

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Pharmacologie toxicologie



Réf :

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

Thème

Evaluation *in vivo* de L'effet toxique, antalgique et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Fumaria agraria*

Présenté par :

AIT MEHDI Houda & AMRANE Thimouzgha

Soutenu le : 11 septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mr BELKACEM N.	MCB	Président
Mme SADAOUI-BOUGOFFA K.	MCA	Encadrante
Mme TRIBECHE N.		Co-encadrante
Mme ABDERRAHIM-KHEMTACHE S.	MCB	Examinatrice
Mr ZAIDI S.	Doctorant	Invité

Année universitaire : 2021/2022.

Remerciements

Tout d'abord, Nous rendons grâce à Dieu, le tout puissant et le très miséricordieux de nous avoir donné la patience, la force et le courage de mener à terme ce travail.

*Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promoteur **Mme BOUGOFFA-Sadaoui K.** pour son encadrement de qualité, pour l'assistance qu'elle nous a témoigné, pour sa disponibilité, pour ces orientations, pour sa compréhension, pour les efforts qu'elle avait consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, pour sa gentillesse et ces précieux conseils tout le long de notre mémoire sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour, qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude.*

*Nous hommages les plus respectueux s'adressent à **Mr BELKACEM N.** qui nous a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury. Nous adressons également tous nos remerciements à **Mme ABDERRAHIM-KHEMTACHE S.** d'avoir accepté d'être examinatrice de notre mémoire.*

*Un grand merci à **Mr Zaidi S.** pour ses orientations judicieuses, ses qualités d'ordre et d'efficacité, pour sa disponibilité et pour tout le temps qu'il a consacré pour notre mémoire. Votre aide est très précieuse pour nous.*

*Nos sincères remerciements vont droit à l'ensemble de l'établissement du **CRD de SAIDAL** spécialement à **Mme AZZINE.K** et **Mme TRIBECHE.N** qui ont supervisé ce travail et qui ont toujours été présentes pour nous, nous remercions aussi l'équipe de l'animalerie qui nous ont facilité la tâche ; **Mme BELKADIA,** ainsi que **Mme***

TATA. Et Mr Rafik. et tous qui ont su nous dirigé dès le début du stage et nous aider dans le besoin.

Nos sincères remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenue de près ou de loin principalement à tous l'effectif du laboratoire de biologie physico-chimique de l'université « Targa ouzamour » qui ont contribué au succès de notre stage. Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs.

Un grand merci à nos familles et amis, pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous ont permis de chercher au plus profond fond de nous-même la force, la volonté et la persévérance à même d'arriver à cet instant des plus importants de notre vie.

Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail
que je dédie :*

A ma mère et à mon père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect
que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de vos sacrifices
que vous avez consenti pour mon éducation et ma formation. Un
grand merci à vous.*

Que Dieu vous préserve toujours dans ce bas monde en bonne santé.

A mes très chères Sœurs :Kaoutha, Yousra et Sabrina.

A mes très chères Frères : Ali et ILYes.

A mes grandes mères et mes grands pères

*A Toute ma famille sans exception, Oncle, Tantes, Cousins et
Cousines.*

Surtout ma Tante Chafiaa et mon oncle Pr.Kamel.

*A celui qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout
au long de mes études, Y.*

A ma chère binôme et amie Mouzgha et son mari Anis et, Nader.

*A mes amis chacune à son nom qui m'ont appuyé chacun de leur
manière*

Houa ; Cylia ; Nanouche ; Hanane

A ma meilleure Nadja « Best Bestie Ever ».

A tous personnes qui m'a aidé de proche ou de loin.

*Puisse dieu, vous préserve et vous accorder santé, longue vie et
bonheur.*

Houda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect de gratitude et de reconnaissance à :

Mes parent, ma mère qui a toujours été ma source de douceur de joie et de bonheur, mon père qui m'a appris ses valeurs et ses principes, je ne serais pas ce que je suis ni ou je suis aujourd'hui sans vos encouragement, vos conseils, votre amour, votre compréhension et patience, vous m'avez doté d'une éducation digne dont j'en suis très fière.

A mon bras droit, mon pilier, à celui qui m'a épaulé et encouragé durant mon parcours à l'université, à toi mon mari « ANIS » je te dédie ce travail qui n'aurais pu être achevé sans ton éternel soutien, amour et optimisme, MERCI !

A ma sœur, « THILLELI » qui a toujours su me rendre le sourire m'encourager et être là quand j'en ai besoin malgré la distance qui nous sépare, sache que tu me manques énormément...

A mon très chère petit frère « AGUELLID » qui me soutien toujours et qui a toujours été là pour moi.

A mon bonheur, mon soleil, ma lumière et mon tout, à mon fils « NADER » rien ne saurait égaler le bonheur et la joie de prononcer ton prénom, je te dédie ce travail, chaque pas que j'ai fait, chaque sacrifice et chaque effort sont pour toi, j'espère qu'un jour tu seras fière d'avoir une maman comme moi comme moi je suis fière de t'avoir comme fils, je t'aime.

A mes beaux-parents merci pour tout.

A ma binôme « HOUDA » merci pour ta sympathie et ta gentillesse.

A ma très chère cousine « LYNDA » que j'adore merci pour tout.

A mes très chères amies : Thinhinan, Amina, Sabrina.

Mouzgha

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

Ac : Acide

AA : Acide Acétique.

AG : Acide gallique

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

AIS : anti-inflammatoire stéroïdien

CGN : carraghénane

COX : cyclo oxygénase

COX-1: Cyclo-oxygénase 1.

COX-2: Cyclo-oxygénase 2.

DL50 : dose létale à 50%

EAG : équivalent d'acide gras

EEPT : extrait éthanolique des poly phénols totaux

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H₃PMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

IFN- α : Interféron- α

IFN- γ : Interféron gamma.

IL-1: Interleukine-1

IL-6: Interleukine-6

IL-8: Interleukine-8

IL-10 : Interleukine-10

IgG : Immunoglobuline de type G.

Ip : intra-péritonéale

Mo₈O₂₃: molybdène **MS**: matière sèche.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

NMRI : Naval Medical Research Institute

OCDE: Organisation de Coopération et de Développement Economique.

PAF : facteur activateur des plaquettes

PGE₂ : prostaglandine H₂

PLA₂ : phospholipase A₂

PS : poudre sèche

PT : polyphénols totaux

SNC : système nerveux central

SNP : système nerveu peripherique

SM: Solution Mère

TNF- α : Timor Necrosis Factor Alpha.

W₈O₂₃: oxydes de tungstène

XII : facteur de hagman

5-HT : hydroxytryptamine

Liste des figures

Figure 01: Différentes cellules intervenants dans la réponse inflammatoire.	10
Figure 02 : Homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aiguë (A) et l'inflammation chronique (B).....	12
Figure 03 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	14
Figure 04 : Mécanisme d'action des AINS	15
Figure 05 : Photographie de la plante <i>Fumaria agraria</i>	17
Figure 06 : Souris de type BALB/c.....	18
Figure 07 : Schéma montrant les étapes de la macération	20
Figure 08 : Schéma résumant les étapes suivies lors de l'extraction par Soxhlet.....	21
Figure 09: Photographie du gavage des souris.....	24
Figure 10 : Photographie montrant l'injection de la carraghénane à 1% dans la patte postérieure des souris	25
Figure 11 : Photographie montrant le sacrifice des souris par rupture de la nuque après une légère sédation.....	25
Figure 12 : Photographie de l'injection de l'acide acétique à 1 %.....	27
Figure 13 : Photographie montrant les souris en pleine torsion abdominale après injection de l'acide acétique à 1 %.....	28
Figure 14 : Rendement d'extraction éthanolique par Soxhlet & Macération	31
Figure 15 : Teneur en polyphénols totaux (exprimée en mg EAG/100g PS)	32
Figure 16 : Photographie de l'aponévrose postérieure gauche (œdémateuse) des souris dans le modèle d'inflammation induite par la carragénine à 1%	36
Figure 17 : Histogramme comparative du pourcentage de réduction de l'œdème induit par la carraghénane, en fonction du sexe en présence de l'extrait EEPT.....	38
Figure 18 : Comparaison des pourcentages d'inhibitions d'œdème de l'extrait EEPT et du Diclofenac à 50mg/kg	39
Figure 19 : Photographie représente les contorsions abdominales résultantes de l'injection de l'acide acétique à 1% aux souris.....	41
Figure 20 : Histogramme représentant le pourcentage de protection des douleurs à différentes doses de l'extrait EEPT chez le sexe mâle	43
Figure 21 : Histogramme représentant la différence de pourcentage entre le paracétamol et l'extrait EEPT à la dose de 100mg/kg chez le sexe mâle	43

Figure 22 : Histogramme représentant le pourcentage de protection des douleurs à différentes doses de l'extrait EEPT chez le sexe femelle	45
Figure 23 : Histogramme représentant la différence de pourcentage entre le paracétamol et l'extrait EEPT à la dose de 100 mg/kg chez le sexe femelle	45
Figure 24 : Histogramme représentant le pourcentage de protection de l'extrait EEPT chez le sexe mâle et femelle	46

Liste des tableaux

Tableau I : Description botanique de la fumeterre.....	4
Tableau II : Quelques composés secondaires.....	6
Tableau III : Structure des squelettes des polyphénols.	8
Tableau IV : Quelques maladies liées à l'inflammation.	13
Tableau V : Taux de létalité chez des souris <i>albinos</i> de souche BALB/C traitées par les doses de l'EEPT de <i>Fumaria agraria</i>	34
Tableau VI : Résultats des comportements et signes de toxicité des souris exposés aux 3 doses d'EEPT	34
Tableau VII : Évolution de l'œdème induit par la carraghénane, chez le sexe femelle, en présence de l'extrait EEPT, du standard « Diclofenac » et en absence d'effecteur thérapeutique (contrôle).	36
Tableau VIII : Évolution de l'œdème induit par la carraghénane, chez le sexe mâle, en présence de l'extrait EEPT, du standard « Diclofenac » et en absence d'effecteur thérapeutique (contrôle).	37
Tableau IX : Pourcentage d'inhibition d'œdème par l'extrait EEPT et le Diclofenac chez les males.	39
Tableau X : moyenne des crampes et le pourcentage de réduction de la douleur chez le sexe male en présence d'EEPT à différente dose du contrôle et en présence du produit thérapeutique.	42
Tableau XI : moyenne des crampes et le pourcentage de réduction de la douleur chez le sexe femelle en présence de l'EEPT à différentes doses et du standard.	44

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

Synthèse bibliographique

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : Fumeterre et polyphénols

I. Généralités sur la plante	3
I.1. Présentation de la plante	3
I.1.1. Distribution et habitat	3
I.1.2. Description et classification botanique	3
I.2. Classification botanique	4
I.3. Utilisation thérapeutique	5
I.4. Composition chimique	5
I.4.1. Les composés phénoliques	6
I.4.2. Les propriétés des polyphénols	7
I.4.3. Classification des composés phénoliques	7
I.5. Formes galéniques des plantes médicinales	8

Chapitre II : L'inflammation et la Douleur

II. Activités biologiques des polyphénols	9
II.1. Activité anti-inflammatoire	9
II.1.1. L'inflammation	9
II.1.2. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire	9
II.1.3. Médiateurs chimiques de l'inflammation	10
II.1.4. Les types de l'inflammation	10
II.1.5. Pathologies de l'inflammation	13
II.1.6. Les anti- inflammatoires	13
II.2. Activité antalgique	15
II.2.1. Douleur	15
II.2.2. Traitement de la douleur : Les analgésiques :	16
II.2.3. Activité analgésique des poly phénols :	16

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes	17
I.1. Matériel	17
I.1.1. Matériel végétal	17
I.1.2. Matériel biologique	18
I.1.3. Matériel et réactifs chimiques	18
I.2. Méthodes	18
I.2.1. Préparation de la poudre végétale	18
I.2.1.1. Séchage et broyage	18
I.2.1.2. Préparation de l'extrait végétal	19
I.2.2. Rendement en polyphénol totaux	21
I.2.3. Evaluation des activités biologiques	22
I.2.3.1. Évaluation de la toxicité aigüe	23
I.2.3.2. L'activité anti-inflammatoire	23
I.2.3.3. L'activité antalgique	26
I.2.4. Analyse statistique	28

Chapitre II : Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussion	29
II.1. Collecte, séchage et extraction	29
II.2. Extraction et dosage des composés phénoliques	30
II.2.1. Extraction	30
II.2.2. Dosage des polyphénols	31
II.3. Evaluation de la toxicité aiguë	33
II.3.1. Suivi de la mortalité	33
II.3.2. Suivi du changement de comportement	34
II.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	35
II.5. L'activité analgésique	41
II.5.1. Résultats du sexe mâle	42
II.5.2. Résultats du sexe femelle	44
Conclusion et perspectives	48
Références bibliographiques	
Annexes	
Glossaire	
Résumé	

Synthèse

bibliographique

Introduction

Les plantes médicinales sont une alternative intéressante de la médecine moderne, contenant une immense variété de molécules bioactives très intéressantes présentant de multiples vertus thérapeutiques (**Bouزيد, 2008 ; Ogun-dare et al., 2014**). Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules candidates nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Bidie et al., 2011 ; Maurice, 1997**).

Les vertus des plantes doivent leurs activités biologiques aux métabolites secondaires. Au fil des décennies de recherches, nous avons assisté à un grand regain des phytothérapeutes pour les produits riches en poly-phénols notamment (**Fourasté, 2000**). Ils sont des agents anti-inflammatoires, anti-cancéreux, antioxydants, neuro-protecteurs et autres (**HADDOUCHI et al., 2014 ; Bahorun, 1997**).

L'inflammation fait partie de la réponse immunitaire habituellement bénéfique dans la mesure où elle permet de maintenir l'intégrité de l'organisme (**OkombeEmbeya et Nzuzi Mavungu, 2019**). Parfois, l'inflammation est néfaste en étant dans un état de déséquilibre (**Weill et al., 2003 ; Medzhitov, 2010**).

A l'heure actuelle, une grande majorité des consultations médicales nécessitent la prise en charge d'un phénomène inflammatoire (**Schwartz, 2011**). Cependant, lorsqu'une inflammation n'est pas contrôlée, elle peut causer une destruction des tissus ainsi qu'une série de réactions parmi lesquelles la sensation douloureuse. Deux stades de l'inflammation existent : l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique (**Weill et al., 2003**). Le traitement le plus employé est les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les glucocorticoïdes (AIS) (**Rahmani et al., 2016**).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable: Méditerranéenne, Saharienne et Paléotropicale (**Hallimi, 2004**), estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Ozenda, 1991**). Beaucoup de recherches se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle. C'est dans ce but que s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire et analgésique ainsi que le palier toxicologique de *Fumaria agraria*, une espèce qui appartient à la famille des Fumariaceae. Cette dernière est répondeuse pour ses multiples activités biologiques : antioxydantes, antimicrobiennes, diurétiques, anti-inflammatoires, anticancéreuses, pour sa richesse en métabolites secondaires (**Suau et al., 2002 ; Schnebelen et al., 2008 ; Bougoffa-Sadaoui et al., 2015 ; Bougoffa-Sadaoui et al., 2021**).

Une première partie de cette étude s'est déroulée au sein du laboratoire de Biologie Physico-Chimique « **BPC** » de la **FSNV** –Université de Bejaia. L'autre partie s'est tenue au Laboratoire Pharmaco-Toxicologique du Centre de Recherche et Développement « **CRD** » de l'unité pharmaceutique **SAIDAL**-Alger.

Le travail pratique a été divisé en deux parties : **i)** premièrement, il a été procédé à la collecte de l'échantillon végétal et à la préparation des extraits de plantes et leurs dosages. **ii)** Deuxièmement, on a visé à évaluer l'effet anti-inflammatoire et antalgique *in vivo* ainsi que la toxicité de la plante.

Pour cela notre document a été organisé en deux parties : commençant par une introduction suivie par

i) une partie théorique qui englobe deux chapitres, le premier chapitre s'est porté sur l'étude bibliographique des fumariacées. Tandis que le deuxième chapitre s'est consacré à l'inflammation, la douleur et les antalgiques et enfin la toxicité.

ii) La deuxième partie qui est une étude expérimentale comprend le chapitre des matériel et méthodes ainsi que le chapitre des résultats et discussion.

Notre travail se clôture par une conclusion sous forme d'un récapitulatif des différents résultats obtenus où on a répondu à notre problématique : **l'extrait brut des composés phénolique de *Fumaria agraria* a- il un effet sur les phénomènes inflammatoires?**

Qu'elle est le degré de toxicité de la plante?

Chapitre I

Fumeterre et polyphénols

I. Généralités sur la plante

Le nom « *Fumaria* » ou « fumeterre » a diverse explications et a été beaucoup discuté : il viendrait du mot latin « *fumus terrae* », car certains pensaient que fumeterre naissait « des vapeurs de la terre » tant son feuillage grisâtre semblait vaporeux (**rakotondramasy –rabesiaka et al., 2007**) et donnent l'impression d'une sorte de fumée sortant de terre. Ce nom a été attribué au début du XIIIème siècle (**Coste, 1937 ; Stahl, 1975 ; Debelmas et al., 1978**). Cependant, d'après «Olivier de Serre», ce nom serait dû au fait que le suc de la plante fait pleurer les yeux comme la fumée à cause de ses propriétés lacrymogènes (**Cost, 1937 ; Dellile,2007**).

I.1. Présentation de la plante

I.1.1. Distribution et habitat

La fumeterre est une plante dicotylédone de la famille des Fumariacées, qui fleurit depuis le mois d'avril jusqu'au milieu de l'été (**Stahl et al., 1975 ; Debelmas et al., 1978**). Plante commune dans toutes les régions tempérées d'Europe (**Bernard, 1997**), d'Afrique du Nord et d'Asie occidentale (**Sturm et al., 2006**). En Algérie, elle est commune dans tout le pays; elle pousse surtout dans les forêts et les broussailles (**Suau et al., 2002 ; Ait youcef, 2006**). On la trouve dans les terrains vagues, sur les bords des chemins et des terres incultes, le long des vieux murs, jusqu'à 1500 m d'altitude (**Deysson, 1979**). Plusieurs espèces du genre *Fumaria* sont spécifiques à la région Ibero-Mauritanienne qui inclut l'Algérie, le Maroc et l'Espagne (**Liden,1986 ; Blanco et al, 1993**).

I.1.2. Description et classification botanique

La fumeterre est une plante herbacée annuelle, dressée ou diffuse, à tige rameuse rarement grimpante (**Goetz et al., 2009**). De gout amer à l'état frais, salé à l'état sec (**Jauzein, 1995**). Les multiples espèces de ce genre forment leurs feuilles qui sont de couleur gris-vert alternées en rosette profondément divisées en général, leurs fleurs qui sont de petite rose blanche zygomorphe ainsi que leurs fruits qui se présentent habituellement avec une capsule déhiscence en printemps. Elles disparaissent ensuite, ne laissant aucune trace à la surface du sol en été. Seules les parties souterraines subsistent d'une année à l'autre (**Perrot et Paris, 1974 ; Gaussen et al., 1982 ; Liden et al., 1997**).

Fumaria agraria est une espèce qui appartient à la famille des fumariacées qui regroupe

16 genres et 450 espèces, les différentes parties de la plante sont décrites dans le tableau suivant :

Tableau I : Description botanique de la fumeterre (**Bougoffa-Sadaoui, 2016**).

Parties de la plante	Description	Photo
Tige	Couleur verte grisâtre de 20 à 30cm, souvent couché au feuillage cassante et quelque fois rougeâtre (Venkateswara Rao et al .,2007).	
Feuille	Couleur gris-vert, elles sont alternes, pétiolées à folioles écartées et découpées en lobes étroits (Bruneton, 1999).	
Fleur	Couleur blanche allant au rose violacé, tache brune ou pourpre foncé à leurs extrémités et d'une grappe à l'extrémité des tiges. tubulaire zygomorphe (Goetz et al ., 2009).	
Fruit	Sec globuleux et volumineux caractérisé par une couleur distincte renfermant une seule graine (Larousse, 2002 ; Raynaud, 2005).	

I.2. Classification botanique

D'après plusieurs études, il existe plus d'une classification pour l'espèce *Fumaria agraria*, dans notre cas on détaillera la classification usuelle d'après **Goetz et ces collaborateurs en 2009**, qui est comme suit :

Règne : *Plantae*

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : Magnoliidae

Ordre : Papavérales

Famille : *Fumariaceae*

Genre : *Fumaria*

Espèce : *Fumaria agraria L.*

I.3. Utilisation thérapeutique

Les propriétés thérapeutiques de ce genre de plantes sont connues depuis l'antiquité, on la voit apparaître dans les écrits de **Gioscoride et Galien (I^{er} et II^{ème} siècle)** ses effets sur la sécrétion biliaire, les fonctions hépatiques et le tube digestif ont été notés (**Coste, 1937**).

Plusieurs autres études ont démontré que la plante du genre *Fumaria* a de multiples effets pharmacologiques parmi eux anti thrombotique (**Saeed et al., 1997**), anti arythmique (**Song et al., 2000**), elle peut aussi soulager les migraines provenant d'un dysfonctionnement digestif et hépatique (**Valnet, 2001**).

D'autres effets thérapeutiques ont été évalués à savoir : l'effet anticancéreux (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015 ; Bougoffa-Sadaoui et al., 2021**), antioxydant (**MaizaBenabdesselam et al., 2007b ; Khamtach Abderrahim et al., 2017**), antimicrobiens et anti-malarial (**Iwasa et al., 1999 ; Iwasa et al., 2001 ; Maiza-Benabdesselam et al., 2007**).

I.4. Composition chimique

Les fumeterres sont caractérisées par leur richesse en métabolites secondaires notamment les alcaloïdes isoquinoléiques et les acides phénols, ce qui leur confère leurs propriétés pharmacologiques, quelques-uns de ces métabolites sont résumés dans ce tableau :

Tableau II : Quelques composés secondaires (Sousek et al., 1999 ; Goetz et al., 2009).

Famille de constituants chimique	Constituants chimique
Alcaloïdes	Protopines, protoberberines, spirobenzylisoquinoleins, benzophenandrines, indobenzazepines
Acides phenols	Acide caféique, Acide chlorogénique, Acide fumarique, esters maliques de l'acide cinnamique et de l'acide caféique.
Acides organiques	Acide malique, Acide succinique et Acideprotocatéchine...etc
Flavonoïdes	Rutine, isoquercitine
Autres	Principes amers, mucilage, résine, sels de potassium

I.4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont les principaux métabolites secondaires bioactifs des plantes (Heimeur et al., 2004). Ces substances sont des monomères, des polymères ou des complexes avec des poids moléculaires allant jusqu'à 9000 Dalton (Harbone, 1993). On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (Glombitza, 1985 ; Harborne, 1980 ; Porter, 1989; Boros, 2010).

Des études antérieures ont montré que les composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation des organes, dormance des pousses, floraison et nodulation (Nitsch et Nitsch, 1961; Alibert et al., 1977), cela est dû à leur énorme diversité structurale, ce qui rend leur description exhaustive méthodologique difficile (Bruneton, 1993).

Les polyphénols sont également connus pour leurs effets protecteurs contre les rayons UV, attirant les insectes et les oiseaux pollinisateurs. Ils sont répartis dans tout le règne végétal (Zillich et al., 2015).

L'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les régions proximales a également été observée en présence de dommages mécaniques (Brzowska et al., 1973) et en carence en certains éléments minéraux tels que l'azote et le soufre (Loche, 1966).

I.4.2. Les propriétés des polyphénols

Les études récentes sur les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, telles que l'activité anti-allergique, anti-athérosclérotique, anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, antibactérienne, antivirale, anticancéreuse, antithrombotique et vasodilatatrice (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**). Ces effets sont attribués à son pouvoir anti-oxydant élevé (**Behidj-Benyounes et al., 2013**) qui, en raison de leurs propriétés redox, jouent un rôle important dans les dommages oxydatifs en neutralisant les radicaux libres, en piégeant l'oxygène ou en décomposant les peroxydes (**Nijveldt et al., 2001**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Leong et Shui, 2002**).

Les industriels commercialisent désormais des aliments ou des compléments alimentaires riches en polyphénols sur la base de multiples études prouvant les effets positifs de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies (**Koprivnjak et Peschel, 2011**).

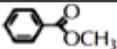
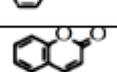
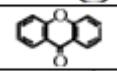
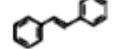
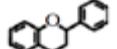
De plus, leur activité anti- oxydante assure une meilleure conservation des aliments en empêchant la peroxydation des lipides (**Edeas, 2007**). Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques ont des applications pratiques dans la lutte contre la production de radicaux libres nocifs, contribuant à la santé et à la beauté de la peau. En phytothérapie, chaque classe chimique semble avoir des bénéfices spécifiques, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (**Hennebelle et al., 2004**).

I.4.3. Classification des composés phénoliques

Dans la classification moderne, la grande catégorie des composés phénoliques est divisée en plusieurs groupes, selon le nombre de sous unités de phénol présentes (**Martins et al., 2015**). Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone (**Tableau II**) (**Crosier et al., 2006**).

Parmi eux : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Tapiero et al., 2002).

Tableau III : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006).

Nombre d'atomes de carbones	Squelette	Classification	Structure de base	Exemple
7	C6-C1	Acides phénols		Acide gallique
8	C6-C2	Acétophénones		Gallacetophénone
8	C6-C2	Acide phénylacétiques		Acide p-Hydroxyphénylacétique
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques		Acide p- coumarique
9	C6-C3	Coumarines		Esculitines
10	C6-C4	Naphthoquinones		Juglone
13	C6-C1-C6	Xanthones		Mangiferine
14	C6-C2-C6	Stilbènes		Resveratrol
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes		Naringénine

I.5. Formes galéniques des plantes médicinales

La pharmacie galénique est la science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments (Allo et al., 2005 ; Brossard et al., 2016).

Avant d'être mis sur le marché, chaque médicament doit être étudié pour la composition, la forme et la présentation les mieux adaptées à son administration, assurant ainsi un dosage précis et une stabilité satisfaisante sur une période de temps définie pour rendre l'administration aussi simple que possible (Marie-Josèphe, 2011 ; Fougère et Wynn, 2007). Le médicament est constitué du principe actif, de l'excipient et de l'ensemble conditionné dans un récipient (Marc et Gerard, 2001 ; Le Hire H, 2001).

Les produits de phytothérapie sont fabriqués à partir de plantes fraîches, séchées ou stabilisées par l'alcool pour assurer la préservation et la conservation des ingrédients dans leurs structures (Charpentier et al., 2008). Dans les différentes formes disponibles, le principe actif peut présenter différents aspects (poudre, extrait ou teinture, Tisanes, huiles essentielles, ... etc) (Catier et Roux, 2007 ; Bézanger et al., 1986), constituant des formes dites galéniques pour faciliter l'administration de tous les médicaments (Fougère et Wynn, 2007 ; Lacoste, 2003).

Chapitre II

L'inflammation et la Douleur

II. Activités biologiques des polyphénols

II.1. Activité anti-inflammatoire

II.1.1. L'inflammation

L'inflammation est la réponse défensive de l'organisme à un agent pathogène, irritant ou à une attaque d'origine infectieuse, traumatique, immunitaire ou chimique (**Schwager et Detmar, 2019 ; Aggarwal et al., 2009**).

Les réponses inflammatoires sont déclenchées par la reconnaissance de l'infection par des mécanismes immunitaires innés et adaptatifs (**Hellal, 2007**) déclenchant les symptômes cliniques suivants : chaleur, rougeur, gonflement et douleur. De plus, la fonction des organes affectés peut changer. Au niveau tissulaire, la réponse inflammatoire est caractérisée par une perméabilité vasculaire accrue, une dénaturation accrue des protéines et des membranes cellulaires altérées (**Scott et al., 2004 ; VStankov, 2012**).

Les réponses inflammatoires font partie des maladies du tissu conjonctif. Elles mettent en jeu des composantes humorales et cellulaires, réparties en 3 stades plus ou moins individualisés. Deux types d'inflammations se distinguent (**Abdulkhaleq et al., 2018**), l'inflammation de courte durée dite « **Inflammation aiguë** » qui est un phénomène bénéfique pour l'organisme, permettant à celui-ci de restaurer son intégrité physiologique. Les effets négatifs de l'inflammation surviennent lorsque l'inflammation persiste et devient chronique (**Weill et al., 2003**).

II.1.2 Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les cellules impliquées dans les mécanismes inflammatoires sont à la fois des cellules circulantes qui migrent vers le tissu interstitiel et des cellules résidentes (**Fig 01**) (**Amoros et 1987**).

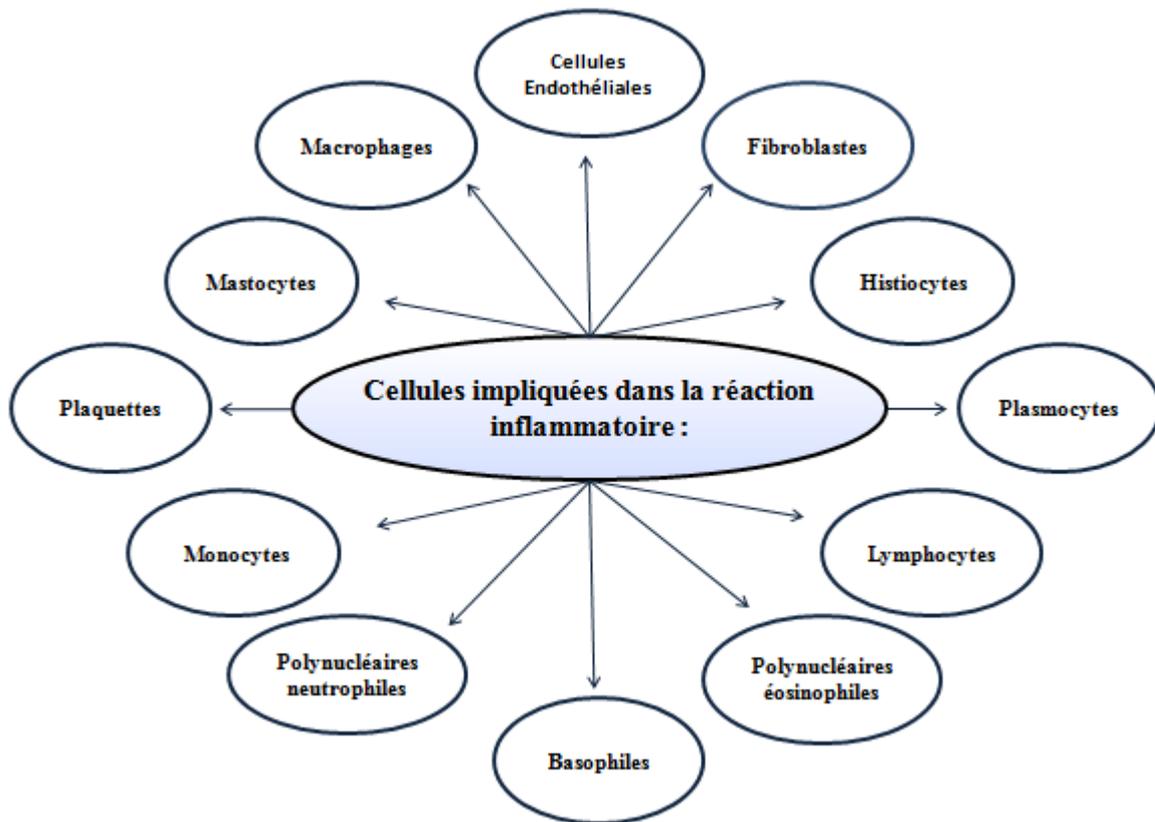


Figure 1 : Différentes cellules intervenant dans la réponse inflammatoire (**Amoros et al., 1987**).

I.1.3. Médiateurs chimiques de l'inflammation

La réponse inflammatoire se traduit par la libération de divers médiateurs inflammatoires, tels que les prostaglandines, les leucotriènes, les prostacyclines, les lymphokines et les chimiokines comme l'interféron- α (IFN- α), gamma(γ), IL-1, IL-8, histamine, 5-hydroxytryptamine (5-HT), facteur de nécrose tissulaire- α (TNF- α), facteur activateur des plaquettes (PAF), thrombine, plasmine et facteur de hageman (XII) (**Rankin, 2004; Male et al., 2007 ; Beg et al., 2011**).

Ces médiateurs, existant en tant que précurseurs inactifs dans la circulation sanguine, influencent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur diverses cellules impliquées dans la réponse inflammatoire (**Rankin, 2004**).

II.1.4. Les types de l'inflammation

✓ L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse physiologique qui se produit immédiatement après une blessure et est étroitement contrôlée jusqu'à ce que le déclencheur et ses dommages

disparaissent. Elle peut être diagnostiquée par le mouvement rapide du plasma et des globules blancs du sang vers le site de la blessure (**Parimisetty, 2015**). L'inflammation aiguë passe par plusieurs phases citées ci-dessous :

- **La phase vasculaire**

La réponse inflammatoire est déclenchée par des lésions tissulaires ou une invasion microbienne et commence dans la phase vasculaire, caractérisée par une perméabilité vasculaire accrue, une vasodilatation et le recrutement de cellules immunitaires circulant dans le sang vers les tissus (**la diapédèse**). Cliniquement, l'inflammation aiguë se traduit par 4 signes majeurs : rougeur, chaleur, douleur et gonflement (œdème) (**Kada, 2018 ; Febvre-James, 2019 ; Joffre et al., 2020**).

- **La phase cellulaire**

Les polynucléaires neutrophiles (**PNN**) et les monocytes/macrophages peuvent rapidement migrer vers les sites d'infection ou d'inflammation de manière dirigée. Cette migration est médiée par un gradient de concentration de molécules chimio-attractantes émises ou induites par le pathogène. Les premières cellules à migrer vers le site d'infection sont les **PNN**, et les monocytes atteignent les tissus par un mécanisme très similaire quelques heures après les **PNN**. Une fois la menace éliminée, la restauration de l'homéostasie se produit lors d'une phase de résolution déclenchée par des médiateurs pro-inflammatoires. A ce stade, les macrophages jouent un rôle important dans l'élimination des cellules mortes et des débris cellulaires (**Carcelain et al., 2018**).

- **La phase de réparation :**

Une fois que leurs effets bactéricides ont progressé, les **PNN** entrent dans un état apoptotique, ou la phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages est ainsi appelée « **exocytose** », un phénomène qui permet aux macrophages de passer d'une transition de phénotype pro-inflammatoire (**M1**) à un phénotype anti-inflammatoire (**M2**).

Les macrophages (**M2**) produisent de l'IL-10 et du TFG- β , qui ont de nombreux effets anti-inflammatoires, notamment sur les cellules immunitaires et sont impliqués dans le déclenchement des mécanismes de réparation tissulaire (**Mebirouk, 2017; Febvre-James, 2019**), coopérant avec les cellules endothéliales et les fibroblastes (**Eming et al., 2007**). Le retour à un état physiologique est la première étape de la réparation. Les cellules endothéliales elles-mêmes, qui sont capables de produire et de remodeler des composants

de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine) (Eming *et al.*, 2007).

Si les dommages sont plus graves et entraînent la destruction du tissu affecté, d'autres cellules interviendront pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages seront impliqués dans l'angiogenèse, mais d'abord les cellules endothéliales puis les fibroblastes, qui produisent les protéines matricielles du tissu intercellulaire, telles que le collagène, la fibronectine et la laminine, pour permettre le remodelage tissulaire (Fig 02) (Jamilloux *et al.*, 2013).

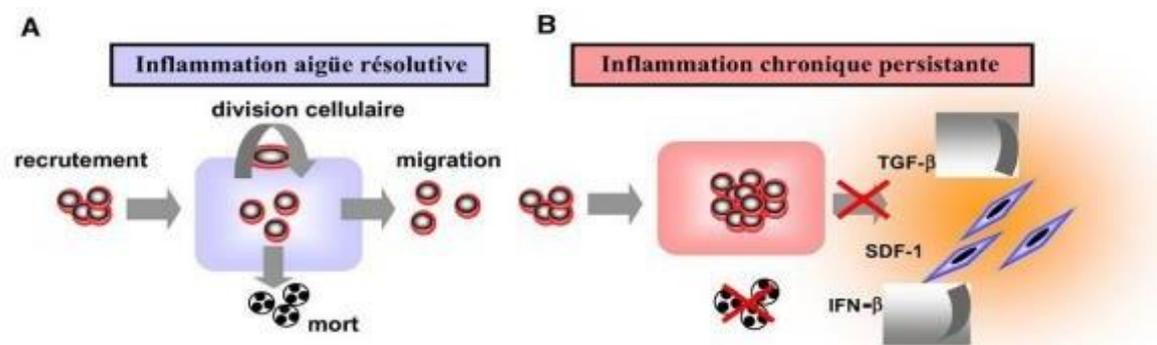


Figure 02 : Homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aiguë (A) et l'inflammation chronique (B) (Angela *et al.*, 2004).

✓ L'inflammation chronique

Une réaction inflammatoire chronique est une réaction où les médiateurs anti-inflammatoires du système immunitaire ne sont pas en mesure d'inhiber la réponse pro-inflammatoire (Köhler *et al.*, 2016).

Contrairement à l'inflammation aiguë normale, les lymphocytes peuvent participer, formant une réponse adaptative exacerbée. En conséquence, les cellules deviennent hyperactives, des cytokines/chimiokines sont régulièrement sécrétées et les phases de dégradation/réparation des tissus se poursuivent. De plus, une inflammation chronique peut survenir dans des maladies chroniques telles que les maladies neuro-dégénératives, l'auto-immunité et l'auto-inflammation (Drieu, 2018).

II.1.5. Pathologies de l'inflammation

Tableau IV : Quelques maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

Désordres dans lesquelles le rôle Pathogénique principal revient à l'inflammation	
Asthme	Polyarthrite rhumatoïde
Artériosclérose	Arthrose
Goutte	Thyroïdite d'Hashimoto
Maladie d'Alzheimer	Lupus érythémateux disséminé
Eczéma	Maladie de Crohn
Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie	
Hépatite C	Tuberculose
Tuberculose	Dysenterie bactérienne
Maladies d'origines divers dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie	
Fibrose pulmonaire idiopathique	Bilharziose
Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique	

II.1.6. Les anti- inflammatoires

Les termes anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens sont attribués aux molécules utilisées comme traitement de l'inflammation. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long terme (**Rahmani et al., 2016**).

A. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

C'est une large classe de médicaments dérivés du cortisol, ils jouent un rôle important dans la régulation du tonus vasculaire et le maintien des systèmes homéostatiques (**Henzen, 2003 ; Dejean et Richard, 2013**).

Les glucocorticoïdes inhibent l'action de la phospholipase A2, responsable de la synthèse des prostaglandines à partir du métabolisme de l'acide arachidonique via la cyclo-oxygénase (**Guilpain et Le Jeune, 2012 ; Orliaguet et al., 2013**), comme ils ont une action à la fois cytoplasmique et génomique, conduisant à la transcription et de l'expression des médiateurs (**Orliaguet et al., 2013**).

Les AIS possèdent des propriétés anti-inflammatoires, anti-allergiques et immunosuppressives, qui contribuent à leur efficacité thérapeutique (Fig 03) (Guilpain, 2012).

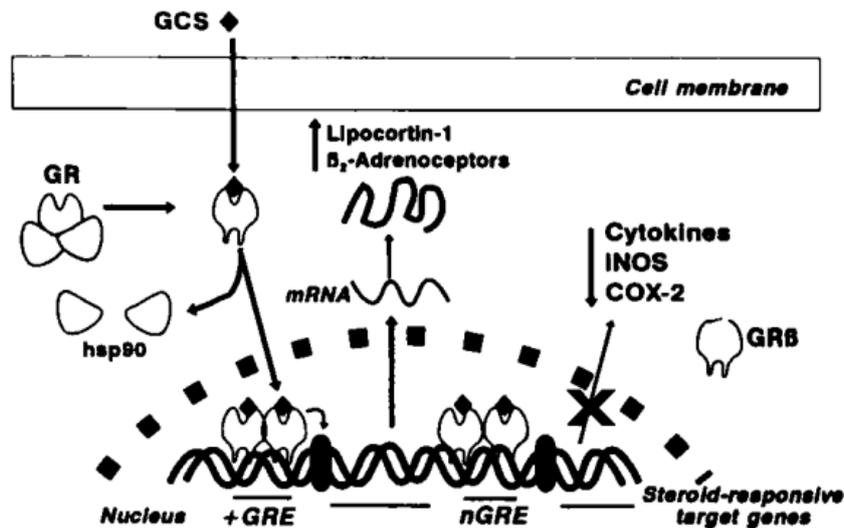


Figure 03 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

B. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont des médicaments hétérogènes dans lesquels l'aspirine est le composant principal (Pillon, 2014) et est utilisée en médecine ambulatoire pour ses effets antalgiques, antipyrétiques et antiagrégants plaquettaires (Pillon, 2014 ; Dirou et Voiriot, 2015). Leurs efficacités et leurs principaux effets secondaires sont liés à leur mécanisme d'action dont l'effet principal est l'inhibition de la cyclooxygénase, l'enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2) et des thromboxanes à partir de l'acide arachidonique (Fig 04) (Orliaguet et al., 2013).

La production accrue des prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation et à la douleur, alors que sa production basale permet le maintien de l'homéostasie tissulaire. L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc s'accompagner d'effets favorables et/ou défavorables (Blain et al., 2000).

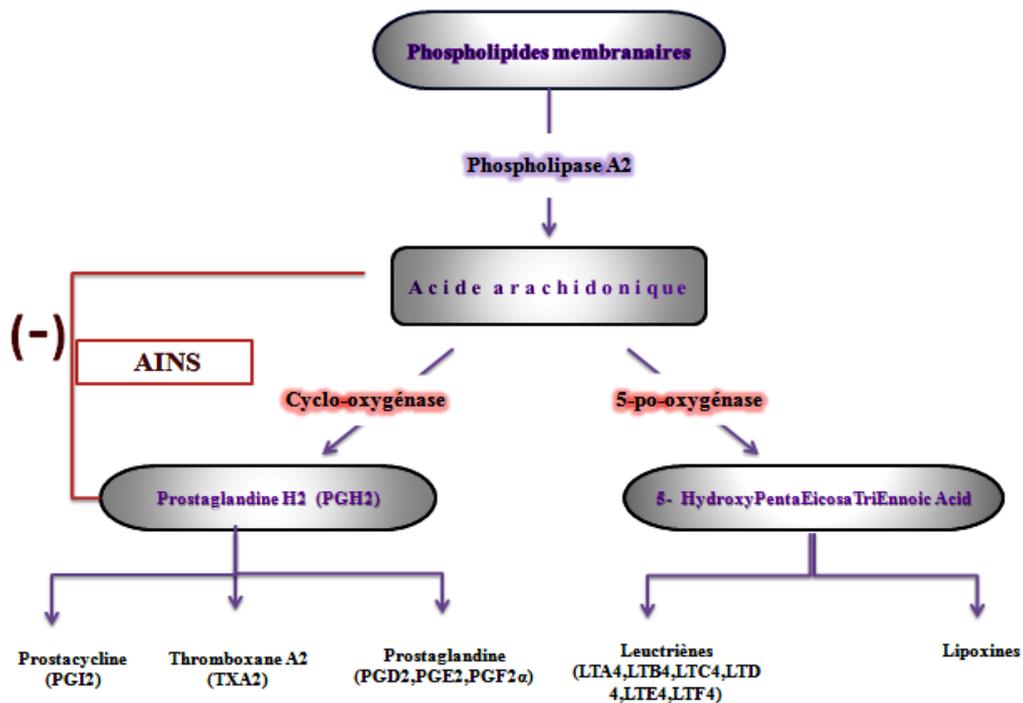


Figure 04 : Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

C. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles sont utilisées particulièrement pour la protection contre la peroxydation lipidique et le traitement des maladies anti-inflammatoires (Bourkhiss *et al.*, 2010).

Ces composés phytochimiques sont utilisés à la place des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) parce que l'utilisation des AINS est associée à de multiples effets, avec des effets indésirables sur les systèmes gastro-intestinal et rénal (Nunes *et al.*, 2020). Ainsi, il faut recourir aux anti-inflammatoires naturels dans les traitements médicamenteux pour obtenir une augmentation de l'effet thérapeutique avec le moins d'effets secondaires indésirables (Nunes *et al.*, 2020).

II.2. Activité antalgique

II.2.1. Douleur

La douleur est un problème clinique subjectif complexe et l'un des symptômes d'une réponse inflammatoire. Il s'agit d'une expérience sensorielle et émotionnelle qui correspond

à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou à une sensation subjective constamment désagréable, d'intensité variable d'un objet à l'autre (**Backonja, 2003**).

II.2.2. Traitement de la douleur : Les analgésiques :

Les analgésiques sont des médicaments symptomatiques qui réduisent ou éliminent la sensation de douleur sans agir sur la cause de la douleur (**Penn, 1995**). Les analgésiques sont généralement répartis en deux classes :

A. Analgésiques périphériques

Dans le système périphérique, la douleur est un signal d'alarme pour protéger le corps. Cela est dû à la libération de sérotonine, d'histamine, de bradykinine et de prostaglandines. Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent une augmentation de la perméabilité vasculaire (**Frederico et al., 2009**).

Les analgésiques périphériques constituent le groupe des analgésiques non morphiniques. Le mécanisme d'action de ces produits est lié à l'inhibition des cyclo-oxygénases, ce qui aboutit à la diminution de la synthèse des médiateurs chimiques (**Kresec et al., 2007**).

B. Analgésiques centraux

Les analgésiques centraux sont communément appelés analgésiques morphiniques. Ces produits agissent sur la première synapse douloureuse située au niveau de la corne postérieure de la moelle épinière. A ce niveau, ils inhibent la transmission de l'influx nerveux en se liant à la substance synaptique P (**Stein et al., 1995**).

II.2.3. Activité analgésique des poly phénols :

Les poly phénols agissent à la fois comme analgésiques périphériques et analgésiques centraux en inhibant la COX et donc diminuent la production des prostaglandines (**Ahmed et al., 2010 ; Shakeri et al., 2012**).

Partie

Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

Le travail expérimental a pour objectif l'étude de l'activité anti-inflammatoire, antalgique et la toxicité de l'extrait éthanoléique brut des composés phénoliques de la partie aérienne de «*Fumaria agraria*». L'expérimentation a été réalisée au niveau du labo **BPC1** de la **FSNV** de l'université de Bejaïa pour la partie extraction, et au niveau de l'animalerie de l'unité de **Recherche et Développement** à la filiale **SAIDAL-Alger**.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

La présente étude réalisée a été portée sur l'espèce *Fumaria agraria*, notamment sa partie aérienne (tige, fleurs, feuilles et fruits) (**Fig05**). La plante a été récoltée dans la région de « Tamokra » régions « d'Akbou » wilaya de Bejaia la matinée à la levée du soleil pendant le mois de mars **2022**, qui est la période de fructification et de floraison.

Un échantillon d'herbier a été déposé à l'Herbier des Conservatoires et Jardins Botaniques de Nancy, France sous la référence "NCY013571" par le collecteur **Bougoffa-Sadaoui K.** (**Bougoffa-Sadaoui et al., 2015**).



Figure 05 : Photographie de la plante *Fumaria agraria*.

I.1.2. Matériel biologique

Les activités de notre extrait ont été évaluées sur des souris (mâles et femelles) de type **BALB/c** issues de l'animalerie du laboratoire de l'**Institut Pasteur d'Alger (IPA)**. Leurs poids varient entre **26g à 30g** et âgées de **3 semaines (Fig06)**.

Ces animaux ont été nourris et logés au niveau de l'animalerie de **SAIDAL** ayant un libre accès à la nourriture et à l'eau, selon le besoin, dans les conditions favorables résumées ci-dessous :

- Température (**20C° à 24C°**).
- Humidité : **50%**
- Eclairage : **10H**

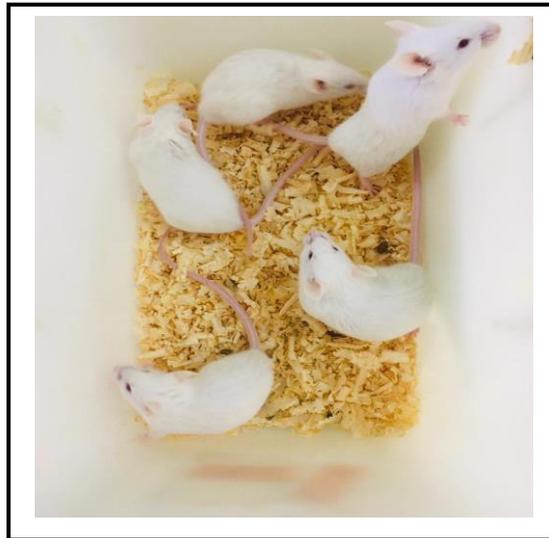


Figure 06 : Des souris de type BALB/c.

I.1.3. Matériel et réactifs chimiques

Le matériel et les réactifs utilisés dans notre travail sont reportés en annexe.

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de la poudre végétale

I.2.1.1. Séchage et broyage

La plante utilisée dans la présente étude a été récoltée et lavé soigneusement puis séchée à l'étuve à **40°C** jusqu'à stabilisation du poids (pendant **8 jours**). Ce séchage est réalisé afin de faciliter le broyage et donc avoir un meilleur rendement d'extraction (**Debuigne, 1991**).

L'échantillon obtenu après séchage est réduit en poudre grâce à un broyeur de laboratoire électrique.

I.2.1.2. Préparation de l'extrait végétal

Deux types d'extraction solide-liquide ont été employés afin de doser les polyphénols puis d'évaluer les activités en question, l'extraction par « **Soxhlet** » et par « **macération** » en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

A. Extraction par macération

L'extraction des polyphénols est réalisée par macération selon le protocole de **Sousek et ses collaborateurs (1999)** défini sur la **figure 07**.

Il est important de noter qu'un échantillon d'extrait a été utilisé pour un dosage des polyphénols totaux, cela après détermination du rendement d'extraction après avoir concentré l'extrait par évaporation.

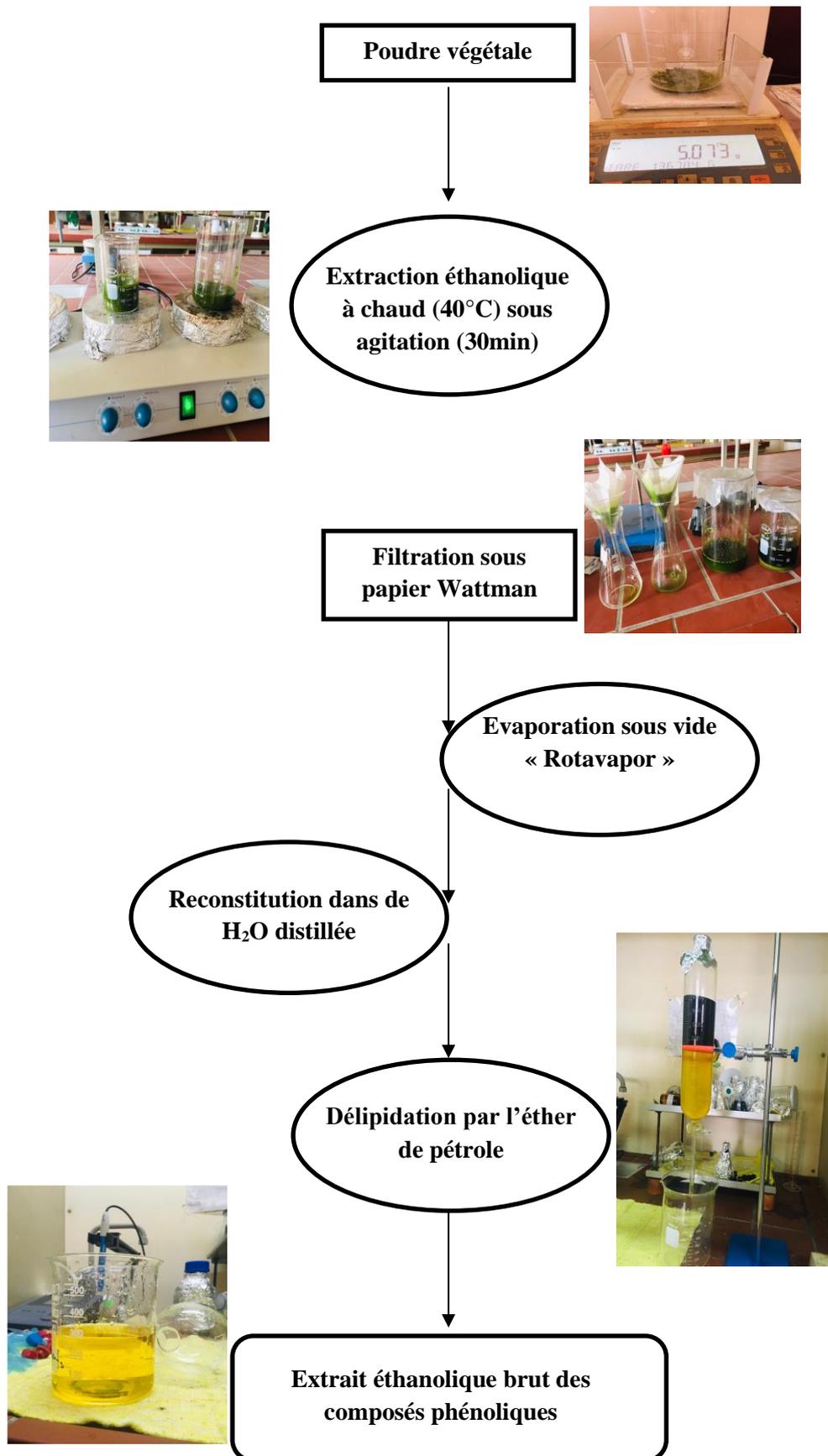


Figure 7 : Schéma montrant les étapes de la macération (Sousek et al., 1999).

B. Extraction par Soxhlet

Le protocole d'extraction des composés phénoliques est celui préconisé par **Farzana et al. (1997)**. La **figure 08** illustre les différentes étapes du protocole d'extraction.

De même que pour l'extrait de macération, celui-ci a été utilisé pour un dosage des polyphénols totaux, puis concentré par évaporation afin de déterminer le rendement.

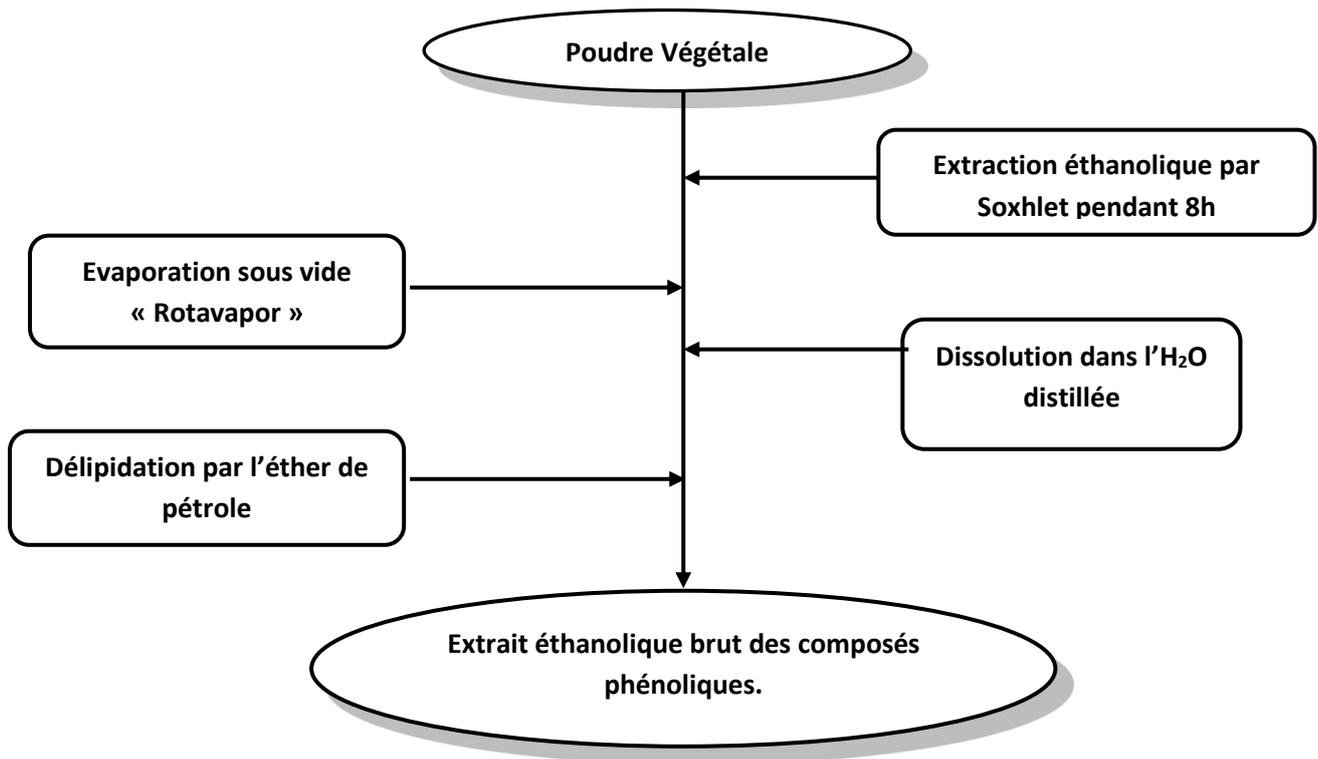


Figure 08 : Schéma résumant les étapes suivies lors de l'extraction par Soxhlet (**Farzana et al.,1997**).

I.2.2. Rendement en polyphénol totaux

A. Le rendement massique

Le rendement pondéral, après évaporation, est calculé selon la relation suivante :

$$R = (P_{ES}/P_{MS}) 100$$

P_{ES} : poids de l'extrait sec

P_{MS} : poids de la poudre sèche

B. Rendement en polyphénol totaux « Dosage colorimétrique »

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de **Folin-Ciocalteu** (**Mahmoudi et al., 2013**).

Le réactif, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (**H₃PW₁₂O₄₀**) et d'acide phosphomolybdique (**H₃PMo₁₂O₄₀**), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (**W₈O₂₃**) et de molybdène (**Mo₈O₂₃**) en présence d'un catalyseur « **le carbonate de sodium** ». La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, et est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm (**Singleton et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

Le dosage consiste à prendre un volume de **100µl** de l'extrait avec **0.5ml** de Folin-Ciocalteu, après **4min**, **0.4ml** de carbonate de sodium (**7,5%**) sont ajoutés à la solution, les tubes sont placés à l'obscurité pendant 1 heure à une température de **37°C**. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de **740nm** (**Souseck et Valesova, 1999**).

- ✓ Le blanc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par l'H₂O(d).
- ✓ Les concentrations des polyphénols de l'échantillon sont déterminées à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique « **AG** ». Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique (**Clémentine et al., 2012**).

Notant que parmi les deux extractions, Soxhlet et macération, l'extrait avec le meilleur dosage en composés phénoliques sera retenu pour la suite des activités biologiques.

I.2.3. Evaluation des activités biologiques

Pour les tests des activités biologiques *in-vivo*, nous avons d'abord étudié la toxicité aiguë de notre extrait afin de déterminer les doses toxiques des doses non toxiques.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique brut des polyphénols totaux « **PT** » de *Fumaria agraria*, a été évaluée par le test de formation d'œdème par la substance phlogogène « **la carraghénane** ». Enfin, l'activité antalgique a été évaluée grâce à la méthode de l'acide acétique.

I.2.3.1. Évaluation de la toxicité aigüe

Ce test est réalisé afin de connaître le champ de concentrations pharmacologiques de notre extrait, pour cela différentes solutions mères à différentes concentrations ont été employées.

Pour contrôler la toxicité de notre extrait, on dispose de **3 lots** à raison de **6 souris** par lot (**3 mâles et 3 femelles**).

Chacun des lots reçoit une dose précise de notre extrait selon les répartitions suivantes :

- ✓ **Lot témoin** : Reçoit de l'eau physiologique
- ✓ **Lot 1** : Reçoit une dose de **250mg/kg**
- ✓ **Lot 2** : Reçoit une dose de **500mg/kg**
- ✓ **Lot 3** : Reçoit une dose de **1000mg/kg**

L'observation a été effectuée durant les **4h** qui suivent le gavage de l'extrait afin de déterminer la dose ayant provoquée **50%** de morts des souris (**DL50**), on notera ainsi le comportement des animaux au cours de l'expérience. Pour les effets tardifs, on prolonge l'observation d'**une heure** après les 4h préconisés puis **24h** après afin de procéder au sacrifice (**Belmouhoub et al., 2016**).

I.2.3.2. L'activité anti-inflammatoire

- **Principe**

La méthode consiste à vérifier l'action inhibitrice de la réaction inflammatoire par l'extrait à tester sur un œdème provoqué par l'application locale d'une dose de l'agent phlogogène « **la carraghénane** » sous l'aponévrose plantaire de la souris.

Le protocole suivi pour réaliser ce test a été fourni par le laboratoire pharmaco-toxicologique du CRD Soidal d'Alger.

- **Mode opératoire**

On induit l'œdème par application de **la carraghénane** sous l'aponévrose plantaire de chaque souris, selon la méthode. Les souris sont mises à jeun la veille de la réalisation du test Pour cela, et **30 min** après gavage de l'animal par la concentration de l'extrait à tester « **EEPT** » (**50, 100 et 200 mg / kg**) (**Fig 10**), l'inflammation est induite par application, pour chaque lot d'un volume de **0.025ml** de suspension de carraghénane à **1%** sous l'aponévrose plantaire de

la patte arrière gauche de chaque souris (**Fig 11**). Le poids des pattes de chaque souris sera pesé **4h** après, pour déterminer le pourcentage anti-inflammatoire (**Fig 12**).

Les souris réparties en **05** lots, à raison de **05** femelles et **05** mâles par lot, reçoivent respectivement les traitements suivants par gavage :

- ✓ **Lot témoin** : Reçoit de l'eau physiologique seulement
- ✓ **Lot référence** : Reçoit du **50mg/kg du** Diclofénac par gavage
- ✓ **Lot 1** : Reçoit **50mg/kg** d'extrait par gavage
- ✓ **Lot 2** : Reçoit **100mg/kg** d'extrait par gavage
- ✓ **Lot 3** : Reçoit **200mg/kg** d'extrait par gavage

Les différentes étapes du protocole anti-inflammatoire sont visualisées ci-dessous en fonction de temps :

- **Au temps T0** : Administrer aux cinq lots constitués les suspensions comme cité précédemment (Extrait, Dichlofénac, eau physiologique) par voie orale à l'aide d'une sonde gastrique (**Fig09**):



Figure 09 : Photographie du gavage des souris

- **Au temps T0+30mn** : Induction de l'inflammation par l'injection de carraghénane (**Fig10**).



Figure 6 : Photographie montrant l'injection de la carraghénane à 1% dans la patte postérieure des souris

✓ **Au temps T0+4h :**

Toutes les souris sont sacrifiées par rupture de la nuque après une légère sédation.

Les pattes postérieures des souris sont ensuite coupées à hauteur de l'articulation et sont pesées sur une balance analytique (**Fig11**).

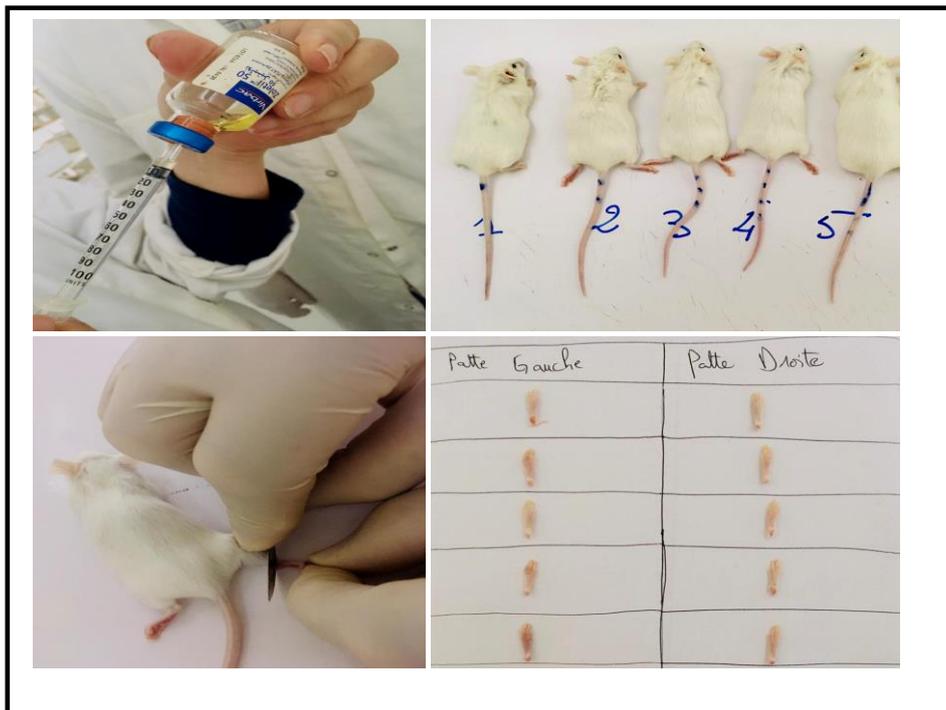


Figure 11 : Photographie montrant le sacrifice des souris par rupture de la nuque après une légère sédation.

✓ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés après le calcul des moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite de chaque lot.

La formule suivante exprime le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (ou le % d'œdème) :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{MPG - MPD}{MPD} \times 100$$

- **MDG** : Moyenne des poids de la patte gauche.
- **MDP** : Moyenne des poids de la patte droite.

Le calcul du pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins se fait selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ d'œdème témoin} - \% \text{ d'œdème essai}}{\% \text{ d'œdème témoin}} \times 100$$

Les deux formules utilisées pour calculer le pourcentage de l'œdème et le pourcentage de réduction de l'œdème ont été appliqués selon le protocole fourni par le laboratoire pharmaco-toxicologique du **CRD Sidal d'Alger**.

I.2.3.3. L'activité antalgique

• Principe

Le principe de ce test consiste à injecter un volume précis d'acide acétique (1%) par voie intra péritonéale chez les souris de chaque lot ce qui provoquera une réaction douloureuse qui se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (crampes) qui peuvent être réduites par un produit antalgique.

Le protocole suivi afin de réaliser l'activité antalgique a été fourni par le laboratoire pharmaco-toxicologique du **CRD Sidal d'Alger**.

• Mode opératoire

On induit la douleur par application de **l'acide acétique** pour chaque souris, selon la méthode de **Vogel & Vogel 1997** fournie par le laboratoire pharmaco-toxicologique du **CRD Sidal d'Alger**.

Pour cela, et **30 min** après gavage de l'animal par la concentration de l'extrait à tester « **EEPT** » (**50, 100 et 200 mg / kg**), les crampes sont induites par l'administration de **0.2ml** de l'acide acétique à **1%** par voie intra-péritonéale pour chaque souris (**Fig 12**). Après **5 min** d'injection de l'acide acétique, on compte le nombre de crampes que les souris ont émis par observation directe et ceci pendant **10 min (Fig 13)**.

Les souris réparties en **05** lots, à raison de **05** femelles et **05** mâles par lot, reçoivent respectivement les traitements suivants par gavage

- ✓ **Lot témoin** : Reçoit de l'eau physiologique seulement
- ✓ **Lot référence** : Reçoit du 50mg/kg du Diclofénac par gavage
- ✓ **Lot 1** : Reçoit **50mg/kg** d'extrait par gavage
- ✓ **Lot 2** : Reçoit **100mg/kg** d'extrait par gavage
- ✓ **Lot 3** : Reçoit **200mg/kg** d'extrait par gavage

Les différentes étapes du protocole antalgique sont visualisées ci-dessous en fonction de temps :

- **Au temps T0** : administration par gavage des différentes préparations d'extrait, du paracétamol et de l'eau physiologique
- **Au temps T0+30mn** : création des crampes d'acide acétique (**Fig12**).



Figure 12 : Photographie de l'injection de l'acide acétique à 1%.

- Au temps T0+35mn : comptage des crampes pendant 10 minute (Fig13).



Figure 13 : Photographie montrant les souris en plein contorsion abdominale après injection de l'acide acétique à 1%

- **Calcul des résultats**

Cette étude permet de comparer la réduction du nombre des crampes après l'administration de différentes doses de notre extrait s'il présente un effet antalgique et du produit de référence correspondant. Les moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot ont été calculées.

Le pourcentage de réduction des crampes chez les souris par rapport aux témoins a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ deprotection} = \frac{\text{moyenne des crampes du lot T} - \text{moyenne des crampes du lot E}}{\text{moyenne des crampes du lot T}} \times 100$$

- **Lot E:** Lot essai
- **Lot T:** Lot témoin

I.2.4. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA et la comparaison des données et prise à la probabilité $p \leq 0.05$.

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm moyenne erreur standard (MES).

Chapitre II

Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussion

Dans notre étude, la poudre végétale de la partie aérienne de *Fumaria agraria* L nous a servi pour préparer l'extrait éthanolique brut des composés phénoliques, par **macération** et **Soxhlet**. Ces extraits ont été utilisés pour déterminer leur intervalle toxique puis évaluer leurs effets anti-inflammatoires et antalgiques *in-vivo*.

II.1. Collecte, séchage et extraction

La collecte et le séchage du matériel végétal ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de substances actives. Le temps choisi pour la collecte du matériel végétal influence les actions biologiques des extraits des plantes, car la teneur en métabolites secondaires chez les végétaux n'est pas stable dans le temps (**Suau et al., 2002**).

Nous avons collecté la partie de la plante à étudier (partie aérienne) la matinée avant la levée du soleil, au printemps, période durant laquelle le pic en substances actives est maximum (**Suau et al., 2002**).

La partie aérienne de notre plante de *Fumaria agraria* a été réduite en poudre végétale après séchage à **40°C**. Cette température permet de préserver les substances thermolabiles tels que les poly-phénols et les vitamines de la dégradation (**Wichtl et al., 2003**).

Le broyage étant un facteur très important dans l'extraction, il augmente la surface d'échange entre la matière végétale et le solvant ce qui permet d'avoir un meilleur rendement (**Kablan et al., 2008**).

L'utilisation de l'éthanol comme solvant présente plusieurs avantages ; d'une part, il permet une extraction maximale des composées végétales. D'une autre part, il est facilement volatile et présente une faible toxicité comparant au méthanol (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Deux types d'extraction ont été employés dans notre présente étude : « **Soxhlet** et **Macération** ». Le dosage colorimétrique des polyphénols totaux permettra de choisir le meilleur extrait en termes de rendement.

II.2. Extraction et dosage des composés phénoliques

La teneur en métabolites secondaires dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade de croissance, les influences environnementales et le patrimoine génétique (**Bruneton, 2009**).

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs structures chimiques et donc leurs propriétés biologiques.

II.2.1. Extraction

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. Elle se fait à température adaptée (**Djabou, 2006 ; Lagnika, 2005**). Bien que, généralement cette méthode est longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé (**Garcia-Salas, 2010**). Elle reste une méthode très appréciée dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles (**Ben Amor, 2008**).

Le rendement pondéral d'extraction est calculé par rapport à la masse de la poudre initiale.

L'extraction par macération en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction nous a permis de récupérer une gomme végétale à un taux de **7.96%**. Ce résultat reste faible par rapport à ceux trouvés par **Orhan et ses collaborateurs (2010)** qui sont de **30.86 %**, **33.12 %**, **35.97 %**, **30.08%** respectivement chez *F. cilicica*, *F. densiflora*, *F. kraliki* et *F. parviflora*.

Ce rendement peut varier d'une part, d'une région à une autre, selon les facteurs pédoclimatiques, et d'autre part selon l'équipement et les conditions d'extraction. Comme il peut être aussi influencé par plusieurs facteurs tels que la composition du sol, la saison végétative ainsi que la période de récolte (**Grycova et al., 2007**).

Cette différence quantitative peut être aussi due au volume et au type du solvant d'extraction utilisé ; le poids initial de la poudre et son état (frais ou sec) peuvent aussi influencer l'extraction, le taux et la nature des composés extraits (**Mbodj, 2003 ; Nacz et Shahidi, 2006**).

Cette méthode d'extraction menée à température ambiante (**la macération**) permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (**Penchev, 2010**).

L'extraction par **Soxhlet** est une technique très efficace nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (**Penchev, 2010**).

Quantitativement parlant, l'extraction par **Soxhlet** reste meilleure que celle par **macération** en employant le même solvant d'extraction (**Fig 14**).

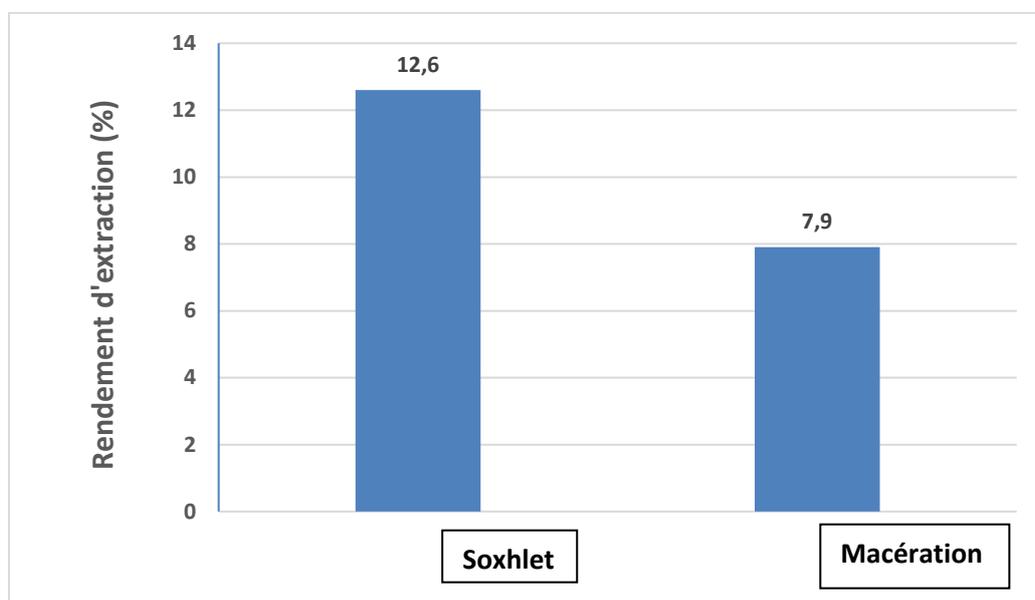


Figure 14 : Rendement d'extraction éthanolique par Soxhlet & macération.

II.2.2. Dosage des polyphénols

Dans les composés, chaque fonction absorbe la lumière à une longueur d'onde bien déterminée, appartenant au domaine UV-visible (**Lagnika, 2005**). Dans notre étude, ce principe a été utilisé pour déterminer la présence de groupements fonctionnels actifs des concrètes et confirmer ainsi la réussite de l'extraction.

L'étude quantitative des extraits bruts, préparés à partir de la partie aérienne de *Fumaria agraria* au moyen du dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués. Une droite d'étalonnage a été tracée pour cet objectif qui est réalisée avec une solution d'étalon à différentes concentrations. Les quantités des polyphénols dans les deux extraits (Macération et

Soxhlet) ont été rapportées en « **mg** » équivalent d'acide gallique par « **100 g** » de la poudre sèche (**mg EAG/100g PS**) et déterminés par l'équation de type : $y = a x + b$.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999). L'acide gallique a été utilisé comme étalon (Fig15, Annexe 2).

Les résultats des dosages des polyphénols sont représentés dans la figure ci-dessous (Fig 15). Nous constatons, que la teneur en polyphénols dans le cas de la macération est largement supérieure à celle obtenue par « Soxhlet ». Les valeurs enregistrées sont respectivement de **2885 ± 110.34 (mg EAG/100g PS)** et **468 ± 31.86 (mg EAG /100 g PS)**. Ces résultats exprimant des différences statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Cette variation peut être attribuée au phénomène de dégradation thermique, les composés phénoliques étant thermosensibles, les températures élevées et les temps d'exposition plus long dans le cas d'extraction par « Soxhlet » comparant à la macération expliquent cette différence (Vergara-Salinas et al., 2012).

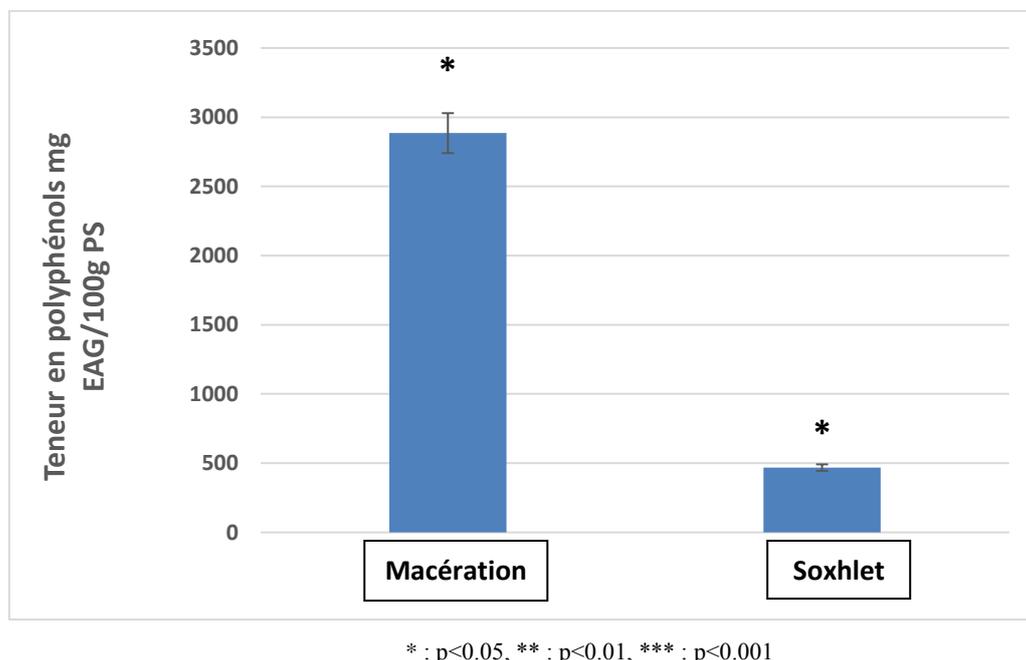


Figure 15: Histogramme représentant la teneur en poly-phénols totaux de la partie aérienne de *Fumaria agraria* (exprimée en **mg EAG/100g PS**)

Nos résultats restent meilleurs à ceux trouvés chez d'autres espèces du même genre de *Fumaria*, récoltées à la même période (mois de Mars) mais dans une région espagnole (Malaga) (Sousek et Valesova, 1999), les taux sont pour, *F.agraria* de « **2095 mg / 100g** »,

F.capreolata de « 2533 mg / 100g », *F.officinalis* de « 2938 mg / 100g », *F.parviflora* de «2037 mg / 100g » et *F.densiflora* de « 2425 mg / 100g ».

Plusieurs facteurs parmi eux environnementaux jouent un rôle sur la teneur en polyphénols totaux dans la même espèce. Les études de **Shahid et Bhangar (2006)** ont prouvé que la même espèce récoltée à des périodes différentes peut présenter des taux en polyphénols différents. C'est ce qui a été prouvé aussi par les études de **Souseck et al en 1999**, en confirmant que la saison de récolte influence la teneur des polyphénols en réalisant des études sur des échantillons du genre *Fumaria*, récoltés pendant les mois de Mars, Avril, Mai et Juin.

Les résultats obtenus par notre étude sont compris dans l'intervalle des taux obtenus par **Souseck et ses collaborateurs (1999)**. Les légères différences peuvent être expliquées par la différence en composition du sol, la région, climats, ... etc.

Chez le genre *Fumaria*, des études sur des échantillons récoltés pendant le printemps ont permis de confirmer l'influence de la saison sur la teneur en polyphénols (**Souseck et Valesova, 1999**).

De ce résultat de dosage, l'extrait éthanolique des polyphénols totaux « **EEPT** » issu de l'extraction par macération, représentant le meilleur dosage en polyphénols, sera maintenu pour évaluer son potentiel biologique en tant qu'anti-inflammatoire et antalgique après avoir établi son spectre de dose toxique, et cela *in vivo* (**Fig 15**).

II.3. Evaluation de la toxicité aiguë

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il est nécessaire de réaliser des essais de toxicité pour évaluer les effets toxiques de l'extrait à tester et surtout estimer la marge des doses non-toxiques.

Plusieurs paramètres sont pris en considération à savoir le suivi de la mortalité afin de déterminer notamment les doses en question, aussi bien que le suivi du changement de comportement des animaux employés.

II.3.1. Suivi de la mortalité

La toxicité aiguë a pour objectif la détermination de la **DL50** (Dose Létale à **50 %**), un indicateur mesurant la dose de substance causant la mort de **50%** d'une population animale donnée, dans des conditions d'expérimentation précise (**Oliver, 1986**).

Nous avons procédé à l'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait ethanolic de la partie aérienne de *Fumaria agraria* par un test *in vivo* sur des souris *albinos* de souche BALB/C, réparties en 4 lots (voir détails dans la partie matériel et méthodes). Ces lots ont reçus 3 doses différentes de l'extrait en solution dans de l'eau physiologique (250, 500 et 1000mg/kg) en plus du lot témoin qui n'a reçu que le même volume en solvant de dissolution.

Dans les 4h qui suivent l'administration des différentes doses de l'extrait à tester, aucune mortalité n'a été observée. Il est nécessaire aussi de noter que l'observation a été étalée à 24h. Dans ce cas, la DL50 serait beaucoup plus importante que la dose maximale ici employée à savoir 1000mg/kg. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau V** :

Tableau V : Taux de létalité chez des souris *albinos* de souche BALB/C traitées par les doses de l'EEPT de *Fumaria agraria*.

Dose (mg/kg)	Mortalité	Latence de mortalité
250	0/6	0
500	0/6	0
1000	0/6	0

II.3.2. Suivi du changement de comportement

De multiples symptômes sont considérés comme signes de toxicité humaine et animale telles que: la somnolence, hypoactivité, agressivité et excitation.

Dans le **tableau VI** sont présentés les résultats des comportements, signes de toxicité des souris exposées aux 3 doses de notre extrait testé :

Tableau VI : Résultats des comportements et signes de toxicité des souris exposés aux 3 doses d'EEPT .

Sexe	Mâle			Femelle			Témoin Eau distillée
	Doses (mg/kg) 250	500	1000	250	500	1000	
Somnolence	—	—	—	—	—	—	—
Agressivité	—	—	—	—	—	—	—
Excitation	—	—	—	—	—	—	—
Diarrhée	—	—	—	—	—	—	—

(—) : Absence du symptôme signalé ; (+) : Présence du symptôme.

Durant les **4heures** qui suivent l'administration orale des différentes doses de l'extrait EEPT de *Fumaria agraria*, On n'observe aucun comportement anormal remarquable et envisageable telles que: excitabilité, agressivité et diarrhée chez les souris.

Ce test nous révèle que les doses ici utilisées n'ont pas d'impact toxique, aussi, c'est des doses inférieures aux doses qui peuvent provoquer un changement du comportement chez les souris.

II.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique des composés phénoliques de la partie aérienne de *Fumaria agraria* sur le même modèle animal que précédemment, en provoquant une inflammation aiguë au niveau de l'aponévrose postérieure gauche par la carraghénane à 1% (CGN 1%) selon le protocole de **Winter et al. (1962)**. L'agent inflammatoire induit l'apparition d'un œdème visible à l'œil nu, qui est un excellent outil simple pour la quantification d'inflammation cutanée (**Ochieng et al., 2013 ; Lee et al., 2018**).

Le test CGN est souvent utilisé en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation en quelques secondes (développement de l'œdème) et également en raison de sa reproductibilité. Il permet d'étudier le processus inflammatoire, ainsi qu'identifier les agents anti-inflammatoires qui pourraient être utiles dans le traitement des troubles de la peau (**Cabrini et al., 2011**).

La **Figure 16** représente le volume de la patte œdémateuse par rapport à la patte normale chez tous les lots testés, en effet, l'application locale de l'agent inflammatoire (CGN 1%) a provoqué une augmentation du volume de la patte enflammée en comparant à la normale.



Figure 16 : Photographie de l'aponévrose postérieure gauche (œdémateuse) des souris dans le modèle d'inflammation induite par la carraghénane à 1%.

Le développement œdémateux induit par la CGN sur les différents lots utilisés a été observé et mesuré pour le lot contrôle et les lots traités par différentes concentrations de l'extrait EEPT ainsi que le lot traité par une concentration de **50 mg/kg** de **Diclofenac** (standard anti-inflammatoire). Les différents résultats obtenus sont représentés dans le **tableau VII**, en fonction du sexe, mettant en valeur les moyennes du volume des pattes et les pourcentages d'inhibition.

L'augmentation du poids des pattes lésées pendant les 4heures chez les témoins œdémateux, indique que toute réduction d'œdème durant les 4heures serait due aux effets des produits administrés (**Tableau VIII**).

Pour une meilleure visibilité des résultats, les volumes enregistrés ont été transformés en pourcentage selon la loi déjà citée dans la section « matériel et méthodes ».

L'étude statistique a révélé que les doses 50, 100 et 200 mg /kg d'EEPT ont inhibé d'une façon significative l'œdème induit par la carraghénane (**$p \leq 0.01$**).

Tableau VII : Évolution de l'œdème induit par la carraghénane, chez le sexe femelle, en présence de l'extrait EEPT, du standard « Diclofenac » et en absence d'effecteur thérapeutique (contrôle).

Lots	Moyenne des poids des pattes gauches (g)	Moyenne des poids des pattes droite (g)	% d'œdème	% d'inhibition
Contrôle	0.109	0.0758	43.79	0
Standard	0.169	0.139	21.58	50.71
Lot 1: 50 mg/kg	0.145 ± 0.018	0.1312 ± 0.014	14.57 ± 0.64	66.71 ± 1.47
Lot 2: 100 mg/kg	0.1568 ± 0.018	0.138 ± 0.006	3.30 ± 3.64	92.45 ± 8.32
Lot 3 : 200 mg/kg	0.1486 ± 0.011	0.1252 ± 0.012	21.36 ± 2.54	51.20 ± 5.82

Tableau VIII : Évolution de l'œdème induit par la carraghénane, chez le sexe mâle, en présence de l'extrait EEPT, du standard « Diclofenac » et en absence d'effecteur thérapeutique (contrôle).

Lots	Moyenne des poids des pattes gauches (g)	Moyenne des poids des pattes droite (g)	% d'œdème	% d'inhibition
Contrôle	0.109	0.0758	43.79	0
Standard	0.169	0.139	21.58	50.71
Lot 1: 50 mg/kg	0.1288 ± 0.009	0.1042 ± 0.008	17.67 ± 1.74	61.78 ± 3.98
Lot 2: 100 mg/kg	0.1196 ± 0.008	0.1092 ± 0.013	3.32 ± 1.39	92.40 ± 3.17
Lot 3 : 200 mg/kg	0.1344 ± 0.011	0.1074 ± 0.005	25.52 ± 2.85	45.30 ± 2.81

Le traitement de l'inflammation carraghénanienne par l'eau distillée (contrôle) n'indique aucune inhibition (**0%**) avec un pourcentage d'œdème de **43.79 %** comparant au contrôle.

Des tableaux précédents, aucune différence significative de l'effet anti-inflammatoire de notre extrait en fonction du sexe n'a été noté (**Fig17**).

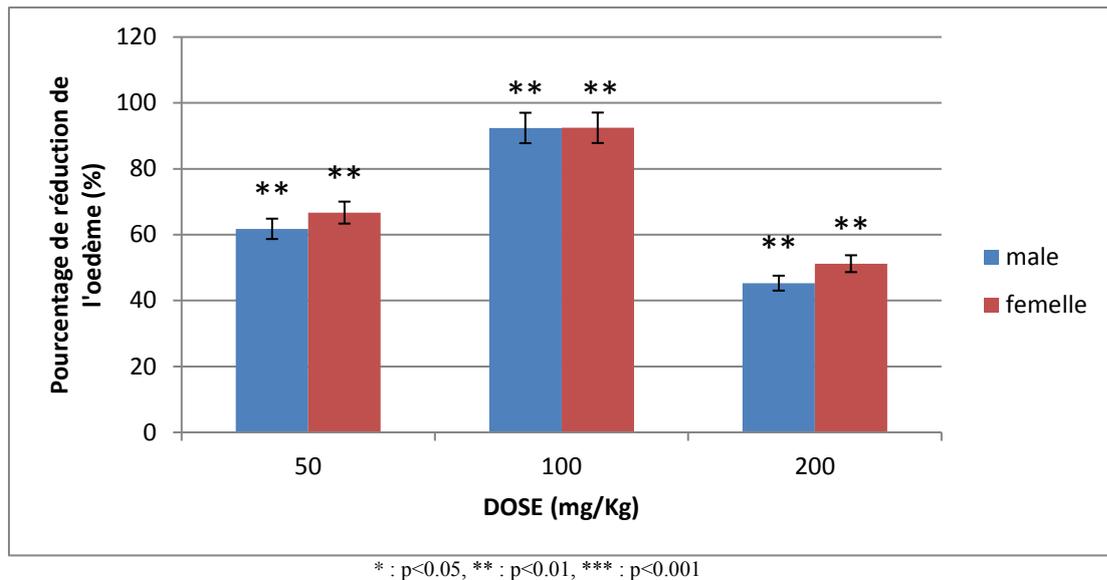


Figure 17 : Histogramme comparative du pourcentage de réduction de l'œdème induit par la carraghénane, en fonction du sexe en présence de l'extrait EECp.

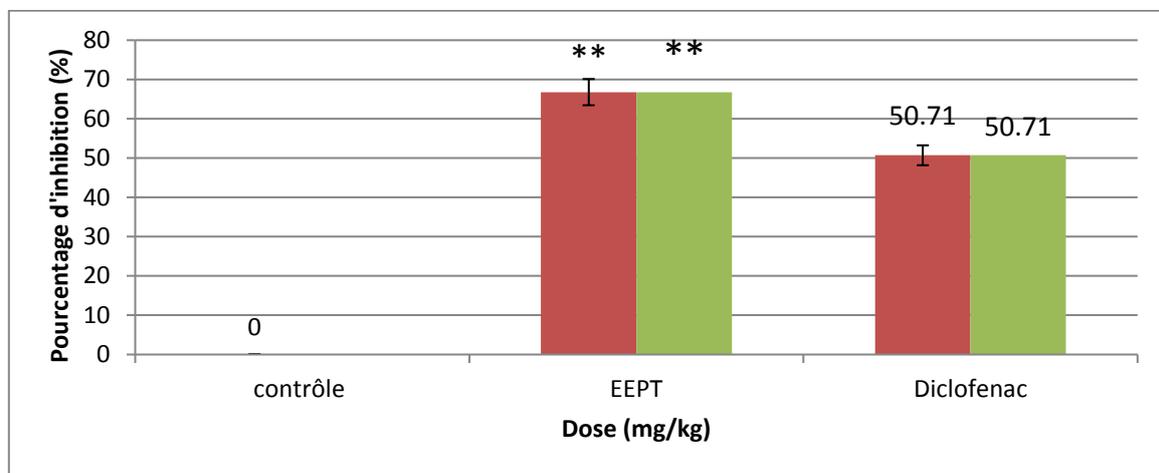
L'activité anti-inflammatoire de la fraction aqueuse d'extrait éthanolique de *Fumaria agraria* a été évaluée par le test de l'œdème induit par la carraghénane et l'effet inhibiteur a été exprimé par le poids de la patte avec une valeur de **43.79 %** qui est significativement ($p \leq 0,01$) supérieur à celui exprimé dans le lot male traité d'ordre **17.67% ± 1.74**, **3.32% ± 1.39** et **25.52% ± 2.85**, et chez le lot femelle : **14.57% ± 0.64**, **3.30% ± 3.64** et **21.36% ± 2.54** des concentrations respectives de **50**, **100** et **200 mg/kg**.

Pour mieux valoriser l'intervalle d'action de notre extrait comme anti-inflammatoire, on l'a comparé à une molécule déjà commercialisée et très utilisée pour son effet anti-inflammatoire, ils s'agit du « **Diclofenac** ». À la dose de **50mg/kg**, les pourcentages d'inhibition de l'œdème chez les deux sexes ont été enregistrés (**50.71%**) et restent inférieurs à ceux enregistrés avec notre extrait à la même dose chez le lot femelle (**66.71 % ± 1.47**) et le lot mâle (**61.78 % ± 3.98**)(tableau IX) (Fig 18). Les résultats obtenus sont statistiquement significatifs ($p < 0.01$).

Tableau IX : Pourcentage d’inhibition d’œdème par l’extrait **EEPT** et le **Diclofenac** chez les males.

Produit	Dose (mg/kg)	% d’inhibition Chez les mâles (%)	% d’inhibition Chez les femelle (%)
Eau distillée	0.00	00	00
Extrait EEPT	50	61.78 ± 3.98	66.71 ± 1.47
Diclorofenac	50	50.71	50.71

L’histogramme ci-dessous montre clairement l’efficacité de notre extrait à la dose de **50 mg/kg** comparant à la même dose en **Diclofenac (Fig 18) :**



* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Figure 18 : Comparaison des pourcentages d’inhibitions d’œdème de l’extrait **EEPT** et du **Diclofenac à 50mg/kg**.

On constate aussi un effet inverse chez le lot traité avec une dose de **200mg/kg** qui peut exercer plutôt un effet pro-inflammatoire à cette dose (**Suzuki et al., 2001 ; Sanchez et al., 2008**).

L’inflammation est l’ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l’organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. La réaction inflammatoire dépasse parfois ses objectifs et cause des effets délétères (**Iwalewa et al., 2007 ; Medzhitov, 2010**). La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèse de type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes). Ce sont des médicaments largement utilisés, mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu’à l’ulcération gastrique) (**Das et al., 2010**). Dans le but de minimiser ces effets

secondaires, les laboratoires développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale ou animale.

L'inflammation aiguë de la patte gauche induite par la carraghénane chez la souris est le modèle expérimental utilisé dans notre étude, pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique des polyphénols de la partie aérienne de *Fumaria agraria*.

Le modèle d'inflammation induite par une injection sous-cutanée de la carraghénane est un modèle très largement utilisé dans la recherche sur les AINS. Cette injection permet d'induire un œdème, une inflammation et une hyperalgésie à son point d'injection propice à tester les effets analgésiques d'AINS.

L'augmentation du volume de l'œdème après application sous-cutanée de la carraghénane est due à la migration des leucocytes et infiltration des neutrophiles au niveau des tissus de la patte (**Ravelo-calzado et al., 2011**).

Au cours du suivi des différents lots utilisés dans cette expérience, et après l'application de la carraghénane, on a noté une augmentation du volume de la patte chez tous les lots. Cependant, cette augmentation du volume chez les lots témoins (contrôles) a été plus importante que les lots traités. Ce qui prouve bien que la carraghénane comme agent irritant a induit une accumulation de liquide conduisant à la formation d'un œdème qui est caractéristique de l'inflammation aiguë. Le traitement soit avec l'extrait **EEPT** ou par l'anti-inflammatoire **standard (Diclofenac)** a diminué cet œdème.

Le Diclofénac, anti-inflammatoire non stéroïdien, a été aussi testé dans l'étude et a démontré son potentiel anti-inflammatoire à **50mg/Kg**. Ce médicament possède des propriétés analgésiques, antipyrétique et anti-inflammatoire. Cette dernière est liée à l'inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxane, en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire « Cyclo-oxygénase » (COX-1 et COX-2), provoquant ainsi l'altération de la fonction des plaquettes, en inhibant leur agrégation (**Alam et al., 2011 ; Ahmad et al., 2013**).

Dans la présente étude, nous avons constaté que l'extrait éthanolique brut des polyphénols de *F. agraria* a pu jouer un rôle crucial dans la baisse du volume de l'œdème, soit par l'élévation du pourcentage d'inhibition ou par l'atténuation des symptômes et signes inflammatoires. Il est important de rappeler qu'à la même dose que l'anti-inflammatoire de

référence (**50mg/kg** de Diclofénac), notre extrait reste meilleur en termes de pourcentage de réduction qui est de **66.71%** comparant à **50.71%** dans le cas du Diclofénac.

Nos résultats nous font penser que notre extrait inhiberait les médiateurs de l'inflammation surtout la production des prostaglandines tel que l'anti-inflammatoire de référence.

II.5. L'activité analgésique

Cette étude a été réalisée selon la méthode décrite par **Bhowmick et ses collaborateurs (2014)**, elle consiste à induire une action algogène par l'administration à des cobayes de l'acide acétique 1%, par voie intrapéritonéale (IP). Dans notre étude, la méthode est utilisée afin d'évaluer le pouvoir analgésique de l'extrait EEPT (Extrait éthanolique de polyphénols totaux).

L'injection intra-péritonéale de l'acide acétique à 1% chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se traduit par des contorsions caractéristiques à type de mouvements d'étirement des pattes postérieures du muscle dorso-ventral (crampes) et de creusement des flancs (**Kang et al., 2008**).

La **figure 19** ci-dessous représente les crampes résultant de l'injection de la solution de l'acide acétique aux cobayes employés dans notre étude.

L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 15 min après l'injection de l'agent algogène (**Ouedraogo et al., 2012 ; Ochieng et al., 2013**).

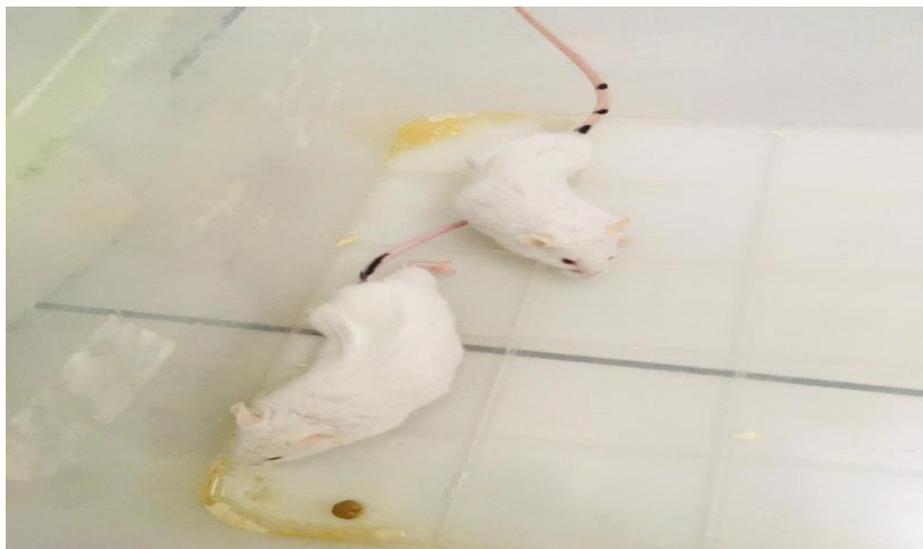


Figure 19: Photographie représentant les contorsions abdominales résultantes de l'injection de l'acide acétique à 1% aux souris.

II.5.1. Résultats du sexe mâle

Le **tableau X** représente le nombre de contorsions provoquées par l'injection de l'acide acétique 1% chez les différents lots du sexe mâle.

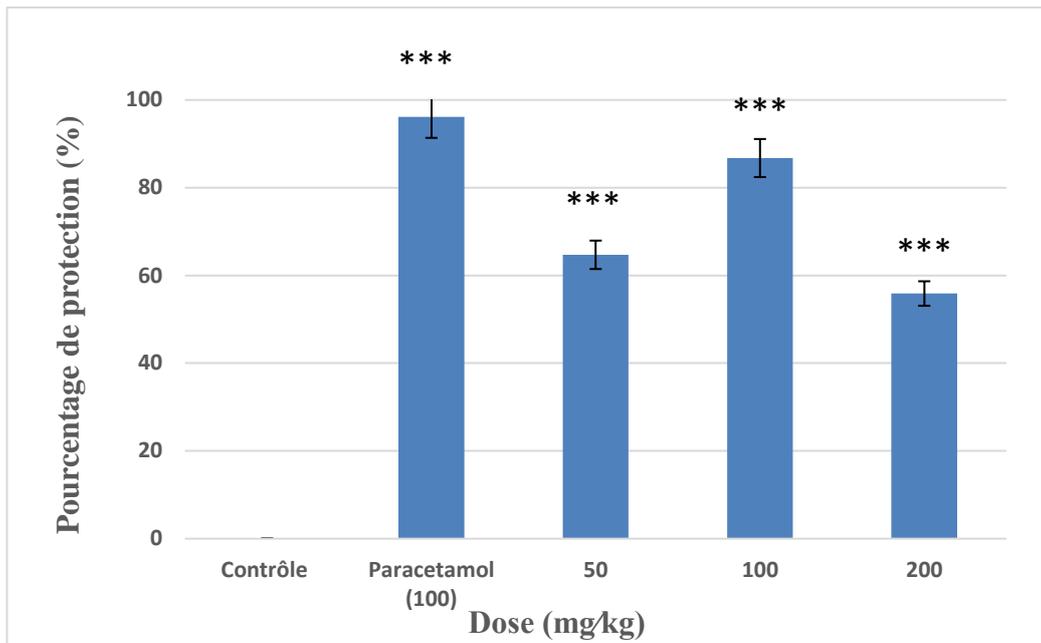
Tableau X : moyenne des crampes et le pourcentage de réduction de la douleur chez le sexe male en présence d'EEPT à différente dose du contrôle et en présence du produit thérapeutique.

Lots	Moyenne des crampes	Pourcentage de réduction de la douleur (%)
Contrôle	34	0
Standard	1	96.17
Lot 1 : 50mg/kg	12	64.70
Lot 2 : 100mg/kg	4.5	86.76
Lot 3 : 200mg/kg	24	55.88

Trente minutes après administration de la substance avec toutes les doses (**50, 100, 200 mg/kg**), on observe chez le lot mâle une protection contre les contorsions provoquées avec l'acide acétique hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au lot contrôle, cette protection reste inférieure au lot standard.

Après observation et d'après l'histogramme représenté en **figure 20**, les doses **50** et **100 mg/kg** ont montré respectivement une moyenne des contorsions de **12** et **4.5** crampes correspondantes aux pourcentages de protection contre la douleur de **64.70%** et **86.76%** respectivement et qui restent inférieurs au résultat du lot standard.

Le pourcentage de protection contre les douleurs provoquées par l'acide acétique pour la dose de **200mg/kg** est de **55.88%**, ce résultat est inférieur aux autres pourcentages et reste aussi inférieur au lot standard.



* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Figure 20 : Histogramme représentant le pourcentage de réduction de la douleur à différentes doses de l'extrait EEPT chez le sexe male.

Après 30 minutes d'administration, une différence significative a été notée entre les contorsions observées chez le lot traité avec le 100mg/kg paracétamol (standard) et le lot traité avec la même dose précédente en EEPT correspondant aux pourcentages d'inhibition respectifs de **96.17%** et de **86.76%** (Fig21).

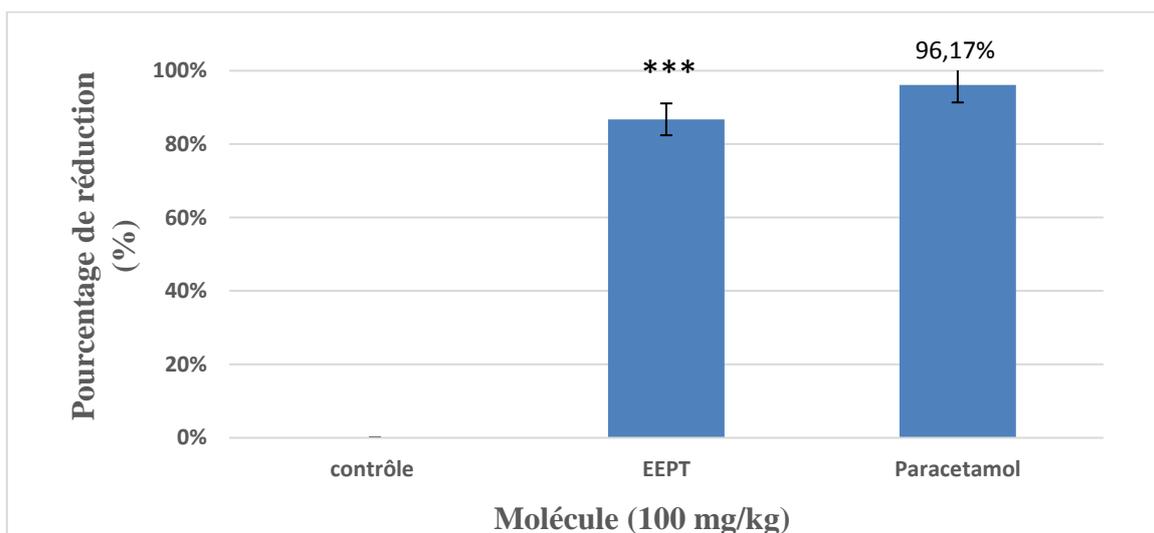


Figure 21 : Histogramme représentant la différence de pourcentage de réduction de la douleur entre le paracétamol et l'extrait EEPT à la dose de 100 mg/kg chez le sexe mâle.

II.5.2. Résultats du sexe femelle

Chez le lot femelle, on constate aussi un effet hautement significatif ($p \leq 0.001$) par rapport au lot contrôle qui reste inférieur à l'effet remarqué chez le lot standard ($p \leq 0.001$) (Tableau XI).

Tableau XI : moyenne des crampes et le pourcentage de réduction de la douleur chez le sexe femelle en présence de l'EEPT à différentes doses et du standard.

Lots	Moyennes des crampes	Pourcentage de réduction de la douleur (%)
Contrôle	34	0
Standard	1	96.17
Lot 1 : 50mg/kg	20	41.17
Lot 2 : 100mg/kg	8.5	75
Lot 3 : 200mg/kg	23.5	30

Après 30min d'administration de la substance, les doses de **50mg/kg et 100mg/kg** ont montré une moyenne des contorsions significativement inférieure à celle du lot standard et avec un pourcentage de protection contre la douleur qui était respectivement de **41.17%** et **75%**. De même que chez le sexe mâle, la dose de **200 mg/kg** a montré un pourcentage de réduction de la douleur plus inférieure que les autres doses (**50mg/kg et 100mg/kg**), avec un pourcentage de protection de **30%** qui reste aussi inférieur au lot standard (**96.17%**) (Fig 22).

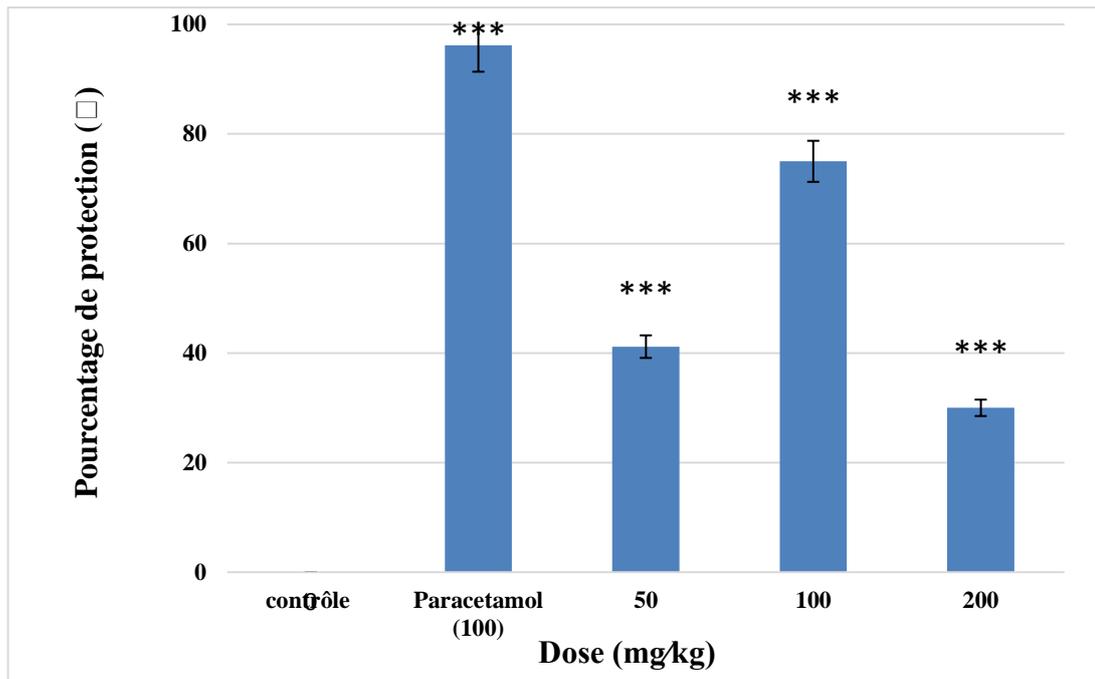


Figure 22: Histogramme représentant le pourcentage de réduction de la douleur à différentes dose de l'extrait EEPT chez le sexe femelle.

À la dose de 100mg/kg, le pourcentage de protection de la douleur chez le lot femelle a été enregistré d'une valeur de 75% et reste inférieur à celui enregistré avec le lot standard (Paracétamol) (96.17 %) (Tableau XII) (Fig 23).

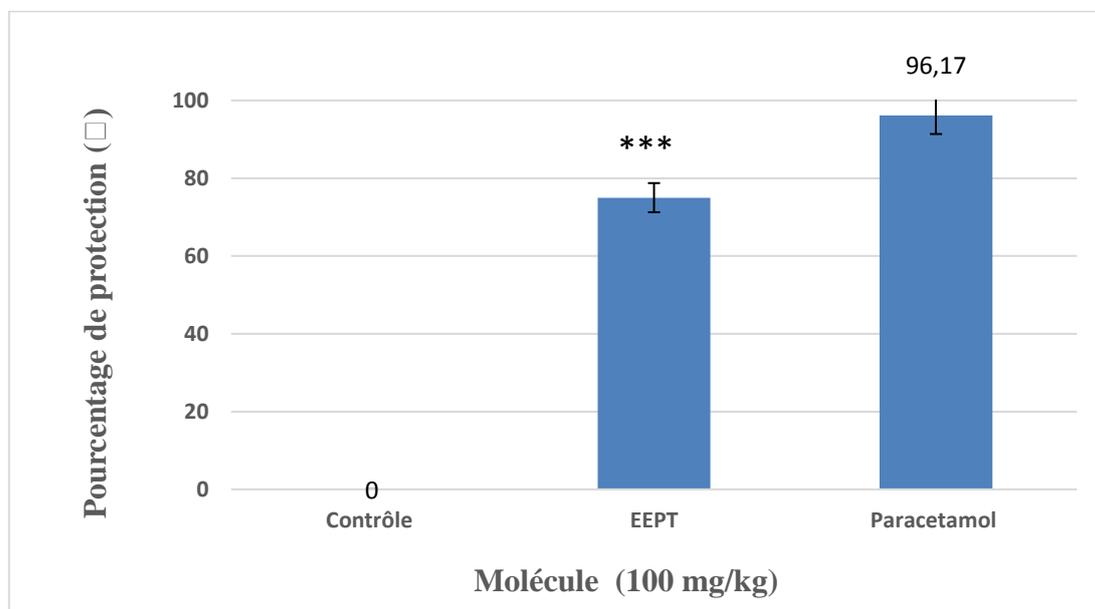
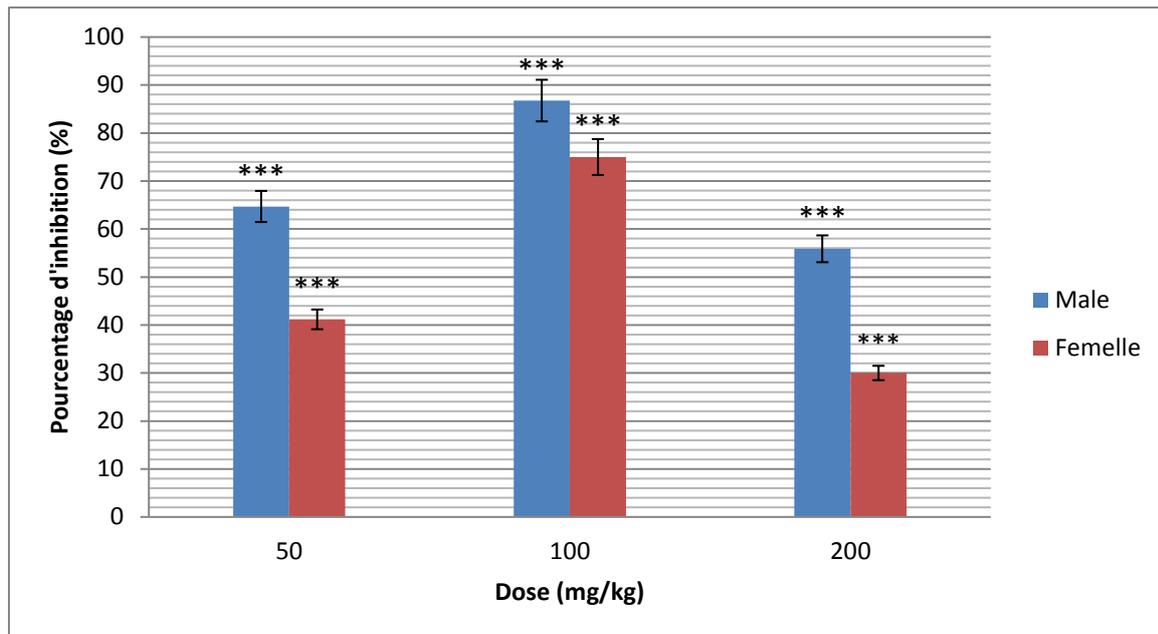


Figure 23: Histogramme représentant la différence de pourcentage de réduction de la douleur entre le paracétamol et l'extrait EEPT à la dose de 100 mg/kg chez le sexe femelle.

D'après nos résultats, l'effet analgésique de notre extrait EEPT est sexe dépendant (Fig 24).



* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Figure 24: Histogramme représentant le pourcentage de réduction de la douleur de l'extrait EEPT chez le sexe mâle et femelle.

Statistiquement, nos résultats montrent une significativité assez importante entre $p \leq 0.05$ et $p \leq 0.001$.

- **Discussion**

Cette étude a permis d'évaluer l'activité analgésique de l'extrait éthanolique des polyphénols totaux (EEPT) de la partie aérienne de *Fumaria agraria* en provoquant des contorsions abdominales induites par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique 1% en utilisant le test des crampes.

Le test du **Writhing** ou le test de contorsion abdominale est un test de screening. Il n'est pas spécifique à la douleur, car les substances anti-convulsivantes répondent également à ce test, mais il se caractérise par sa très bonne sensibilité (Brian et al., 2008). Il est très recommandé dans l'évaluation biologique des activités analgésiques (Muhammad et al., 2012). Les résultats du test ont montré que la fraction aqueuse de l'extrait éthanolique de *Fumaria agraria* exerce un effet inhibiteur de la douleur qui est induite par l'acide acétique 1% avec un pourcentage d'inhibition qui varie entre 30 et 86.75% chez les deux lots mâle et femelle. Ce résultat nous montre que l'extrait EEPT possède un effet antalgique mais qui reste inférieur à celui donné par le traitement (Paracétamol).

La douleur provoquée par l'administration de l'acide acétique est due à la libération des médiateurs chimiques via la cyclooxygénase (COX) telles la sérotonine, l'histamine, la bradykinine, la substance P et des prostaglandines (PGE₂ et PGF₂) (**Tijjani et al., 2012 ; Bhowmick et al., 2014; Diatta et al., 2014**). Ces médiateurs chimiques stimulent et sensibilisent les nocicepteurs cholinergiques et histaminiques péritonéaux et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire (**Frederico AV et al., 2009 ; Wantana R et al., 2009**). Les récepteurs péritonéaux locaux pourraient être la cause des contractions abdominales (**Krishnaraju et al., 2009**).

Le test à l'acide acétique permet la mise en évidence des effets analgésiques, mais ces effets sont non spécifiques (**Palomares C et al., 2015**) car il n'est pas possible d'indiquer si ce potentiel analgésique est le résultat d'une action périphérique ou centrale (**Eba J. O et al.**)

Il a été observé dans cette étude que l'extrait administré EEPT a inhibé les contractions abdominales de manière significative et dose dépendante. L'extrait de la partie aérienne de notre plante a un pouvoir analgésique qui pourrait être lié à l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques. Ce pouvoir analgésique reste inférieur à celui du lot standard qui a été traité avec du paracétamol. L'effet analgésique périphérique est généralement corrigé par des médicaments AINS agissant par inhibition de la cyclooxygénase et/ou de la lipo-oxygénase ou encore par inhibition de la réponse douloureuse produite par les nocicepteurs périphériques (**Matsui et al., 2012 ; Maione et al., 2017**). Pour cette raison, il est donc possible que notre extrait agisse par ce mécanisme, si bien que des études ultérieures pourront aider à comprendre le mécanisme d'action exacte de la plante d'étude.

Il est important de noter que l'effet inverse observé avec la dose de 200 mg/kg peut être expliqué par un effet de dose. Il est connu que la notion de dose est très critique et importante entre un effet thérapeutique et un effet toxique.

On peut prendre comme exemple la vitamine E qui est connue pour cet effet : la vitamine E (α -tocophérol) lorsqu'elle réagit avec les radicaux d'origine lipidique devient des entités radicalaires qui empêche le processus de peroxydation lipidique de se développer. Si le flux de radicaux libre formé est trop important, le radicale tocophéryl peut toutefois devenir pro-oxydant et contribuer ainsi à augmenter la peroxydation lipidique et jouer un rôle dans le développement l'athérosclérose (**Thomas et Stocker, 2000**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail, de type expérimental, s'inscrit dans le cadre de la recherche de substances bioactives dans le but de mettre en évidence de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement des maladies inflammatoires et notamment prévenir les effets secondaires issus des traitements par les AINS. En effet, nous nous sommes intéressés à la recherche de substances naturelles issues de la partie aérienne de *Fumaria agraria* employée traditionnellement.

Fumaria agraria, une espèce végétale de la famille des Fumariacées a fait l'objet de notre étude afin d'évaluer sa cytotoxicité, son effet anti-inflammatoire et antalgique.

L'extraction éthanolique par macération et Soxhlet des substances actives de la partie aérienne de notre plante, a révélé une richesse en ces métabolites. Le taux brut de l'extrait éthanolique enregistré par **macération** est de **7.96%** correspondant à un taux en polyphénols (après dosage colorimétrique) de **2885 ± 110.34 mg EAG/100g PS**, comparable au taux de l'extraction par **Soxhlet**, où le rendement massique était de **12.6%**, pour un taux en polyphénols de **468 ± 31.86 mg EAG /100 g PS**. De ces résultats on note que l'extraction des composés phénoliques est altérée par la méthode du Soxhlet.

L'extrait éthanolique des poly-phénols totaux « **EEPT** » issu de l'extraction par macération, représentant la meilleure teneur en composés phénoliques, a subi une évaluation biologique *in vivo* via la détermination des doses toxiques, l'étude d'un éventuel effet anti-inflammatoire et antalgique sur des souris *albinos* de souche BALB/C.

Les études de toxicité aiguë révèlent que l'extrait EEPT n'est ni mortelle, ni toxique, ni nocive à la dose **1000mg/kg** selon le système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques.

En effet, l'extrait EEPT supprime l'inflammation, induite par la carraghénane, chez les souris en réduisant le volume de l'œdème significativement (**p<0,001**, \approx **66.71%**) et d'une manière comparable à la molécule de référence, à savoir le Diclofénac (**50.71%**). L'effet inhibiteur a été exprimé par le poids de la patte avec une valeur de **43.97** qui est significativement (**p≤0,01**) supérieur à celui exprimé dans le lot traité d'ordre **17.67 ± 1.74**, **3.32 ± 1.39**, **25.52 ± 2.85** a des concentrations respectives de **50**, **100** et **200** mg/kg.

L'ensemble de ces résultats obtenus, *in-vivo*, ne constituent qu'une première étape dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de la plante étudiée, des essais complémentaires seraient nécessaires pour confirmer les performances mises en évidences.

Conclusion et perspectives

L'évaluation de l'activité analgésique par le test de contorsion a montré une efficacité analgésique de notre extrait EEPT, avec un pourcentage d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique compris entre **30 et 86.76%**.

Comparativement au paracétamol, molécule de référence utilisée en thérapeutique, l'extrait EEPT s'est révélé significativement moins analgésique.

Le test de contorsion utilisé pour l'évaluation de l'activité analgésique est un test non spécifique. C'est pourquoi, on pourrait déterminer ultérieurement le mode d'action analgésique (centrale ou périphérique) de la plante par des tests plus spécifiques comme le test au formaldéhyde.

D'un point de vue chimique, il serait intéressant d'entreprendre d'autres pharmacomodulations telle que : la caractérisation des métabolites actives de la plante.

Les résultats obtenus dans ce travail constituent des fondements solides, sous réserve des études toxicologiques (toxicité subaiguë et chronique) et pharmacocinétiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdulkhaleq, L. A. Assi, M. A. ; Abdullah, Rasedee ; Zamri-Saad, M. ; Taufiq-Yap, Y. H.; Hezme, M.N. M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World*, 11(5), 627–635.

Adrie A et Pinsky M R. (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med.* 26, 364 -375.

Aggarwal B B et Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol.* 71, 1397 -1421.

Ahmad, N.S., Waheed, A., Farman, M. and Qayyum, A. (2010). Analgesic and antiinflammatory effects of Pistaciaintegerrima extracts in mice. *Journal of Ethnopharmacology.* 129:250–253.

Ahmad H, Sherwani SK, Nisar W, Ahmad T, Shah S, Ahmad W and Ahmad Z. (2013). Self-medication with Antibiotics: General perspective among people in Peshawar and Mardan (two most populated cities of Khyber Pukhtoonkhwa-Pakistan). *Int J Pharm Sci Res;* 4(5); 1809-1814.

Ait youcef M. (2006) -Plantes médicinales de kabylie. Edition Ibis press. Paris. p149-150.

Akroum, S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse de doctorat. 125p.

Alam, A. (2011). Effects of forest management and climate change on energy biomass and timber production with implications for carbon stocks and net CO₂ exchange in boreal forest ecosystems. *Dissertation Forestales* 117. 88 p.

Allo, O., Blanc, P., & Dalmaso, M. A. (2005). Pharmacie galénique BP. Wolters Kluwer. France.

Alibert G., Ranjeva, R., Boudet, M.A. (1977). Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiology Vegetal.* 15, 279-301.

Angela Dispenzieri, Morie A. Gertz, Robert A. Kyle, Martha Q. Lacy, Mary F. Burritt, Terry M. Therneau, Philip R. Greipp, Thomas E. Witzig, John A. Lust, S. Vincent Rajkumar, Rafael Fonseca, Steven R. Zeldenrust, Christopher G.A. McGregor, and Allan S. Jaffe. (2004). Serum Cardiac Troponins and N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide: A Staging System for Primary Systemic Amyloidosis. *Journal of clinical oncology*, 22(18), 3751–3757.

Références bibliographiques

B

- Backonja, M. M., (2003).** Defining neuropathic pain. *Anesthetics analgesic*.97: 785- 790.
- Bahorun. T. (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agriculture Research Council, Réduit, Mauritius: 84-85.
- Barnes, Peter J. (1998).** Anti-inflammatory Actions of Glucocorticoids: Molecular Mechanisms. *Clinical Science*, 94(6), 557–572.
- Bartosikova , Necas, Suchy and Kubinova. (2003).** Antioxydative effects of morine in ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. *Drug and Chemical Toxicology*, 72, 87-94.
- Beg.S., Swain.S., Hasan.H., Barkat.M.A., MdSarfaraz .H. (2011).** Systematic review of herbals as potential anti-inflammatory agents: Recent advances, current clinical status and future perspectives. *Pharmacognosy Reviews* 5(10): 120-137.
- Behidj-benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., et Demmouche, K. (2013).** Screening phytochimique et évaluation de l’activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala L.* récoltées dans la région de M’sila. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 7(38) : 27-37.
- Benabdesselam, F; Chibane, M; Madani, K; Max, H; Adach, S. (2007).** Determination of isoquinoline alkaloids contents in two Algerian species of *Fumaria* (*Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardi*). *African Journal of Biotechnology*. 6 : 2487-2492.
- Ben Amor B. (2008).** Maîtrise de l’aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d’extractions de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC). Thèse de Doctorat en Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle. France. (pp-187).
- Bernard, B. (1997).** Dictionnaire : plante et champignon. Edition Estem : Editeur de livres médicaux. France. P : 349.
- Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. (1986).** Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur.
- Bharat B. Aggarwal; Kuzhuvilil B. Harikumar. (2009).** Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. ,41(1), 0–59.
- Bhowmick R, Sarwar S, Masudur S, Dewan R, Das A, Das B. (2014).** In vivo analgesic, antipyretic, and antiinflammatory potential in Swiss albino mice and in vitro thrombolytic activity of hydroalcoholic extract from *Litsea glutinosa* leaves. *Biol. Res.*, 47 : 1–8.
- Bidie. P., N’Guessan. B., Yapo. A.F., N’Guessan. J.D., Djaman. A.J. (2011).** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences et Nature*,

Références bibliographiques

8(1), pp: 1-11.

Blain, Jouzeau, Netter and Jeandel. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Revue de Médecine Interne*, 21, 978-88.

Blanco, O.M., Castedo., villaverde, I. (1993). Alkaloids from *platycapnos spicata*. *Phytochemistry*. (32), p: 1055-1057.

Bourkhiss. M., Hnach. M., Paoulini.J., Costa. J., Farah. A., Satrani.B. (2010). _Proprietes_anti- oxydantes_et_anti –inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinisarticulata*_Wahl_Masters_du_Maroc.

Botting R M et Botting J H. (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: Anoverview.*Clin Drug Investing*. 19, 1-7.

Bougoffa, K., Gontier, K., Lequart-Pillon, M., Ouadid-Ahidouch, H., Benabdesselam, F. (2015). Characterization of isoquinolin alkaloids from *Fumaria agraria* and evaluation of their antiproliferative activity against human breast cancer cell lines. *Phytothérapie*, 14:188- 195.

Bougoffa-Sadaoui, K., Maiza-Benabdesselam,F, Ouadid-Ahidoudcg, H. (2021). Antiproliferative activity of protopine extract from *Fumaria agraria* against human lung cancer cell lines. *Phytotherapie*,10 :2021-293.

Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felingera, A. (2010). Determination of polyphenolic compound by liquidchromatography–mass spectrometry in *Thymus* species.*Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.

Bouziid.W. (2008). Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire de Magistère. Université-El hadj Lakhder –Batna. p16.

Brian J. A. (2008). Review article, pediatric anesthesia, paracetamol (acetaminophen): mechanisms of action. Department of Anaesthesiology, University of Auckland, New Zealand, , 18: p 915-921.

Brossard, D., Charrueau, C., Chaumeil, J. C., Crauste-Manciet, S., & Le Hir, A. (2016). *Pharmacie Galénique: Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments*. ElsevierMasson.

Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 2ème édition, LavoisierTechniques & Documentation, Paris.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Brzozowska J., Hanower P., Tanguy J. (1973). Polyphenols des feuilles de cotonniers etinfluence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel. *Phytochemistry*.12, 2353- 2357.

Références bibliographiques

C

Cabrini, D.A., Moresco, H.H., Imazu, P., Silva, C.D., Pietrovski, E.F., Mendes, D.A.G.B., Prudente, A.S., Pizzolatti, M.G., Brighente, I.M.C., Fleithotuki, M. (2011). Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of Averrhoa 333 carambola L.in mice, Evid. Based Complement. Alternative Medecine. 2011, 1-7.

Carcelain G., Chevailler A., Fournal S., Gubler B., Lelièvre J. D., Seillès E., Vitte J. (2018). Immunologie fondamentale et immunopathologie . 2ème édition, de l'ASSIM : Collège des enseignants d'immunologie, Elsevier Masson SAS, France, pp. 26-30.

Catier O et Roux D. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Wolthers Kluner.p.85, 112.

Charpentier, B., et al., (2008). Guide du préparateur en pharmacie: Elsevier Masson.

Chabrier, J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation,UHP-Université Henri Poincaré).

ChungK., Wong T.Y., Wei C., Huang Y., Lin Y. (1998). Tannins and human health. Critical Reviews inFood Sciences and Nutrition. 38, 421-464.

Claire, K. (2006). Elaboration du projet de monographie" Schisandra (fruit de)" à la Pharmacopée française Xème édition (Doctoral dissertation).

Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Scheider C. (1968). The abdominal contraction response and its suppression by antinociceptive drugs in the mouse. British journal of pharmacology and chemotherapy; 32: 295-310.

Coste, H. (1937). Flore descriptive et illustré de la France, de la corse et des contées limitrophes. Paris : Ed Librairie des sciences et des arts. 191p.

Cowan M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Research. 12 (4), 564-582.

Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure andRole in the Human Diet. Ed. Blackwell Publishing Ltd.

Cushine T P T and Lamb A J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agent, 26,343-356.

D

Das H C, Wang J H and Lien E. (1994). Carcinogenecity and cancer preventing activities of flavonoides: astructure system-activity relation ship analysis. Journal of Food Engineering, 69, 133-136.

Das K, Tiwari R K S, Shrivastava D K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. Journal of Medicinal

Références bibliographiques

Plants Research, 4(2) : 104-111.

Dacosta, E. (2003). Les phytonutriments bioactifs, Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.

Debelmas, A.M., and Delaveau, P. (1978). Guide des plantes dangereuses .Edition Maloine, Paris (59).

Dejean, C., et Richard, D. (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. La Revue de médecine interne, 34(5) : 264-268.

Dellile, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Alger : Ed Berti.120-121p.

Delporte, G., Mascolo, N., Izzo, A. (1999). Life,Scien., 65(4), 337-53.

Deysson, G. (1979). Organisation et classification des plantes vasculaires, deuxièmes partie : systématique. EditionSedes. Paris. P : 277-279.

Diatta W, Sy GY, Manga CI, Diatta K, Dior A, Bassene E. (2014). Recherche des activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*(Lam) zepernick et timler (Rutaceae). International Journal of Biological Chemical Sciences.,8:128–133.

Dirou, S. and Voiriot, G. (2015). Anti-inflammatoires et pneumonie aiguë communautaire. Revue des Maladies Respiratoires, 32, 841-844.

Djabou, N., (2006). “Sambucus nigra L., une plante de la pharmacopée traditionnelle du nord africaine”, Thèse de magister en chimie organique appliquée, Faculté des Sciences - Département de Chimie, université Abou Bakr Belkaid - Tlemcen, 123p.

Drieu A. (2018). La neuroinflammation ”invisible” dans les atteintes cérébrales aigüe et chronique. Thèse de doctorat, université de Caen Normandie, France, p.18.

D.Y. (1999). Structure-activity relationships of quaternary protoberberine alkaloids having an antimicrobial activity. European Journal of Medicinal Chemistry. 34: 1077- 1083.

E

Eba J. O. évaluation de l'efficacité, l'innocuité et la qualité du remède SERANTA. Université Félix Houphouët-Boigny abidjan-cocody.117p

E.C. Bate-Smith⁰ (1973). *Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency.* ,12(4), 907–912.

Edeas M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. Phytothérapie, 5, 264- 270.

Edenharder R., et Grünhage D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. Mutation Research. 540, 1–18.

Références bibliographiques

Eming S A, Krieg T, Davidson J M O (2007). *Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms*. Journal of Investigative Dermatology, 127, 514– 525.

F

Febvre-James M. (2019). Effets régulateurs du ruxolitinib sur l'expression de marqueurs de l'inflammation et de protéines de détoxification des médicaments. Thèse de doctorat, université Rennes 1.p185.

Formica J V and Regelson W. (1995). Review of the biology of quercetine and related bioflavonoids. Food and Chemical Toxicology Journal, 33, 1061-1080.

Fougère B J et Wynn S G. (2007). Herb manufacture, pharmacy and dosing. In: Veterinary herbal medicine,ed. Mosby Elsevier, St Louis, p. 221-236.

Fourasté, I. (2000). Rappel de la toxicité de quelques plantes. Revue française des laboratoires, vol 2000, Issue 323. p51-55.

Frederico, A.V., Higor, F.L., Elson, A.C., et al. (2009). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale L.*, Brazil. Journal of Pharmaceut Science 45: 437-442

G

Garcia-Salas, Patricia; Morales-Soto, Aranzazu; Segura-Carretero, Antonio; Fernández-Gutiérrez, Alberto. (2010). *Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples*. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.

Gausson, H., Leryo, J.F., Ozendo, P. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs. 2^{ème} édition Edit Masson, Paris.p:243-244.

G. Ribéreau-Gayon. (1968). Etude des mécanismes de synthèse et de transformation de l'acide malique, de l'acide tartrique et de l'acide citrique chez *Vitis vinifera L.* , 7(9), 1471–1482.

Giftson, J.S., Jayanthi, S., Nalini, N. (2010). Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1,2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, vol. 28, pp. 251-259.

Glombitza, K. W., Gerstberger, G. (1985). *Phytochemistry* (Elsevier). p24, 543- 551.

Goetz,p,Ghedira,K,et Le jeune,R. (2009).*Fumaria officinalis L (Fumariaceae) phytothérapie(7) .p :221-225.*

Guignard, J.L. (1998). Abrégé de botanique, Edition Masson Elsevier. Paris. 212p.

Guignard, J. (1996). Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris, 1996, pp. 175-192.

Références bibliographiques

Guilpain.P et Le Jeune.C. (2012). Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *Presse Médicale* 41: 378-383.

H

HADDOUCHI. F., CHAOUICHE T. M., KSOURI. R., et al. (2014). Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese Journal of Natural Medicines* 12(6), 415–22.

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry, Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).

HALLIMI A. (2004). Les plantes médicinales en Algérie. Ed, Berti, Algérie. Pp42.

Harborne, J.B. (1980). Plant Phenolics, *Encyclopedia of Plant Physiology*, New series, p8, 329 -402.

Harbone J.B. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed; Academic Press: London.

Haslam E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*. 59, 205-215.

Hatano T., Kusuda M., Inada K., Ogawa T.O., Shiota S., Tsuchiya T., Yoshida T. (2005). Effects of tannins and related poly phenols on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 66, 2047–2055.

Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeut.* p96, 67– 202.

Heimeur N., Idrissi Hassani L.M., et Amine Serghini M. (2004). Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (*Rosaceae*). *Reviews in Biology and Biotechnology*. 3 (1), 37-42.

Hellal.M. (2007). Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. Université Louis Pasteur (Strasbourg I).

Hennebelle T., Sahpaz S., et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiels dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 1, 3-6.

Henzen C. (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442-446.

Hogan S P, Rosenberg H F, Moqbel R, Phipps S, Foster P S, Lacy P, Kay A B, Rothenberg M E. (2008). Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy*, 38, 709–750.

Références bibliographiques

I

Iwalewa E O, McGaw L J, Naidoo V, Eloff J N. (2007). Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology* 6(25).

Iwasa, K., Moriyasu, M., Tachibana, Y., Kim, H.S., Wataya, Y., Wiegrede, W., Bastow, F.K., Cosentino, M., Kozuka, M., Lee, H.K. (2001). Simple isoquinoline and benzyloisoquinoline alkaloids as potential Antimicrobial, Antimalarial, Cytotoxic and AntiHIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (9):2871-2884

Iwasa, K., Nishiyama, Y., Ichimaru, M., Moriyasu, M., Kim, H.S., Wataya, Y., Yamori, T., Takacshi, T., Lee, Venkateswara Rao, C., Verma, A.R., Gupta, P.K., Vijayakumar, M. (2007). Antiinflammatory and anti- nociceptive activities of *Fumaria indica* whole plant extraction experimental animals. *Acta Pharm* (57).491-498.

J

Jamilloux, Yvan; Henry, Thomas. (2013). *Les inflammasomes. médecine/sciences*, 29(11), 975– 984.

Janeway C A, Travers P, Walport M et Shlomchik M. (2001). An introduction to immunobiology and innate immunity. In *Immunology*, 5th edition, (New York), pp: 347 - 380.

Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins, *Revue de Médecine Vétérinaire*. p149, 911 920.

Joffre J., Pirracchio R., & Legrand M. (2020). Réponse de l'endothélium microvasculaire à l'inflammation aiguë. *Anesthésie & Réanimation*, (6): 493-499.

K

Kablan BJ, Adiko M, Abrogoua DP. (2008). Évolution in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte-d'Ivoire. *Phytothérapie* 6(5):282–288 .

Kada S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat, université Ferhat Abbas Sétif 1, 158 p.

Kang J, Khan M, Park N, Cho J, Fujii H, Hong Y. (2008). Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of the seaweed *Sargassum fulvellum* and *Sargassum thunbergii* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*., 116 : 187–190.

Khamtache-Abderrahim S. (2017). Caractérisation des fractions alcaloïdiques de *Fumaria officinalis* et étude de leurs activités biologiques. Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en science. Filière Sciences Biologiques, Université A. Mira-Bejaia, p.27.

Références bibliographiques

Kim H P, Son K H, Chang H W and kong S S. (2004). Antiinflammatory plant flavonoids and cellularaction macanism. J Pharmaco .Sci, 96, 229-254.

Köhler O., Krogh J., Mors O., Benro M. E. (2016). Inflammation in Depression and the Potential for Anti-Inflammatory Treatment. CurrentNeuropharmacology, 14: 732- 742.

Koprivnjak T. et A. Pesche. L. (2011). Bacterial resistance mechanisms against host defense peptides.Cellular and Molecular Life Sciences, 68, 2243-2254.

Koster R Anderson M, De Beer J. (1951). Acetic acid for analgesic screening Federation Proceedings; 18: 412-7.

Kresec, O., Richard, J., Brusserolles, J., Guastella, V. and Eschalier, A. (2007).composante centrale del'effet antalgique des AINS. Douleur et analgésie 20:1-9.

Krishnaraju AV, Rao CBM, Sundararaju D, Sengupta K, Trimurtulu G. (2009). Antiinflammatory activity of Vitex leucoxyylon l . Bark extracts against freund's complete adjuvant induced arthritis in sprague dawley rat. Am. J. Infect. Dis., 5 : 68–73. DOI : V. O. EMBEYA et G. N. MAVUNGU / International Journal of Biological and Chemical Sciences., 13(7): 3066-3078, 2019 3077.

Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C., et Abdelly C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiology and Biochemistry.45, 244-249.

Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell. (2007). *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition, 20-60.

L

Lagnika, L. (2005). “Etude phytochimique et activité biologique des substances naturelles isolées de plantes Béninoises”, Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, université Louis Pasteur Strasbourg, 268p.

Lansky, E.P., Harrison, G., Fromm, P., Jiang, W. G. (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. Investigated New Drugs, vol. 23, pp. 121-2.

Laraoui, H. (2007). Etude phyotchimique L'extrait chloroformique de *Bupleurumatlanticum*, Docteur de l'université Louis pasteur Chimie Organique.

Larousse. (2002). Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins, Edition Bordas. P : 213.

Lee YY, Saba E, Irfan M, Kim M, Chan JY, Jeon BS, Choi SK. (2018). The anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of Korean black ginseng. Phymed., 54: 169-181.

Leong L.P., et Shui G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. FoodChemistry. 76, 69-75.

Références bibliographiques

Le Hir, H. (2001). Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments, pp 1-394, 8^{ème} Edition, Edition Masson,.

Liden, M., Fukuhara, T., Rylander, J., Oxelman, B. (1997). Phylogeny and classification of Fumariaceae, with Emphasis on *Dicentra* S.I. based on the plastid gene RPS. *Plant Systematics and Evolution*, (206):411-420.

Liden, M. (1986). Synopsis of Fumarioideae (Papaveraceae) with a monograph of the tribe Fumariaceae. *OperaBotanica*. (88), p: 1-133.

Li K, Geng, Simonsen J and Karchesy0 (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 24, 327-333.

Lenka Grycová; Jiří Dostál; Radek Marek. (2007). *Quaternary protoberberine alkaloids*. *Journal of phytochemistry* , 68(2), 150–175.

Loche J. (1966). Contribution à l'étude des polyphénols de la plante de tabac (Seita, ed). *Ann de la direction des études et de l'équipement, France*, 3 : 15.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes, 2005, pp. 4-5.

Maione F, Cantone V, Simona P, Chini MG, Bisio A, Romussi G, Pieretti S, Werz O, Koeberle A, Mascolo N, Bifulco G. (2017). Anti-inflammatory and analgesic activity of carnosol and carnosic acid in vivo, in vitro and in silico analysis of their target interactions. *British Journal of Pharmacology*., 174 : 1497–1508.

Male D, Roitt Y, Brostoff J, Roth D B. (2007). Mécanisme de l'immunité innée. In: *Immunologie*. Eds, Masson (France), p: 155.

Marc Talbert et Gerard Willoquet. (2001). Guide Pharmaco : pharmaciens et étudiants en pharmacie, pp 25-44, Editions Lamarre, 3^{ème} édition.

Marie-Josèphe D J. (2011). Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, p 33.

Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., et Ferreira, I. C. (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida species*. *Industrial Crops and Products*, 74(2): 648-670.

Références bibliographiques

- Matsui M, Adib-Conquy M, Coste A, KumarRoine S, Pipy B, Laurent D, Pauillac S. (2012).** Aqueous extract of *Vitex trifolia* L. (Labiatae) inhibits LPS-dependent regulation of inflammatory mediators in RAW 264. 7 macrophages through inhibition of Nuclear Factor kappa B translocation and expression. *Journal of Ethnopharmacology.*, 143 : 24–32.
- MAURICE N. (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p12-14.
- Mbodj NA. (2003).** Etude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques, et hexaniques de *Vernonia colorata* (Willd.) Drake composées chez les rats wistars. Thèse de docteur, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, p.57.
- Mebirouk R. (2017).** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helixaspera* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri Constantine. 137 p.
- Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 454: 428-435.
- Medzhitov, R. (2010).** Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6) : 771-776.
- Belmouhoub M., Bribi N., et Iguer-ouada M. (2017).** Alpha-glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of flavonoids rich fractions of *Rosmarinus officinalis* in normal and streptozotocin diabetic mice. Institute of Korean Medicine, Kyung Hee University and Springer Science+Business Media Dordrecht. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine.* 17:29–39.
- Middleton E., Kandaswami C., et Theoharides T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews.* 52,673-839.
- Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I.
- Mueller-Harvey, I. (2001).** Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science Technology.* p91, 3-20.
- Mueller-Harvey, I., Mc Allan, A.B. (1992).** Tannins: their biochemistry and nutritional properties, *Advanced Plant Cell in Biochemistry and Biotechnology.* p1, 151-217.
- Muhammad N, Saeed M, Khan H. (2012).** Antipyretic, analgesic and antiinflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant. *Complementary Alternative Medecine.*, 12 : 1–8.
- Mukohata Y., Nakabayashi S., et Higashida M. (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *Journals in Biochemistry.* 85: 215– 218.
- Muster, D. (2005).** Médicaments de l'inflammation. Anti-inflammatory drugs. EMC

Références bibliographiques

Stomatologie 1:21–29.

N

Naczk M., F. et Shahidi. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.

Naczk, M. and Shahidi, F. (2006). Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables: Occurrence, Extraction and Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523-1542.

Nathan C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.

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

Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D.E., Boelens P.G., Norren K., et Leeuwen P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74, 418–425.

Nitsch J.P., et Nitsch C. (1961). Synergistes naturels des auxines et des gibberellines. *Bulletin de la Société de France*. 26, 2237-2240.

Nunes.C.D.R., Arantes.M.B., Menezes de Faria Pereira.S., Leandro da Cruz.L., Passos.M.D.S., Pereira de Moraes.L., Vieira.I.J.C., Barros de Oliveira.D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules* 25 :3725 1-22.

O

Ochieng CO, Ishola IO, Opiyo SA, Manguro LAO, Owuor PO, Wong KC. (2013). Phytoecdysteroids from the Stem Bark of *Vitex doniana* and Their AntiInflammatory Effects. *Planta Med.*, 79 : 52–59.

OGUNDAR, A. O., OLADEJO, B. O. (2014). Antibacterial Activities of the Leaf and Bark Extract of *Persea Americana*. *American Journal of Ethnomedicine*, 1, 06444- 071.

Okamura H, Mimura A and Yakou Y. (1993). Antioxydant activity of Tannins and flavonoid in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochem*, 33, 557-561.

Okombe Embeya et Nzuzi Mavungu. (2019). Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium sativum* L.). *Journal of Applied Biosciences.*, 141: 14419 – 14425. ISSN 1997-5902.

Oliver J. A. (1986). Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. In *Chemicals Testing and Animal Welfare* (The National Chemicals Inspectorate). Sweden : Solna.P. 119-142.

Références bibliographiques

Orhan. I., Senar. B., Musharraf. SG. (2010). Antioxydant and hepatoprptective activity appraisal of four selected Fumaria species and their total phenol and flavonoid quantities. *Exp Toxic Patho*, 64, pp: 205-209.

Orliaguet.G., Gall.O., Benabess-Lambert.F. (2013).Nouveautés concernant les antiinflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens .mapar .557-571.

Ouedraogo N, Lompo M, Sawadogo RW, Tibiri A, Hay AE, Koudou J, Dijoux MG, Guissou IP. (2012). Pharmacognosie Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae).

Ozenda, P. (1991). Flore de Sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris. Editions du CNRS.

P

Palomares C. (2015). Université de Lorraine 2015 thèse de pharmacie : le safran, précieux médicament ? Avril 2015 ; 142 p

Pandey, K.B et Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *OxidativeMedicine and Cellular Longevity*, vol. 2, pp. 270 - 278.

Parimisetty A. (2015). Anti-inflammatory properties of factors produced by the fat tissue-potentialapplications in neurodegeneration. Thèse de doctorat, université de La Réunion, France, p. 38.

Penchev Petko I. (2010). Etude des procédé d'extraction et de purification de produit bioactifs à partir de plantes par couplage de technique séparatives à basses et hautes pressions. P129.

Penn, N.W. (1995). Potentiation of morphine analgesic action in mice by beta-carotene. *European Journal of Pharmacology*. 284: 191–193.

Perrot, E., and Paris, R. (1974). Les Plantes Médicinales. Edition P.U. F, Paris 2 : 85-91.

Pillon.F. (2014). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *pratiquepratique* . 43-46.

Porter, L. J. (1989). *Methods in Plant Biochemistry*. p1, 389-419.

R

Rahmani, S., Cheriti, A., Belboukhari, N., et Sekkoum, K. (2016). evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *limoniastrum feei* (*plumbaginacea*). *Algerian Journal of Arid Environment "ajae"*, 6(1), 80-86.

Rakotondramasy-Rabesiaka, L ; Havet, J.L ; Porte, C et Fauduet, H. (2007). Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.—Analysis determination, kinetic reaction and model building. *Separation and PurificationTechnology*, 54 : 253–261.

Références bibliographiques

Rankin JA (2004). Biological mediators of acute inflammation. AACN Clin Issues, 15, 3-17.

Ravelo-Calzado YV, Molina-Cuevas S, Jimenez-Despaine Y, et al. (2011). Effects of D-002 on xylene-induced oedema in ear mice. Revista CENIC Sci 42:13–16.

Raynaude, J. (2005). La Fumeterre (Fumaria officinalis). Institut Européen des substances végétales. 2p.

S

Saeed, S., Gilani, A., Majoo, R., & Shah, B. (1997). Anti-thrombotic and anti-inflammatory activities of protopine. Pharmacological research, 36(1), 1-7.

Sanchez-Munoz, F; Dominguez-Lopez, A; Yamamoto-Furusho, JK. (2008). Role of cytokines in inflammatory bowel disease. World Journal of Gastroenterology. 14: 4280-4288.

Sarmi-Manchado P. et Cheymer V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. Pp2- 10.

Schnebelen C, Viau S, Grégoire S, Joffre C, Creuzot-Garcher CP, Bron AM, Bretillon L, Acar N. (2009). Ophthalmic Res. 41(4): 216-24. Epub 2009 May 15.

Schwager, S., Detmar, M. (2019). *Inflammation_and_Lymphatic_Function*. Institute of Pharmaceutical Sciences, Swiss Federal Institute of Technology, ETH Zurich, Zurich, Switzerland. 10:308.

SCHWARTZ K. (2011). Inflammations et maladies: clés de compréhension. Inserm, 74p.

Schwartz, C., Eberle, J. U., et Voehringer, D. (2016). Basophils in inflammation. European journal of pharmacology, 778(10) 90-95.

Scott, A., Khan, K. M., Cook, J. L., & Duronio, V. (2004). *What is inflammation? Are we ready to move beyond Celsus?*. British journal of sports medicine, 38(3), 248-249.

Sergeant N., B. Sablonnière, S. Schraen-Maschke, A. Ghestem, C.-A. Maurage, A. Wattez P. Vermersch et A. Delacourte0 (2001). Dysregulation of human brain microtubule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. Human molecular genetics, 10, 2143-2155.

Shahid I, Bhangar M.I. (2006). Effect of season and production location on antioxidant activity of Moringa oleifera leaves growing in Pakistan. Journal of Food Composition and Analysis, (19):544-551.

Shakeri, F., Rostamian, V. and Estakhr, J. (2012). Analgesic Properties of Methanolic Extract of Matricaria recutita in Rats in both Acute and Chronic Pains. Asian Journal of Medical Sciences. 4(4):152– 155.

Singleton, V.L. et al. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in enzymology 299, 152-178.

Références bibliographiques

- Song, L. S., Ren, G. J., Chen, Z. L., Chen, Z. H., Zhou, Z. N., & Cheng, H. (2000).** Electrophysiological effects of protopine in cardiac myocytes: inhibition of multiple cation channel currents. *British journal of pharmacology*, 129(5),893-900.
- Souseck, K.J., Valesova, M. (1999).** Chemical components of genus *Fumaria*. *Phytochemical Analysis*, (89): 489-500.
- Sousek, K.J., Guedon, D., Adam, T., Bochorakova, H., Taborska, E., Valka, I. et Simanek, A. (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*. (10), p: 6-11.
- Stahl E, Dumont E, Jork H, Kraus L.J, Rozumek K.E, Schorn P.J. (1975) -** Analyse Chromatographique et Microscopique des drogues- Manuel pratique pour les pharmacopées, Entreprises Moderne. Edition Techniques et Documentation, Paris, p: 23- 31.
- Stein, C., Schafer, M. and Hassan, A.H. (1995).** Peripheral opioid receptors. *Annals of medicine* 27:219-221.
- Sturm, S., Stasser, E.M. et Stuppner, H. (2006).** Quantification of *F.officinalis*isoquinoline alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresiselectrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 2 (11): 331-338.
- Suau R, Cabezudo B, Rico R, Najera F , Lopez-Romero J M. (2002) -**Direct Determination of Alkaloid Contents in *Fumaria* Species by GC-MS. *Phytochemical analysis*. p363-367.
- Suzuki K, et al. (2001) .**The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of APG genes is essential for autophagosome formation. *EMBO : European Molecular Biology organization Journal* 20(21):5971-81.

T

- Tahrouch S, Audary C, Rapior S, Moudolot L, Gargadenneca and Fruchner A. (2000).** Polyphenol investigation of *Argania spinosa* (Sapotaceae) endemic tree from Morocco. *Acta Botanica Gallica*, 147(3), 225-232.
- Thomas S.R & Stocker R. (2000) -** Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*. (28), p: 805-1795.
- Tijjani MA, Abdurahaman FI, Khan IZ, Sandabe UK. (2012).** The Effects of ethanolic extract of *Vitex doniana* stem bark on peripheral and central nervous system of laboratory animals. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, 02 : 74–79.
- Tsutomu Hatano; Miwako Kusuda; Kazutoshi Inada; Tomo-omi Ogawa; Sumiko Shiota; Tomofusa Tsuchiya; Takashi Yoshida. (2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. , 66(17), 2047–2055.

Références bibliographiques

Tsimogiannins D.I., Oreopoulou,V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science Emerging Technologies*.7, 140-146. *Medicine Articles*.

V

Valnet, J. (2001). *Phytothérapie*, 6^{em} édition, Vigot éd. Paris, p : 348.

Vergara-Salinas, J., Pérez-Jiménez, J., Torres, J., Agosin, E. and Pérez-Correa, J.R. (2012). Effects of Temperature and Time on Polyphenolic Content and Antioxidant Activity in The Pressurized Hot Water Extraction of Deodorized Thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10920-10929.

V Stankov, S. (2012). Definition of inflammation, causes of inflammation and possible antiinflammatory strategies. *The open inflammation journal*, 5(1).

W

Wagner J G et Roth R A. (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev.* 52, 349-374

Wagner D D. (2005). New links between inflammation and thrombosis. *ArteriosclerThrombVascBiol*; 25:1321-4.

Wantana R, Tassanee N, Subhadhirasakul S. (2009) Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *J Nat Med* 63: 290–6.

Weill, B., Batteux, F. (2003). *Immunopathologie et réaction inflammatoires*. 1^{re} Édition, De Boeck etLarcier ISBN : 2- 8041- 4177-2 Université Bruxelles : 12-23.

Wichtl, M., and Anton, R. (2003). *Science et thérapeutique. Plante thérapeutique. tradition, pratique officinale*, 2^{émé} Edit Lavoisier, Paris : 112.

Winter C. A., Risley E. A., Nuss G.W. (1962). Carrageenin-induced oedem in hind paw of the rats as an assay of anti-inflammatory drug. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* ,111: 544-547.

Y

YaoL.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., et Chen S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant Food for Human Nutrition*.59 ,113-122.

Yochum L, Kusli L, Meyer K and Folsom A. (1999). Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *American Journal Epiderma*,149, 943-949.

Références bibliographiques

Z

Zatta P., Zambenedetti P. et al. (2004). A fatal case of aluminium encephalopathy in a patient with severe chronic renal failure not on dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 19(11): 2929-2

Annexes

Annexe 1 : Le Matériel et les produits utilisés pendant la partie pratique

1. Matériels

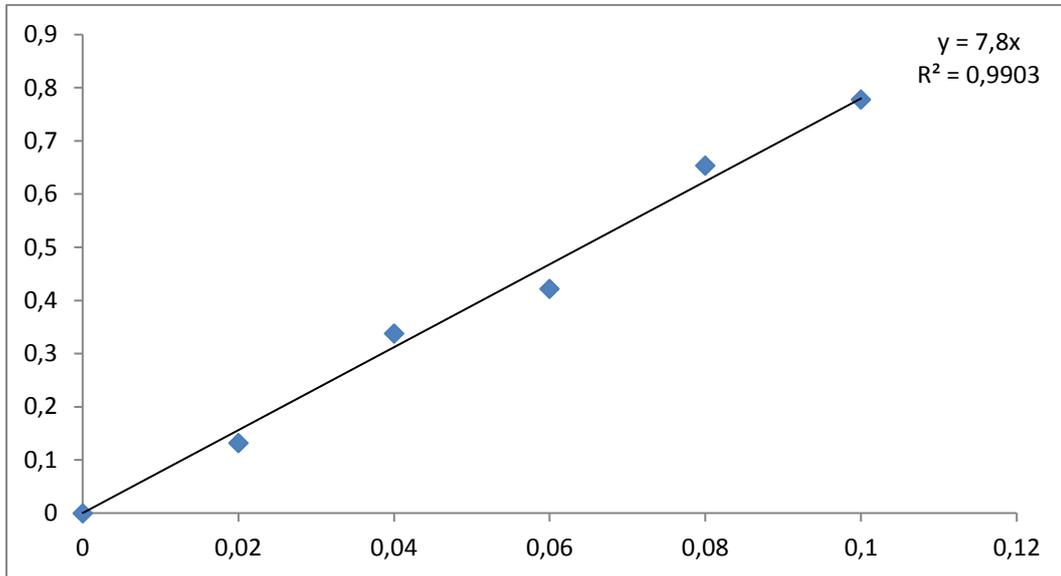
- Agitateur magnétique
- Ampoule à décanter
- Balance analytique RADWAG
- Balance de précision RADWAG
- Ballons
- Barreaux magnétiques
- Bêchers
- Boîtes de pétries
- Broyeur électrique
- Cages
- Ciseaux et pinces
- Cristalliseur
- Erlenmeyer en verre
- Entonnoirs
- Ependorfs
- Eprovettes
- Etuve ventilée WTC binder
- Hotte
- Gants chirurgicaux
- Micropipette 100-1000 μ l
- Papier absorbant
- Papier aluminium
- Papier filtre Wattman
- Paraffine
- PH mètre
- Plaque agitatrice
- Pissette
- Réfrigérateur
- Seringue d'insuline et seringue de 5ml et 2,5ml
- Sonde de gavage
- Soxhlet Gerhardt

- Spatules métalliques
- Spectrophotomètre UV-VIS (SHIMADZU 1240 MINI)
- Tubes à essai en verre
- Trousse à dissection contenant, des aiguilles, des pinces hémostatiques, la paire de ciseaux fins, de gros ciseaux, aiguilles de fixation ect...
- Vortex

2. Réactifs

- Acide acétique à 100%
- Acide chlorhydrique (HCl) à 37%
- Acide gallique (C₇H₆O₅)
- Alcool
- Ammoniaque
- Carbonate de sodium (Na₂CO₃)
- Carragenine
- Chloroforme
- Eau distillée (H₂O)
- Eau physiologique
- Ethanol à 96% (C₂H₆O)
- Ether de pétrole
- Folin Ciocalteu
- Paraffine
- Xylène

Annexe 02 : Courbe d'étalonnage représentant la teneur en polyphénols totaux (exprimée en mg EAG/100g PS) :



Glossaire

Glossaire

Phytothérapie : Traitement médicale par l'emploi des plantes médicinales comme remèdes.

Un métabolite secondaire : est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Ce dernier est indispensable à la nutrition, il assure la croissance, le développement d'un organisme. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les sucres ou les acides nucléiques, par exemple.

Les alcaloïdes : sont des molécules organiques hétérocycliques azotées basiques pouvant avoir une activité pharmacologique. Se sont des substances alcalines azotées d'origine végétale.

Les polyphénols : constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

La macération : est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe de ce liquide afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose.

Antifongique : médicament actif contre les champignons.

Anticancéreuse : médicament utilisé pour traiter le cancer

Antipyrétique : médicament utilisé pour traiter la fièvre

Antimicrobiens : médicament utilisé pour traiter des maladies microbiennes.

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

Antioxydant : une substance qui lutte contre le stress oxydatif, protègent la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêchent l'altération des composés organiques.

Antispasmodiques : médicament destiné à faire baisser la tension et soulagent les spasmes musculaires.

Antalgique : sont des substances qui calme les douleurs.

Antimicrobien : est une famille de substances qui tuent (bactéricide) ou ralentissent (bactériostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les

mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire).

DL-50 : La dose létale médiane (DL50), ou concentration létale médiane (CL50), est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance.

Adhésion cellulaire: L'ensemble des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en œuvre pour faire adhérer les cellules entre elles ou avec le milieu qui les entoure.

Lipoprotéines: Protéines présentes dans le plasma, constituées de l'apolipoprotéine, de cholestérol, de triglycérides et de phospholipides.

Vasodilatation: Augmentation du diamètre des vaisseaux sanguins par dilatation.

Diurétique : Un diurétique est une substance qui augmente la sécrétion urinaire.

Exsudats : Liquides organiques qui suintent au niveau d'une surface enflammée

Œdème pulmonaire : une accumulation de liquide dans les alvéoles pulmonaire

Résumé

Fumaria agraria, appartenant à la famille des Fumariacées et qui pousse dans les régions méditerranéennes, est caractérisée par son usage thérapeutique contre diverses maladies dont celles liées à l'inflammation. Notre étude s'est intéressée à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, antalgique et l'effet toxique d'extrait aqueux de la partie aérienne de *Fumaria agraria*, *in vivo*. L'examen phytochimique qualitatif réalisé sur cet extrait montre la richesse de la plante en composés phénoliques. D'une autre part, l'extrait aqueux de *F. agraria* ne présente aucun signe de toxicité remarquable, à la concentration de 1000 mg/kg, dans le test de toxicité aiguë. L'évaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Fumaria agraria* a montré une réduction du volume d'œdème significative avec une inhibition maximale de 66.17%. Le test pharmacologique réalisé *in vivo* chez les souris BALB/C, a montré que l'extrait aqueux de *F. agraria* possède une activité antalgique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses, avec un pourcentage d'inhibition maximale de 86.76%, 75% chez le sexe mâle et femelle respectivement, dépendant à la concentration de 100 mg/kg.

Mots clés : *Fumaria agraria*, composés phénoliques, extrait aqueux, activité anti-inflammatoire, toxicité, activité antalgique

Abstract

Fumaria agraria, belonging to the Fumariaceae family and which grows in the Mediterranean regions, is characterized by its therapeutic use against various diseases including those related to inflammation. Our study was interested in the evaluation of the anti-inflammatory, analgesic activity and the toxic effect of aqueous extract of the aerial part of *Fumaria agraria*, *in vivo*. The qualitative phytochemical examination carried out on this extract shows the richness of the plant in phenolic compounds. On the other hand, the aqueous extract of *F. agraria* does not show any sign of remarkable toxicity, at the concentration of 1000 mg/kg, in the acute toxicity test. The *in vivo* evaluation of the anti-inflammatory activity of the aqueous extract of the aerial part of *Fumaria agraria* showed a significant reduction in the volume of edema with a maximum inhibition of 66.17%. The pharmacological test carried out *in vivo* in BALB/C mice showed that the aqueous extract of *F. agraria* has significant analgesic activity by reducing the number of abdominal contortions at all doses, with a maximum inhibition percentage of 86.76 %, 75% in male and female sex respectively, depending on the concentration of 100 mg/kg.

Key words: *Fumaria agraria*, phenolic compounds, aqueous extract, anti-inflammatory activity, toxicity, analgesic activity.

ملخص

تتميز *Fumaria agraria* ، التي تنتمي إلى عائلة Fumariaceae والتي تنمو في مناطق البحر الأبيض المتوسط ، باستخدامها العلاجي ضد الأمراض المختلفة بما في ذلك تلك المتعلقة بالالتهابات. كانت دراستنا مهمة بتقييم النشاط المضاد للالتهابات والمسكنات والتأثير السام للمستخلص المائي للجزء الجوي من *Fumaria agraria* في الجسم الحي. أظهر الفحص الكيميائي النباتي النوعي الذي تم إجراؤه على هذا المستخلص مدى ثراء النبات بالمركبات الفينولية. من ناحية أخرى، لا يظهر المستخلص المائي لـ *F. agraria* أي علامة على سمية ملحوظة، بتركيز 1000 مجم / كجم، في اختبار السمية الحادة. أظهر التقييم في الجسم الحي للنشاط المضاد للالتهابات للمستخلص المائي للجزء الجوي من *Fumaria agraria* انخفاضًا كبيرًا في حجم الوذمة مع أقصى تثبيط 66.17%. أظهر الاختبار الدوائي الذي تم إجراؤه في الجسم الحي في فئران BALB / C أن المستخلص المائي لفطر *F. agraria* له نشاط مسكن كبير من خلال تقليل عدد التواءات البطن في جميع الجرعات، مع أقصى نسبة تثبيط 86.76%، 75% في الذكور والجنس الأنثوي على التوالي، اعتمادًا على تركيز 100 مجم / كجم.

الكلمات المفتاحية: *Fumaria agraria* ، مركبات فينولية ، مستخلص مائي ، نشاط مضاد للالتهابات ، سمية ، نشاط مسكن