rhumatisme articulaire. Le facteur rhumatoïde est un anticorps dirigé contre l'IgG du soi et qui est régulièrement trouvé dans les sérums des patients présentant les maladies auto-immunes. L'antigénicité du soi de l'IgG est provoqué par un changement dans la structure de l'immunoglobine (Govindappa et al., 2011).

I.2.4-METHODES D'ETUDES DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

I.2.4.1-ETUDE *IN-VITRO*

➤ DENATURATION PROTEIQUE

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et secondaire sous l'effet de certaines substances, tel que l'acide ou la base forte, concentré en sel organique, un dissolvant organique ou la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique une fois dénaturées. La dénaturation de ces

molécules est une cause bien documentée de l'inflammation. En tant qu'élément de la recherche sur le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire (**Leelaprakash et Mohan, 2011**).

La dénaturation des protéines est une cause de l'inflammation. La production des auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation *In-vivo* de la protéine. Le mécanisme de la dénaturation comporte probablement le changement dans la liaison électrostatique, d'hydrogène, hydrophobe et bisulfure (**Banerjee et al., 2011**).

➤ STABILISATION MEMBRANAIRE

En général, il y a plusieurs avantages à choisir les érythrocytes comme modèle pour étudier le mécanisme de la stabilisation membranaire. La surface de la membrane des érythrocytes peut être exactement estimée et l'érythrocyte est exempt d'organelles intracellulaires. Donc tout effet d'une substance sur l'hémolyse osmotique pourrait d'une manière justifiable être interprété comme effet sur la membrane elle-même (**Seeman et Weinstein, 1966**).

Les globules rouges constituent un bon modèle pour suivre les mouvements de l'eau. Placés dans une solution hypotonique, leur éclatement (hémolyse) laisse seulement un fantôme membranaire et de l'hémoglobine en solution transformant la suspension opaque de cellules en une solution rouge translucide d'hémoglobine. L'hémolyse est estimée en suivant le taux d'hémoglobine libérée à 540nm (**Seeman et Weinstein, 1966**).

➤ INHIBITION DES ENZYMES PRO-INFLAMMATOIRES

L'inflammation est un phénomène naturel utile lorsqu'elle ne s'installe pas dans la durée. Mais elle favorise également différents processus pathologiques. Des études ont mis en lumière une interaction entre les enzymes pro-inflammatoires tels que les lipoxygénases (LOX), en particulier la LOX-5, et des maladies comme des cancers, des maladies de cœur ou l'asthme. Les enzymes cyclooxygénases sont également lourdement impliquées dans un certain nombre de maladies.

Plusieurs nouvelles stratégies ont été considérées, notamment l'inhibition de cyclooxygénase-2 (COX-2) et la lipoxygénase 5 (LOX-5). Toutes les deux sont les principales enzymes impliquées dans la cascade d'acide arachidonique(AA), menant aux acides gras bioactifs importants connus sous le nom d'eicosanoïdes (**Charlier et Michaux, 2003**).

L'acide arachidonique (AA) est l'acide gras polyinsaturé le plus abondant dans les membranes cellulaires phospholipidiques. L'activation de la phospholipase A2 (PLA2), en réponse à divers stimuli, libère l'AA, qui peut encore être métabolisé par deux grandes voies enzymatiques: la cyclo-oxygénase et LOX-5, conduisant à des médiateurs pro-inflammatoires, prostanoïdes et leucotriènes (LT), respectivement (**Charlier et Michaux, 2003**).

Les inhibiteurs de LOX-5/COX agissent en bloquant la formation de PGs et de LTs sans affecter la formation de LX. Les effets épargnant sur la muqueuse gastrique sont probablement dus à l'inhibition de la synthèse des produits LOX-5. Il peut donc être prévu que les deux programmes de blocage induisent un effet anti-inflammatoire amélioré, sans endommager la Muqueuse gastro-intestinale (GI). (**Martel-Pelletier et al., 2003**)

I.2.4.2- TEST *IN-VIVO*

➤ INDUCTION DES ŒDEMES PAR DES AGENTS PHLOGISTIQUES

L'œdème peut être provoqué par plusieurs agents phlogogène: huile de croton, ovalbumines, histamine, carragénine...pour cette étude, la carragénine a été utilisée pour induire l'inflammation.

- **La carragénine**

L'activité anti-inflammatoire est réalisée par le test de la carragénine. Cet agent phlogogène induit au niveau de la patte un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés. Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution et en raison de sa reproductibilité.

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par WINTER selon laquelle l'inflammation est induite par injection de la carragénine au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure droite de la souris. L'œdème causé par cet agent phlogogène a été traduit en volume mesuré par le pléthysmomètre ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire. (**Chatter et coll, 2013**)

L'inflammation induite par la carragénine est un phénomène biphasique. La première phase de l'œdème est attribuée à la libération de l'histamine et la 5-hydroxytryptamine : phase de plateau, maintenue par kinines la deuxième phase d'accélération de gonflement est

attribuée à la prostaglandine. La connaissance de ces médiateurs impliqués dans les différentes phases est importante pour le mode d'action du médicament (**Balashubramanian et al., 2005**).

Chapitre II

Materiel et Méthodes

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

II.1 MATERIEL VEGETAL

II.1.1- RECOLTE ET IDENTIFICATION DU MATERIEL VEGETAL

La partie aérienne des trois plantes utilisées dans cette étude : *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare*, et *Artemisia herba-alba* (Figure 4). L'origan et l'armoise ont été récoltés dans la région de Beni Ourtilane (willaya de Sétif), et la lavande dans la région d'Akbou (Touddart) au mois de mars 2015.

L'identification botanique des plantes a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie de l'université de Bejaïa en se référant à la flore algérienne de **Quezel et Santa (1963)**.



Figure 4 : photographie des plantes étudiées **A)** *Lavandula stoechas* **B)** *Origanum vulgare* **C)** *Artemisia herba-alba*.

II.1.2-TRAITEMENT DU MATERIEL VEGETAL

Les plantes fraîchement récoltées, ont été lavées à l'eau courante afin de les débarrasser des poussières et autres particules et laissées sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré.

Une partie des plantes a été utilisée ainsi pour l'extraction des huiles essentielles, et l'autre partie fut séchée dans une étuve à 40°C pendant 48h avant l'extraction des composés phénoliques.

Après le séchage, le matériel végétal destiné à l'extraction des composés phénoliques a été broyé, à l'aide d'un broyeur électrique, en une poudre fine pour permettre une meilleure

extraction, Cette dernière a été ensuite conservée dans des bocaux en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

II.2 MATERIEL ANIMAL

Des souris males albinos (*Mus musculus*) âgées d'environ 8 semaines dont le poids varie entre 20 et 25g, ont été obtenues auprès de l'Institut Pasteur à Alger. Les souris ont été élevées dans des cages standards à température ambiante avec un libre accès à l'eau et à la nourriture (Figure 5). L'aliment provient du Complexe Agro-Alimentaire d'EL-Kseur.

Les souris ont subi un cycle obscurité/lumière de 12h, la litière utilisée est de la sciure, elle est renouvelée deux à trois fois par semaine pour tous les groupes d'animaux.



Figure 5: Elevage des souris SWISS

II.3 METHODES

II.3.1- EXTRACTION DES MOLECULES BIOACTIVES

II.3.1.1 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

➤ Procédé d'extraction

Les huiles essentielles d'*Origanum vulgare*, *Lavandula stoechas* et *Artemisia herba-alba* ont été obtenues par Hydrodistillation (figure 6) (Gören et al., 2002). Pour ce faire, 100g de chaque plante ont été introduits dans un ballon à col rodée contenant 1000ml d'eau de source.

L'ensemble a été soumis à ébullition pendant environ 3h, et les vapeurs chargées en huiles ont été récupérés après condensation à l'aide d'une ampoule à décanter.

Après déshydratation des Huiles essentielles par du sulfate de sodium anhydre, ces dernières ont été conservés dans des flacons hermétiquement fermés à 4°C.



Figure 6: photographie de l'hydrodistillateur

➤ Rendement d'extraction pondérale

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimé en pourcentage.

- Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = M_1 / M_0 * 100$$

Où :

R (%) : Rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

M₁ : masse d'extrait récupéré exprimée en grammes.

M₀ : masse du végétal utilisé pour l'extraction exprimée en grammes.

II.3.1.2- PREPARATION DES EXTRAITS ETHANOLIQUES

➤ Protocole d'extraction

Les polyphénols ont été extraits par macération de 50g de poudre végétale de chaque plante dans 200 ml d'éthanol à 96%, sous agitation. Après 24 heures la solution a été centrifugée à 3000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant contenant les polyphénols a été

filtré avec du papier filtre standard, et le solvant évaporé à l'étuve à 40°C, l'extrait est ensuite conservé à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. (Agbonon *et al.*, 2001)

➤ Calcul du rendement pondéral d'extraction

La détermination du taux d'extraction (%) a été réalisée selon la formule suivante :

$$(\%) = [(P_0 - P_1)/P_E] * 100$$

Où :

$P_0 - P_1$: Poids de l'extrait sec exprimé en milligrammes.

P_E : poids de l'échantillon (poudre végétale) exprimé en milligrammes.

II.3.2- DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX

Le dosage des composés phénoliques a été réalisé sur les extraits éthanoliques ainsi que sur les huiles essentielles des trois plantes dans les mêmes conditions.

➤ PRINCIPE

La quantification colorimétrique des composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode décrite par Djeridane *et al.*, (2006), utilisant le réactif de Folin ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ces derniers, lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 760 nanomètres est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ MODE OPERATOIRE

0,2 ml de solution d'extrait (1mg/ml) ont été mélangés avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%, v/v), suivis de 0,8 ml de solution de carbonate de sodium (7,5%, w/v). Après avoir bien agité, les tubes à essai ont été incubés pendant 2h à température ambiante et à l'obscurité ; puis l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

Un blanc a été préparé en mélangeant 0,2ml de méthanol avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 0,8ml de solution de carbonate de sodium.

➤ EXPRESSION DES RESULTATS

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent en acide gallique par 100 grammes de poids sec (mg EAG/g MS) (**Koffi et al., 2010**).

II.4- Activité Anti-inflammatoire

II.4.1- Effet Sur La Dénaturation Protéique

- **Principe**

Le modèle de la dénaturation de l'albumine a été choisi pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires *In-vitro* des six extraits de cette étude. Le principe de cette technique est basé sur la capacité des différents extraits à empêcher la dénaturation thermique de l'albumine humaine sérique. La dénaturation de l'albumine sous l'effet de la chaleur aboutit à un mime de l'expression d'antigènes associés à une hypersensibilité de Type III, réaction impliqué dans des maladies telles que les maladies sériques, la glomérulonéphrite etc (**Adarsh verma et al., 2011**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 450µl de solution d'albumine humaine sérique à 5% a été mélangé avec un volume de 50µl de chaque extrait à différentes concentrations, puis le pH du milieu réactionnel a été ajusté à 6.3.

L'ensemble a été incubé pendant 20min à 37°C et 3min à 57°C, puis 2.5ml de tampon PBS ont été ajoutés, et les absorbances mesurées à 416nm.

Un blanc pour chaque extrait a été préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'albumine par de l'eau distillée,

Le contrôle est constitué d'albumine et d'eau distillée,

L'aspirine a été utilisée comme standard et testé dans les mêmes conditions (**Mizushima et Kobayachi, 1968**).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine a été calculé par la formule suivante:

$$\% d'Inhibition = \left(\frac{Ac - At}{Ac} \right) \times 100$$

Où :

Ac = Absorbance du contrôle

At = Absorbance du test - Absorbance du blanc du test

II.4.2-EFFET SUR L'ŒDEME DE LA PATTE DE SOURIS INDUIT PAR LA CARRAGENINE

- **Principe**

Le principe du test est de déterminer l'aptitude des différents extraits testé à réduire l'inflammation causée par la carragénine, agent phlogistique qui provoque le développement d'un œdème localisé au site d'injection par la stimulation de la libération de molécules pro-inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine et les prostaglandines (Soni et al., 2014).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Répartition des animaux**

Des Souris males albinos (SWISS) pesant entre 20 à 25g ont été réparties en lots de 6 individus dans des cages standards, maintenues dans une pièce à T° ambiante avec une alimentation modérée et de l'eau à volonté. 12h avant l'expérimentation, les souris testées ont été privées de tout nutriment.

Les différents lots testés ont été réparties comme suite :

- Lot n°1 au Lot n°12: Extraits éthanoliques et Huiles essentielles d'*Origanum Artemisia* et *Lavandula* à 50 et 100mg/kg de poids corporel.
- Lot n° 13: Piroxicam à 20mg/kg.
- Lot n°14 : Groupe contrôle (Véhicule : Tween 80 à 1%)

- ✓ **Protocole expérimental**

Le protocole suivi pour l'induction de l'œdème de la patte des souris est celui décrit par Winter et al, (1962).

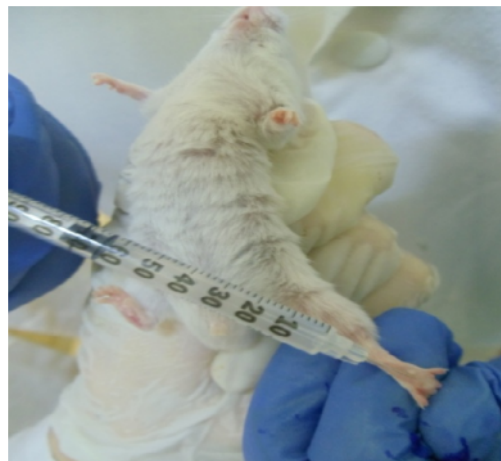
Pour cela, 50µl d'une solution de carragénine à 1%, préparé dans de l'eau physiologique ont été injectés sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque souris (Figure 7),

1h après administration des différents extraits, du standard et du véhicule par voie intra-gastrique, à raison de 0.5ml de solution d'extrait préparé dans du Tween 80 à 1% pour chaque souris (Figure 7).

Le diamètre de chaque patte a été alors mesuré à 0h avant injection de la carragénine et 1, 2, 3, 4 et 5h après, à l'aide d'un pied à coulisse électronique (Figure 8)

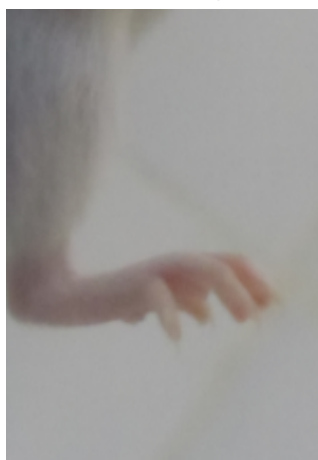


Administration intra-gastrique de l'extrait et du standard



Injection de la carragénine

Figure7 : Administration intra-gastrique et injection intra-articulaire



Patte avant l'injection



Patte après l'injection



Mesure de diamètre de la patte

Figure 8 : La patte avant et après l'injection de la carragénine

- **Expression des résultats**

L'activité anti-inflammatoire *In-vivo* des extraits a été exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition de l'oeudème} = \left(\frac{Dc - Dt}{Dc} \right) \times 100$$

Où :

Dc = Diamètre moyen des pattes des souris du groupe contrôle

Dt = Diamètre moyen des pattes des souris traités par les extraits ou le standard

Chapitre III
Résultats
et
Discussion

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

III.1 EXTRACTION

Le taux d'extraction des composés phénoliques dépend de la méthode, de la nature du solvant, de la température et de la taille des particules constituant la poudre de la plante.

Une fois les extraits éthanoliques secs, et les huiles essentielles récupérés, le calcul des taux d'extraction a donné les résultats suivants :

Tableau IV : Rendements pondérales d'extraction

Extrait	Nom de l'espèce	Taux d'extraction
Extrait éthanolique	<i>Lavandula stoechas</i>	8.32%
	<i>Origanum vulgare</i>	4.58%
	<i>Artemisia herba-alba</i>	7.46%
Huile essentielle	<i>Lavandula stoechas</i>	0.8%
	<i>Origanum vulgare</i>	1.72%
	<i>Artemisia herba-alba</i>	0.63%

D'après les taux d'extraction montrés dans le tableau, nous constatons que l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* avec un taux de **8.32%** est plus riche en composés phytochimiques. On remarque aussi que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* (**7.46%**) est plus riche que l'extrait éthanolique d'*Origanum vulgare* (**4.58%**).

Des travaux réalisés par **Licina et al., (2013)** sur l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*Origanum vulgare* récolté en Serbie ont indiqué que cette dernière est moins riche en composés bioactifs (**rendement de 3.18%**).

En revanche, pour l'huile essentielle, *Origanum vulgare* a montré le pourcentage d'extraction le plus élevé ce qui pourrait supposer la richesse de cette plante en composés volatiles. **Al-Kalalkeh et al., (2010)** dans leur étude n'ont extrait que **0.23%** d'huile essentielle des feuilles de la même espèce provenant d'Arabie saoudite.

On remarque aussi que le taux d'extraction de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (**0.8%**) est supérieur à celui d'*Artemisia herba-alba* (**0.63%**). En effet **Zuzarte et**

al., (2013), on trouvé un pourcentage de **0.7%** d'huile essentielle des feuilles de *Lavandula stoechas*, et pour l'huile essentielle des tiges et des feuilles d'*Artemisia herba-alba*, **Sharifian et al.**, (2012), ont trouvé un pourcentage de **0.56%**.

Ainsi, de manière générale les variations des taux d'extraction de composés phytochimiques pourraient être due essentiellement à l'origine de l'espèce, la période de récolte, le taux d'humidité et le stade de développement de la plante ainsi qu'aux conditions climatiques et de conservation (**Prieto et al.**, 2007).

III.2 DOSAGE DES PHENOLS TOTAUX

Les teneurs en phénols totaux des extraits des parties aériennes de *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* et *Artemisia herba-alba*, ont été exprimées à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence (figure 9).

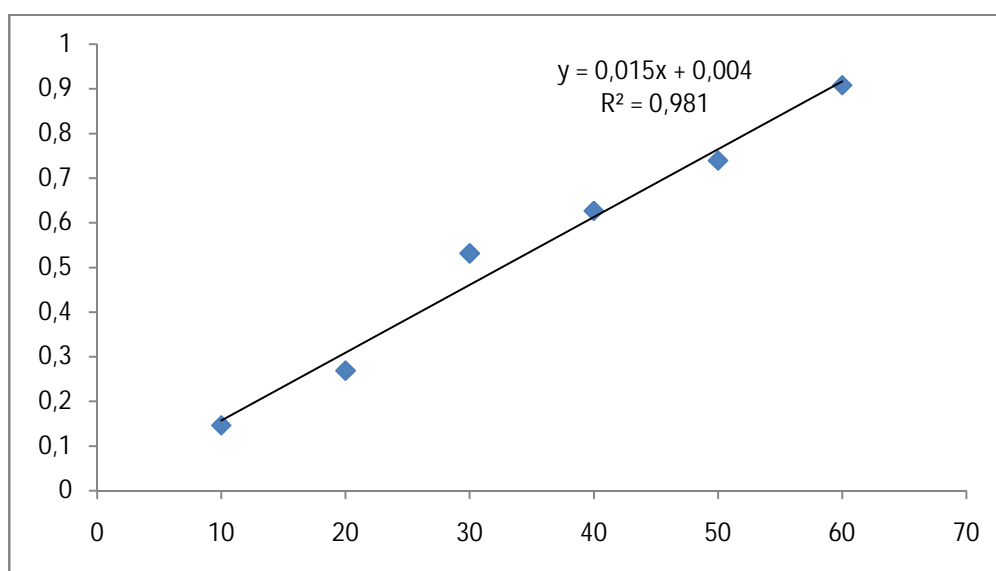


Figure 9 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique

Les taux en composés phénoliques totaux sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique / g d'extrait ou d'huile essentiel et sont représentées dans la figure 10 :

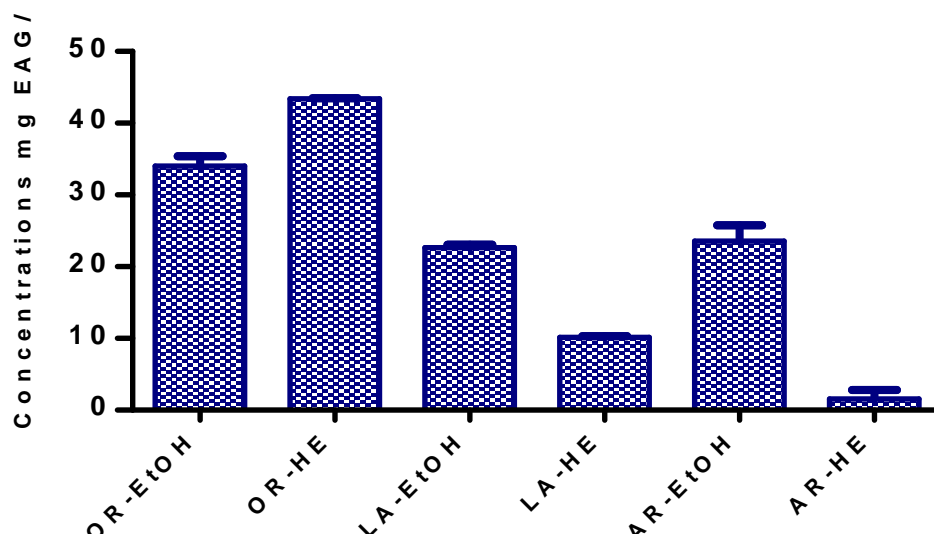


Figure 10: Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des parties aériennes d'*origanum vulgare*, *Lavandula stoechas* et *Artémisia herba-alba*

OR-EtOH : Extrait éthanolique d'*Origanum vulgare*. **OR-HE** : Huile essentielle d'*Origanum vulgare*. ; **LA-EtOH** : Extrait éthanolique de *Lavandula stoechas*. **LA-HE** : Huile essentielle de l'*Avandula stoechas*. ; **AR-EtOH** : Extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba*. **AR-HE** : Huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

➤ Dans les extraits éthanoliques

Les résultats montrent que la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait éthanolique d'*origanum vulgare* (34 ± 1.4 mg EAG/g d'extrait) (Figure 10) est supérieure aux teneurs des extraits éthanoliques de *Lavandula stoechas* (22.66 ± 0.37 mg EAG/g d'extrait) et d'*Artémisia herba-alba* (23.5 ± 2.21 mg EAG/g d'extrait).

Le taux de polyphénols de l'extrait d'*Origanum vulgare* est largement inférieur à celui observé par **Licina et al., (2013)**, qui ont obtenu une teneur de **135 ± 1.08 mg EAG/g d'extrait** pour la même espèce après extraction avec de l'éthanol.

Nous remarquons aussi que les extraits éthanoliques de *Lavandula stoechas* (22.66 ± 0.37 mg EAG/g d'extrait) et *Artemisia herba-alba* (23.5 ± 2.21 mg EAG/g d'extrait) présentent des teneurs appréciables en polyphénols.

Les résultats de L'étude réalisée par **Khelifi et al., (2013)**, ont révélé que *Artemisia herba-alba* est plus riche en composés phénoliques avec une concentration de **123.95 ± 4.30 mg EAG/g d'extrait**.

D'après **Levizou et al., (2004)**, les variations observées dans les taux en composés phénoliques, pourraient être attribuées essentiellement aux conditions d'extraction ainsi

qu'aux conditions environnementales, à la saison et au lieu de récolte et aux facteurs morphogénétiques.

➤ **Dans l'huile essentielle**

D'après les résultats obtenus (figure10), on constate que la teneur en composés phénoliques de l'huile essentielle d'*origanum vulgare* (43.4 ± 0.07 mg EAG/g d'extrait) est supérieure comparativement aux teneurs des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* (10.13 ± 0.17 mg EAG/g d'extrait) et *Artémisia herba-alba* (1.5 ± 1.25 mg EAG/g d'extrait).

selon **Sarikurkcu et al., (2015)**, la caractéristique principale de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* est sa grande richesse en thymol et carvacrol (phénols), qui représentent 58.31% et 16.11% de sa composition.

On constate aussi que la teneur en composés phénoliques de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (22.66 ± 0.37 mg EAG/g d'extrait) est proche de celle de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* **23.5 ± 2.21 mg EAG/g d'extrait.**

Selon **Zuzarte et al., (2012)**, les constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sont : le fenchone (37.0%) et le camphor (27.3%). Par contre **Sharifian et al., (2012)**, on trouvé que le -Thujone et le Camphor avec un pourcentage de 35.66% et 34.94% sont les constituants majoritaires de l'huile essentielles d'*Artemisia herba-alba*.

Les études de **Sarikurkcu et al., (2015)**, ont prouvé qu'une différenciation de la qualité d'huile et des composants volatils est associée aux conditions climatiques, à la localisation géographique des endroits de collecte des échantillons, et d'autres facteurs écologiques et génétiques.

III.3 ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

III.3.1 EFFET SUR LA DENATURATION PROTEIQUE

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *In-vitro* des six extraits, nous avons opté pour le modèle anti-dénaturation de l'albumine.

Les propriétés antigéniques des protéines dénaturées aboutissent à plusieurs désordres tel que des granulonephrites, des arthrites rhumatoïdes et des lupus systémiques érythémateux (Duganath *et al.*, 2010).

L'effet de nos différents extraits sur la dénaturation thermique de l'albumine sérique humaine a été évalué à différentes concentrations et les résultats sont représentés dans les figures 11 et 12

➤ Dans les extraits éthanoliques

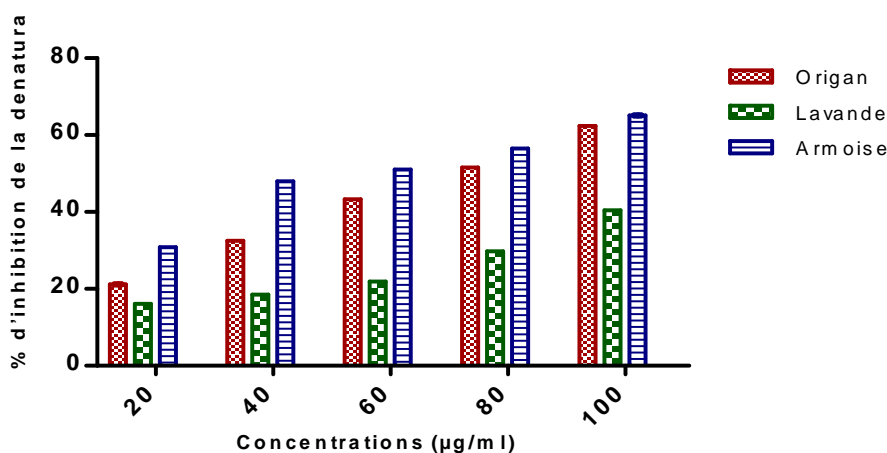


Figure 11: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des extraits éthanoliques

Au premier abord, nous constatons que l'effet des extraits éthanoliques des trois plantes étudiées est concentration dépendant.

D'après les résultats obtenus, on constate que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation par l'Armoise est supérieur comparativement aux autres extraits et malgré le changement de concentration elle reste toujours dominante et atteint le maximum à une concentration de 100 µg/ml avec un pourcentage de **65.06 ± 0.019 %**. L'extrait d'origan a montré un pourcentage d'inhibition de **62.37 ± 0.007%**, et la lavande à inhibé la dénaturation protéique à seulement **40.41 ± 0.004%** à la même concentration.

➤ Dans les huiles essentielles

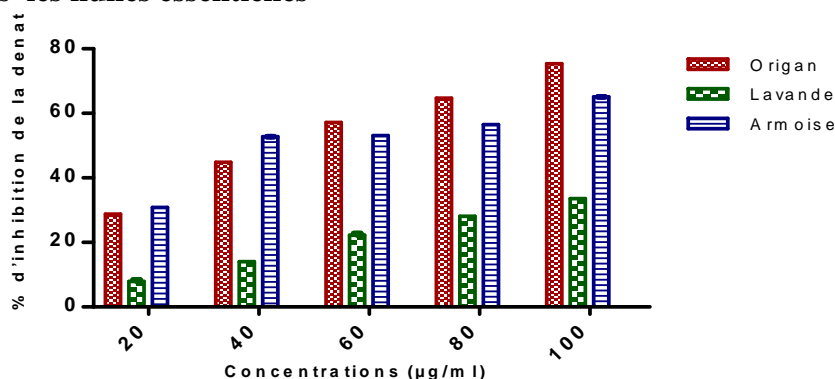


Figure 12: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des huiles essentielles

Les résultats de la figure (12) révèlent que l'origan et l'armoise présentent des pourcentages proches à une concentration de 20 µg/ml, et à partir de cette concentration on peut noter une augmentation progressive des pourcentages d'inhibition des différentes huiles essentielles. Un maximum d'inhibition a été enregistré à une concentration de 100 µg/ml avec un pourcentage de $75.34 \pm 0.001\%$ pour l'origan, $65.06 \pm 0.019\%$ pour l'armoise et seulement $33.56 \pm 0.005\%$ pour l'huile essentielle de la lavande.

Le standard utilisé (figure 13) a donné une inhibition maximale de 86.98 ± 0.007 à 100 µg/ml, donc on constate que l'effet de l'aspirine est largement supérieur à celui de nos extraits éthanoliques et des huiles essentielles.

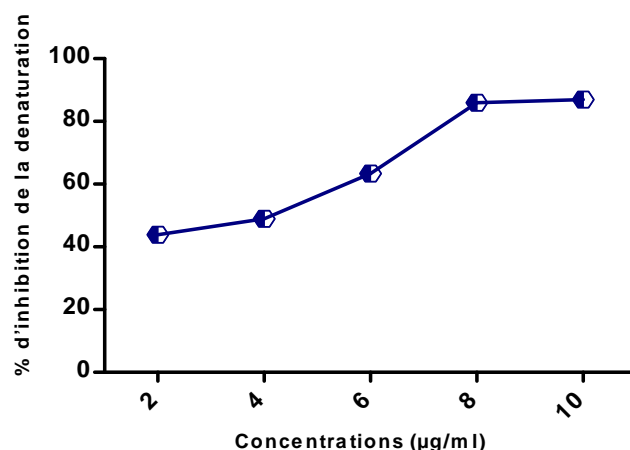


Figure 13: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par l'acide acétylsalicylique

La dénaturation des protéines est un processus au cours duquel les protéines perdent leur structure tertiaire et secondaire par application d'un stress externe tel que la chaleur ou par certains composés comme les acides ou les bases fortes et les solvants organiques (Adarsh verma *et al.*, 2011).

Le mécanisme aboutissant à cette dénaturation implique probablement une rupture des liaisons électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes ou encore des ponts disulfures (**Banerjee et al., 2011**).

Un certain nombre de médicaments anti-inflammatoires sont connues pour empêcher la dénaturation des protéines. **Mizushima et Kobayashi 1968** ont utilisé la dénaturation des protéines comme modèle *In-vitro* de criblage pour les composés potentiellement anti-inflammatoires. Il est très important de signaler qu'il ya beaucoup de rapports qui indiquent l'implication de la dénaturation des protéines dans les processus inflammatoires (**Mizushima et Kobayashi, 1968**).

La production ou l'apparition des auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques peut être due à la dénaturation des protéines *In-vivo*. Les agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéine donc, seraient de bon candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (**Chandra et al., 2012**).

D'après les résultats qu'on a obtenue, on peut supposer que nos extraits peuvent inhiber la formation d'auto-antigènes par inhibition de la dénaturation des protéines et de ce fait ils inhibent la formation d'auto-anticorps retrouvés dans les maladies auto-immunes.

En effet, d'après **Duganath et al., (2010)**, cet effet anti-dénaturation serait due à l'interaction des molécules présentes dans les extraits naturels avec certains acides aminés constituant les protéines, dans le cas de l'albumine (modèle étudié) ces interactions se feraient au niveau de deux sites spécifiques : la tyrosine et la thréonine de la chaîne aliphatique.

III.3.2-EFFET SUR L'ŒDEME DE LA PATTE DE SOURIS INDUIT PAR LA CARRAGENINE

Afin d'évaluer l'effet des six extraits de trois plantes sur l'inflammation aigue, le modèle de l'œdème de la patte de souris induit par la carragenine a été utilisé.

Nos extraits ont été testés à deux dose : 50 mg/kg et 100 mg/kg et le piroxicam utilisé comme molécule de référence a été testé à 20 mg/kg.

Afin de mettre en évidence l'effet anti-inflammatoire de nos extraits, on a rapporté les pourcentages d'inhibition calculé par rapport au témoin et comparé à celle du standard. Les résultats sont résumés dans les figures n°14.

➤ Dans les extraits éthanoliques

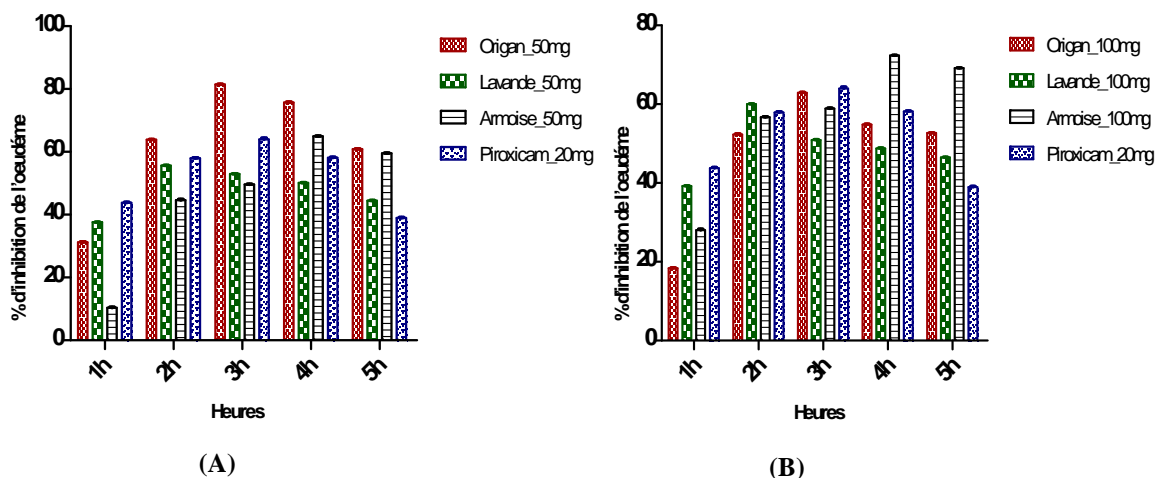


Figure 14: Pourcentages d'inhibition de l'œdème Des extraits éthanoliques (A : 50mg/kg; B : 100mg/kg)

L'œdème ou le gonflement, un des signes cardinaux de l'inflammation aiguë, est un paramètre important à considérer en évaluant des agents ayant une activité anti-inflammatoire potentielle. L'œdème induit par la carragénine cause la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, sérotonine, bradykinine et prostaglandines (**Buapool et al., 2013**).

La réponse inflammatoire induite par la carragénine est biphasique, la première phase (1-2 heures après l'injection de la carragénine) résulte principalement du dégagement concomitant des médiateurs de l'inflammation comme la sérotonine, l'histamine et la kinine. La deuxième phase (3-6 heures après l'injection de la carragénine) est caractérisée par la libération des bradykinines, les leukotriènes, les prostaglandines produites par les macrophages (**Yam et al., 2009**).

Dans notre étude nous avons d'abord vérifié la validité de la méthode en testant le piroxicam, un anti-inflammatoire non stéroïdien très efficace contre l'œdème à la carragénine. Le piroxicam a réduit l'augmentation de l'œdème dès la première heure de **43.75%**. Ce composé a inhibé l'œdème pendant les 5h de mesure et a montré un pourcentage d'inhibition maximal à la 3^{ème} heure de **63.98%**.

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de l'origan testé à 50mg est apparu dès la première heure après injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition maximal (**81.43%**) obtenu à la 3^{ème} heure contrairement au pourcentage d'inhibition trouvé à

une dose de 100mg (**62.87%**) à la même heure. Cependant, l'extrait s'est révélé moins actif après les trois heures pour les deux doses (**75.73%**) et (**54.83%**). L'effet de l'extrait de l'origan sur l'inhibition de l'œdème s'expliquerait par l'inhibition de la synthèse des substances pro-inflammatoires comme les cytokines et les prostaglandines.

Cette activité peut être expliquée par la richesse de l'origan en flavonoïdes qui peuvent agir sur l'inflammation aigüe. En effet, **Licina et al., (2013)**, ont trouvé que l'extrait éthanolique de la même espèce est riche en flavonoïdes, et **Nijveld et al., (2011)**, ont montré que ces molécules peuvent inhiber à la fois la cyclooxygénase et la lipooxygénase et provoque ainsi l'inhibition de l'inflammation.

D'après la figure n°14, on constate que l'extrait éthanolique de la lavande, testé à 100mg a inhibé l'œdème de la patte d'une manière plus importante en comparaison à la dose de 50mg. La dose de 100mg/kg a donné un pourcentage d'inhibition de l'œdème de **60%** enregistré à la 2^{ème} heure, la dose 50mg à la même heure a donné un pourcentage de **55.61%**. Il est donc probable que l'extrait exerce une action anti-inflammatoire via l'inhibition de la libération de l'histamine et la sérotonine.

Sosa et al., (2005), ont montré que l'extrait éthanolique de *Lavandula multifida* (espèce du même genre) a réduit l'œdème induit par l'huile de croton de 17% à une dose de 100mg.

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de l'Armoise est apparu dès la première heure après injection de la carragénine et atteint un pourcentage d'inhibition maximal de **72.35%** à 100mg/kg au bout de 4 heures, et **64.94%** à 50mg/kg, **khli fi et al., (2013)**, ont trouvé que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* inhibe le monoxyde d'azote (NO) avec un pourcentage de **72%** à une dose de 150 mg. **Yin et al., (2008)**, ont montré que l'Armoise contient trois composés majoritaires (de flavones) : le cirsilineol, l'apigénine et le 6-méthoxytricine, responsables de l'activité immuno-suppressive.

➤ Dans les huiles essentielles

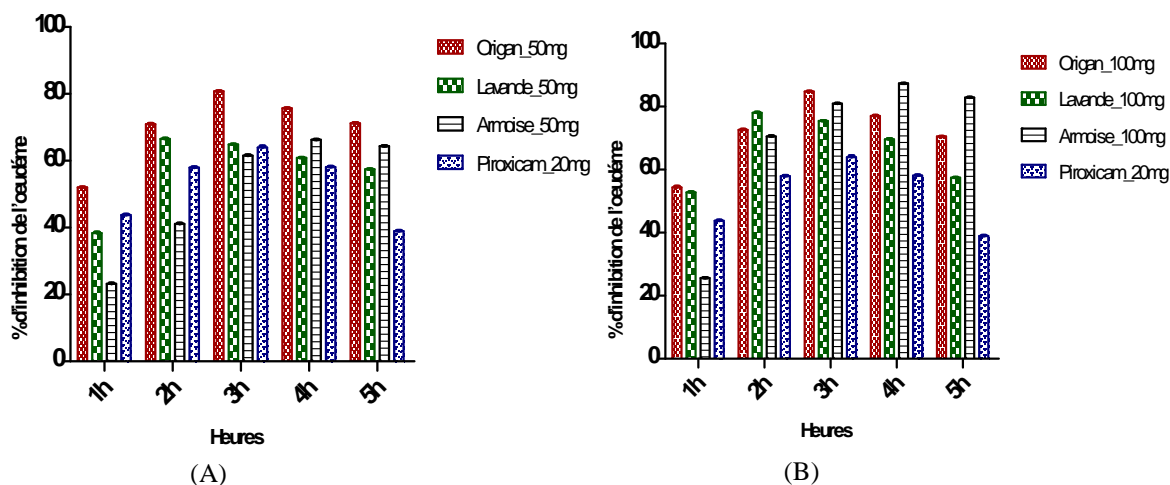


Figure 15: Pourcentages d'inhibition de l'œdème Des huiles essentielles (A : 50mg/kg; B : 100mg/kg)

D'après la figure, on observe que l'huile essentielle d'origan testée à 100mg présente une meilleure inhibition de l'œdème à la 3^{ème} heure avec un pourcentage important de **84.75%**, par rapport à l'extrait testé à 50mg (**80.77%** à la même heure). Cependant, l'extrait s'est révélé moins actif après les trois heures. Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de certains composés dans l'huile essentielle. En effet, le thymol et le carvacrol qui représentent les deux composés majoritaires de l'huile essentielle de l'origan auraient un effet inhibiteur sur les œdèmes et la migration des leucocytes (**Figiel et al., 2010; Fachini-Queiroz et al., 2012; Sarikurkcu et al., 2015**).

Les résultats de la figure (15) révèlent que la lavande présente un meilleur pourcentage d'inhibition à une dose de 100 mg de **66.57%** à la 2^{ème} heure, mais à une dose de 50mg on a trouvé une diminution de l'œdème de **78.08%** : **Hajhashemi et al.,(2003)**, on trouvé que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* à une dose de 200mg présente un pourcentage d'inhibition de l'œdème induit, par la carragénine, de **48%**. **Zuzarte et al., (2013)**, ont montré que l'huile essentielle de la lavande est riche en fenchone (**37.0%**) et en camphor (**27.3%**) qui ont inhibé la production de nitrites.

On peut remarquer en revanche, que l'huile essentielle de l'armoise a un effet anti-inflammatoire maximal à la dose de 100mg pour une activité de **87.35%** à la 4eme heure, ce qui n'est pas le cas pour la dose de 50mg qui a donné une activité de **66.29%** à la même heure. **Mighri et al., (2010) et Sharifian et al., (2012)**, ont montré que l'huile essentielle

d'*Artemisia herba-alba* est marquée par la codominance de quatre composants principaux : le 1.8-cineole, camphre et thujones (,). **Santos et Rao., (2000)**, ont trouvé que le cineole inhibe la formation des prostaglandines et des cytokines par les monocytes stimulés *In-vitro*.

Conclusion et Perspectives

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'effet pharmacologique des extraits de *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* et *Artemisia herba-alba* à été mis en évidence par une évaluation de leurs propriétés anti-inflammatoire.

L'extraction des composés phénoliques et des huiles essentielles à partir des parties aériennes des trois plantes étudiées à savoir *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* et *Artemisia herba-alba* fournissent de bons rendements en substances bioactives avec des pourcentages de **8.32%**, **4.58%** et **7.46%** respectivement pour les extraits éthanoliques et **0.8%**, **1.72%** et **0.63%** pour les huiles essentielles.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, à partir des six extraits obtenus, ont clairement montré que l'origan, possède une teneur élevé en composés phénoliques par rapport à la lavande et à l'armoise (**34 ± 1.4 mg EAG/g d'extrait**).

Les composés bioactifs contenus dans les six extraits ont montré une inhibition efficace de l'inflammation aigue comparable à celle d'un anti-inflammatoire non stéroïdien, l'asperine avec une inhibition importante de la dénaturation de l'albumine sérique humaine à 100µg/ml et une bonne réduction de l'œdème induit par la carragénine 2,3 et 4h après l'injection selon la plante étudiée.

La présente étude nous permet de conclure que les extraits des trois plantes constituent une importante source en composés phénoliques doués d'une grande activité anti-inflammatoire, ce qui justifie leur utilisation en médecine traditionnelle. De ce fait, les résultats de notre travail méritent d'être affinés et pour cela il serait intéressant :

D'identifier les principes actifs responsables de ces activités par des techniques analytiques performantes telles que la HPLC et la GC-MS. Il serait également important de suivre cette étude par des applications *In-vivo* en étudiant la toxicité de ces composés, compléter l'étude anti-inflammatoire par d'autres tests afin de mettre en évidence les possibles mécanismes moléculaires impliqués et d'envisager l'étude d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobienne et anticancéreuse.

Références Bibliographiques

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

- Adarsh Verma, M., Ajay kumar .P., Kavitha .D. et Anurag .KB. (2011).** Anti denaturation and antioxidant activities of annona cherimola *in-vitro*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(2): 1-6.
- Agbonon, A., aklikokou, K., Akpagana, K. et Gbeassor, M. (2001).** Etude des propriétés anti-inflammatoires de la racine de *pluchea ovalis* (pers.) DC. (Asteraceae) chez le rat. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 11, 1-11.
- Al-Kalalkeh, J.Z., Abu-Dahab, R. et Afifi, F.U. (2010).** Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research*, 30: 271–278
- Badamtsetseg, B., Myoung, L.S. et Yuon, L.H. (2012).** Pollen Morphology of the Family Lamiaceae in Mongolia. *Journal of Korean Nature*, 5(2): 169-179.
- Balasubramanian, A., Ramalingam, K., krishnan, S. et christina, AJM. (2005).** Anti-inflammatory Activity of *Morus indica* Linn. *IRANIAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS*, 4(1): 13-15.
- Banerjee, M., Sundepp Kumar, H.K., Sahu, S.K., Das, A. et Parasar, P. (2011).** Synthesis and *in-vitro* protein denaturation screening of novel substituted isoxazole/pyrazole derivatives. *RASAYAN J.Chem*, 4(2): 413-417.
- Baricevic, D. et Bartol T. (2002).** The biological/pharmacological activity of *origanum* genus. In: *Pharmacology*.202 p.
- Barrett, P. (1996).** *Growing and Using Lavender*. A Storey Country Wisdom Bulletin: US. 28p.
- Barton, G.M. (2008).** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(2): 413-420.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A. et Beauchemin, K.A. (2008).** A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4): 209-228.

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

Boizot, N., et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Paris : Lavoisier. 1292 p.

Buapool, D., Mongkol, N., Chantimal, J., Roytrakul, S., Srisook, E. et Srisook, K. (2013). Molecular mechanism of anti-inflammatory activity of *Pluchea indica* leaves in macrophages RAW 264.7 and its action in animal models of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 146: 495–504.

Cavanagh, H. M. A. et Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16: 301-308.

Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P. et Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 178-180.

Charlier, C. et Michaux, C. (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38, 645-659.

Chatter, R., Tarhouni, S. et Kharrat, R. (2013). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranéenne. *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, (1-4) :19-28.

Chu, C. J. et Kemper, K. J. (2001). Lavender (*Lavandula* spp). *The Longwood Herbal Task Force*. P 2-3.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. et Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem.* 97: 654–660.

Duganath, N., Rubesh Kuma, S., R.Kumanan, R. et Jayaveera, N.K. (2010). Evaluation of anti-denaturation property and anti-oxidant activity of traditionally used medicinal plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2): 1-7.

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

- Fachini-Queiroz, F.C., Kummer, R., Estevao-Silva, C. F., de Barros Carvalho, M. D., Cunha, J. M., Grespan, R., Bersani-Amado, C. A. et Cuman, R. K. N. (2012).** Effects of Thymol and Carvacrol, Constituents of *Thymus vulgaris*L. Essential Oil, on the Inflammatory Response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Figiel, A., Szummy, A., Gutiérrez-Ortíz, A. et Carbonell-Barrachina, A. (2010).** Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering*, 98: 240–247.
- Garcia-Herrera, P., Sanchez-Mata, M.C., Camara, M., Fernandez-Ruiz, V., Diez-Marques, C., Molina, M. et Tardio, J. (2014).** Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34: 163-170.
- Goetz, P. et Ghedira, k. (2012).** *phytothérapie anti-infectieuse*. Paris: Springer. 382p.
- Görena, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z. et Pezzuto, J.M. (2002).** The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Naturforsch*, 797-800.
- Govindappa, M., Sravya, S. N., Poojashri M. N., Sadananda T. S. et Chandrappa C. P. (2011).** Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(3), 43-51.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B., (2003).** Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacol.* 89, 67–71.
- Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales*. Paris : Larousse.335 p.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L. et Vernege, M-F. (2008).** Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3): 160-164.
- Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M. et Bouajila, J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia*

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

herba-alba, *Ruta chalpensis*L. And *Peganum harmala*L. *Food and Chemical Toxicology*, 55: 202-208.

Khosravi, A.R., Shokri, H., Kermani, S., Dakhili, M., Madani, M. et Parsa, S. (2011). Antifungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. *Journal de Mycologie Médicale*, 21: 94-98.

Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y. et Soro, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 5(3): 550 - 558.

Leelaprakash, G. et Dass, S.M.(2011).In-vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3(3): 189-196.

Levizou, E., Petropoulou, Y. et Manetas, Y. (2004). Carotenoid composition of peridermal twigs does not fully conform to a shade acclimation hypothesis. *Photosynthetica*, 42(4): 591 - 596.

Licina, B.Z., Stefanovic, O.D., Vasic, S.M., Radojevic, I.D., Deki, M.S. et Comi, L.R. (2013). Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control*, 33: 498-504

Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Reboul, P. et Pelletier, J-P. (2003).Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis*, 62:501–509.

Mighri, H.; Hajlaoui, H.; Akrouf, A.; Najjaa, H.; Neffati, M.(2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13: 380-386.

Mizushima, Y. et Kobayashi, M. (1968). Interaction of anti inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Jof Pharma Pharmacol*, 20:169 1 73.

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

- Mockute, D., Bernotiene, G. et Judzentiene, A. (2001).** The essential oil of *Origanum vulgare* L.ssp. vulgare growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry*, 57: 65-69.
- Mohamed Abou El-Hamd, H., Magdi El-Sayed, A., Mohamed, E., Hegazy Soleiman, E., Helaly Esmail Abeer, M. et Mohamed Naglaa, S. (2010).** Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of natural products*, 4(1): 1-25.
- Mohammedi, Z. et Atik, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature & Technologie*. p. 34-39.
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N. et Ignacimuthu, S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(43): 1-10.
- Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D.E.V., Boelens, P.G., Norren, K.V and Leeuwen,P.A.V. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Society for Clinical Nutrition*, 74: 418-425.
- Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P. et Chericoni, S. (2007).** *In vitro* activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja Montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*, 104: 889–895.
- Quezel, P. et Santa, J. (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Edition : C.N.R.S. Paris. 142-143p.
- Sakat,S. S., Juvekar,A. R. et Gambhire, M.(2010).***In- vitro*antioxidant and anti- inflammato ry activity of methanol extract of oxalis corniculata linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1):146-154.
- Santos, F. A. et Rao, V. S. N. (2000).** Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Effects of 1,8-Cineole a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils. *Phytotherapy Research*, 14: 240–244.
- Sarikurkcü, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R. et Aktumsek, A. (2015).** Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum*

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

vulgare subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70: 178–184.

Seeman, P. et Weinstein, J. (1966). Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines. *Biochemical Pharmacology*, 15, 1737–1752.

Serhan, C.N. Ward, P.A. et Gilroy, D.W. (2010). *FUNDAMENTALS OF INFLAMMATION*. New York: Cambridge University Press. 457p.

Sharifian, I., Hashemi, S.M., AGHAEI, M. et Alizadeh, M. (2012). Insecticidal activity of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso against three stored product beetles. *BIHAREAN BIOLOGIST*, 6 (2): 90-93.

Soni, R. K., Irchhaiya, R., Dixit, V., Bhat, Z. A., Wani, H. A. et Najar, A. H. (2014). Anti-inflammatory activity of *kirganelia reticulata* (poir). baill. root by carrageenan-induced rat paw oedema model. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1):520-523.

Sosa, S., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I. et Della Loggia, R. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12: 271–277.

Upson, T.M, Grayer, R.J., Greenham, J.R., Williams, C.A., Al-Ghamdi F. et Chen, F.H. (2000). Leaf flavonoids assystematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochem Syst Ecol*, 28: 991–1007.

Winter, C. A., Risley, E. A. et Nuss, G.W. (1962). Carrageenan induced oedema in hind paw as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111, 544-547.

Yam, M. F., Ang, L. F., Ameer, O.Z., Salman, M.I., Aziz, H.A. et Asmawi, M. Z. (2009). Anti-inflammatory and Analgesic Effects of *Elephantopus tomentosus* Ethanolic Extract. *J Acupunct Meridian Stud*, 2(4): 280-287.

Yin, Y., Gong, F-Y., Wu, X-X., Sun, Y., Li, Y-H., Chen, T. et Xu, Q. (2008). Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *Journal of Ethnopharmacology*, 120:1–6.

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

Zhang, X.L., Guo, Y.S., Wang, C.H., Li, G.Q., Xu, J.J., Chung, H.Y., Ye, W.C., Yao, L.Y. et Cai, W.G. (2014). Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*, 152: 300-306 p.

Zouari, S. N., Fakhfakh, N., Bougatef, A., Ayadi, M. A. et Neffati, M. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10): 871-880.

Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A. et Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44: 97–103.

Résumé

Le nombre de composés phytochimiques, trouvés dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Cette étude a pour objectif l'évaluation *In-vitro* et *In-vivo* de l'activité anti-inflammatoire de six extraits des parties aériennes des trois plantes médicinales, *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* et *Artemisia herba-alba*. Le dosage des polyphénols totaux, la dénaturation de l'albumine et le test de l'œdème induit par la carragénine ont été choisis pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire.

Les résultats ont montré que les extraits des trois plantes ont été riches en polyphénols totaux, avec prédominance des extraits éthanoliques comparés aux huiles essentielles (de 22.66 ± 0.38 à 34 ± 1.4 mg EAG/g extrait). Une bonne inhibition de la dénaturation de l'albumine à $100 \mu\text{g/ml}$ et une bonne réduction de l'œdème induit par la carragénine 2,3 et 4h après l'injection selon l'espèce ont été notées, ainsi, les extraits d'*Origanum vulgare* se sont avérés être les plus actifs parmi les trois plantes testées (62.37 \pm 0.07% d'inhibition de la dénaturation de l'albumine pour l'extrait éthanolique et 84.74% d'inhibition de l'œdème à la 3^{ème} heure par l'huile essentielle).

Mots clés : anti-inflammatoire, albumine, œdème, carragénine, *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare*, *Artemisia herba-alba*.

Abstract

The large numbers of phytochemical compounds, found in the vegetable kingdom are very vast and possess a vast spectrum of activities. Some of these compounds have anti-inflammatory properties. Many are supposed to act by blocking the ways of cyclooxygenase and lipoxygenase and by other mechanisms. The aim of this study was to evaluate *In-vitro* and *In-vivo* anti-inflammatory of six extracts prepared from aerial parts of three medicinal plants, *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* and *Artemisia herba-alba*. Albumin denaturation and carrageenan induce mice paw edema were chosen for the evaluation of this activity.

The results showed that the extracts of the three plants were high in total polyphenols, with predominance of ethanolic extracts compared with essential oils (from 22.66 ± 0.38 to 34 ± 1.4 mg GAE / g extract). Good inhibition of albumin denaturation in $100 \mu\text{g/ml}$ and a good reduction of edema induced by carrageenan 2, 3 and 4 hours post injection by species were noted, as well, *Origanum vulgare* extracts have proved most active of the three tested plants beings (62.37 \pm 0.07% inhibition of albumin denaturation for ethanolic extract and 84.74% inhibition of edema at the 3rd hour by the essential oil).

Keywords: Anti-inflammatory, albumin, edema, carrageenan, *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare*, *Artemisia herba-alba*.