

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

Université ABDERRAHMANE MIRA – Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire de Master

Science de la Nature et de la Vie
Option : Biochimie appliquée

Thème

**Effet des extraits de deux plantes médicinales
locales *P. nigra* et *U. campestris* sur
l'inflammation aigue chez la souris**

Présenté par :

M^{elle} Azib Lila

M^{elle} Kadi Radia

Membre de jury

Présidente : M^{me} Atmani D.

Promotrice : M^{me} Debbache N.

Co-promotrice : M^{elle} Sebaihi S.

Examineur 1 : M^r Atmani D.

Examinatrice 2 : M^{me} Rahmani M.

2011/2012

Remerciements

D'abord nous remercions notre dieu le tout puissant qui nous protège tout le temps, et qui nous a donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

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

Nous remercions notre co-promotrice M^{elle} Sebaihi S. pour son aide et sa gentillesse.

Nos sincères remerciements et considérations sont exprimés aux membres de jury :

M^{me} Atmani D. Pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury

Mr Atmani D. et M^{me} Rahmani qui ont accepté de faire partie de jury et de consacrer de leur temps pour examiner ce travail.

Lila et Radia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur encouragement, Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées Pour leur soutien et leur confiance notamment durant mes études.

A ma sœur Razika, son mari Karim et leurs fils Mohamed Islam et Bilal

A mes sœurs Nadia, Saida et mes frères Hakim et Layachi

A mes oncles, mes tantes et toute ma famille

A ma meilleure amie Sabrina

A toute la promotion de biochimie appliquée

A toutes mes amies, en particulier: Miada, Kenza, Nawel, Djydy et Kahina

Lila

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu, je pense Particulièrement à mes chères parents, mes frères et ma sœur Dalila et à mes oncles, mes tantes et toute ma grande famille et sans que j'oublie mes très chers amis (es)

Radia

Sommaire

Introduction.....(1)

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Inflammation

I.1. Les médiateurs de l'inflammation.....(3)

I.1.1. Amines vasoactives.....(3)

I.1.2. kinines.....(3)

I.1.3. Médiateurs lipidiques(4)

I.1.4. Cytokine pro inflammatoire.....(4)

I.1.5. La cascade du complément.....(6)

I.1.6. Voie de signalisation : exemple de la voie NF-kB(6)

I.1.7. Les radicaux libres.....(7)

I.2. Les phases de l'inflammation(8)

I.2.1. La phase vasculaire.....(8)

I.2.2. La phase cellulaire(9)

I.2.3. La phase de cicatrisation.....(10)

I.3. Les type d'inflammation.....(10)

I.3.1. Inflammation aigue.....(10)

I.3.2. Inflammation chronique.....(10)

Chapitre II : Les composés actifs d'origine végétale

II.1. Les polyphénols.....(11)

II.1.1. Classification.....(11)

II.1.1.1. Les acides phénols(13)

II.1.1.2. Les flavonoïdes.....	(13)
II.1.1.3. Les coumarines	(13)
II.1.1.4. Les tanins	(13)
II.1.1.5. Les quinones.....	(14)
II.2. Les terpènes et les huiles essentielles.....	(14)
II.3. Les alcaloïdes.....	(15)

Chapitre III : Activité anti-inflammatoire

III.1. Les anti-inflammatoires synthétiques.....	(16)
III.1.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	(16)
III.1.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	(17)
III.2. Mécanismes d'action des anti-inflammatoires d'origine végétale	(19)
III.2.1. Composés phénoliques.....	(19)
III.2.1.1. Phénols simple.....	(19)
III.2.1.2. Les acides phénols	(21)
III.2.1.3. Flavonoïdes	(22)
III.2.1.3. Les coumarines.....	(24)
III.2.1.4. Tanins.....	(25)
III.2.2. Mécanisme d'action de composés terpéniques	(26)
III.2.3. Alcaloïdes.....	(27)

Partie II : Etude expérimentale

I. Matériels et Méthodes

I.1.Matériel.....	(28)
I.1.1.Matériel végétal	(28)
.I.1.1.2. description des plantes	(28)
I.1.1.2.1. <i>Ulmus campestris</i>	(28)
I.1.1.2.2. <i>Populus nigra</i>	(29)
I.1.2.Matériels animal et conditions d'élevage.....	(31)
I.1.3.Réactifs et Appareillage.....	(31)
I.2.Méthode	(32)
I.2.1.Préparation des extraits	(32)
I.2.2.Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	(34)
I.2.2.1.Le principe.....	(34)
I.2.2.2 .Evaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits de plantes.....	(34)
I.2.3 Analyse des résultats.....	(36)

II. Résultats et Discussion

II.1.Résultats.....	(37)
II.2.Discussion.....	(40)
Conclusion	(44)

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien
ANOVA : Analysis of variance
AP-1: activator protein-1.
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
ARNt : ARN de transfert
AUG : Augmentation
COX : cyclo-oxygénase
ELAM : endothelial cell leukocyte adhesion molecule
GC : glucocorticoïds
GSH : Glutathion réduit
ICAM : integrin cellular adhesion molecule
IL : interleukine
INF: Interféron
INH : Inhibition
iNOS : nitric oxide synthase inductible
LOX: lipo-oxygénase
LPS : Lipopolysaccharide
LTB : leucotriene ;
mm : millimètre
NK : Naturel killer
NO : Nitrite oxyde
NOS : Nitrique oxyde synthase
O₂⁻ : radical superoxyde
OH⁻ : hydroxyle
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
PG : Prostaglandine
PL: Phospholipides
PNN : Polynucléaires neutrophiles

SD: Déviation standard

SEM: Standard error of mean

SOD:Superoxyde dismutase

TNF: Tumor necrosis factor

UV: Ultra Violet

Liste des figures

	Titre de la figure	Page
Figure 1	Voie de synthèse des médiateurs lipidiques.	3
Figure 2	Cibles cellulaires du TNF- α .	4
Figure 3	Les interleukines et leurs cibles moléculaires.	4
Figure 4	Les médiateurs responsables de l'activation de la voie de signalisation par le NF-kB.	5
Figure 5	L'activation des NADPH oxydase des polynucléaires.	6
Figure 6	Principaux médiateurs libérés par le neutrophile activé	8
Figure 7	Structure des tanins.	13
Figure 8	Structures de base des quinones.	13
Figure 9	Mécanisme anti-inflammatoire des corticoïdes.	16
Figure 10	Mécanisme d'action des AINS.	17
Figure 11	Mécanisme d'action anti-inflammatoire de catéchol.	19
Figure 12	Structure de catéchol et de dérivé de phlorogucinol.	19
Figure 13	Mécanisme d'action de Resveratrol.	21
Figure 14	Structure de base de Quercetin, Kaempferol et de 4-hydroxychalcone.	22
Figure 15	Mécanisme d'action de 4'-hydroxychalcone.	22
Figure 16	Mécanisme anti-inflammatoire d'Apigenine, luteolin et de fisetin.	23

Figure 17	Structure de la 3-(1'-1'-dimethyl-allyl)-6-hydroxy-7methoxy coumarine.	24
Figure 18	Mécanisme d'action de l'acide tannique sur une inflammation causée par des UVB.	25
Figure 19	Structure de base de rhynchophylline, l'isorhynchophylline, Brucine et de brucine N-oxyde.	27
Figure 20	<i>Ulmus campestris</i> .	28
Figure 21	<i>Populus nigra</i> .	30
Figure 22	Cage de la souris.	31
Figure 23	Les réactifs et l'appareillage.	32
Figure 24	Les étapes d'extraction.	34
Figure 25	Représentative de l'administration intra-gastrique et de l'injection.	35
Figure 26	Présente la patte avant et après l'injection et la méthode de mesure.	36
Figure 27	Pourcentage d'augmentation de l'œdème chez le lot, témoin, standard et les lots traités par les extraits de <i>Populus nigra</i> et <i>Ulmus campestris</i> .	38
Figure 28	Pourcentage d'inhibition de œdème chez les souris traitées par le diclofénac et par les deux extraits des plantes : <i>Populus nigra</i> et <i>Ulmus campestris</i> .	39

Liste des tableaux

	Titre des tableaux	Page
Tableau I	Les différentes classes des composés phénoliques.	12
Tableau II	Quelques acides phénols à effet anti-inflammatoire.	21
Tableau III	Quelques composés actifs terpéniques à effet anti-inflammatoire	26
Tableau IV	Le diamètre de la patte mesurée en fonction du temps chez les lots, témoin et traitées par le diclofénac et les deux extraits des plantes <i>P. nigra</i> et <i>U. campestris</i> .	37

Introduction

Introduction

L'inflammation est une étape nécessaire dans la réponse immunitaire mais peut s'avérer grave pour les tissus en se transformant en inflammation chronique; dans ce cas elle doit être contrôlée par des traitements médicamenteux (Weill et Batteux, 2003).

Les anti-inflammatoires synthétiques, les glucocorticoïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont efficacement utilisés pour contrer une inflammation mais sont contre indiquées et nécessitent des précautions d'emploi dans plusieurs cas tels que, les états infectieux, anémie, diabète, insuffisance rénale...

Les AINS peuvent provoquer des problèmes cardiovasculaires, rénaux et gastro-intestinaux (Wirth, 2006). L'utilisation prolongée des corticoïdes provoque aussi une insuffisance cortico-surrenalienne et une hyperlipidémie (Timour, 2008).

Le but des recherches actuelles est de substituer ces traitements chimiques dont les effets sont lourds pour les patients par des traitements naturels présentant la même efficacité et mieux tolérer par le corps. L'un des remèdes sont les substances d'origine végétale.

Aujourd'hui, les plantes médicinales connaissent un succès accru et sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique notamment dans les traitements de maladie impliquant un processus inflammatoire.

Dans le cadre de notre travail, nous allons essayer d'apporter une contribution à l'étude d'une application traditionnelle de deux plantes médicinales *Populus nigra* et *Ulmus campestris* utilisées dans le traitement des inflammations. Pour cela, notre travail sera développé selon le plan suivant:

Dans une première partie nous reportons une série de rappels sur les activités biologiques des composés actifs d'origine végétales. Cette partie exposera aussi les grands concepts relatifs aux mécanismes d'action des anti-inflammatoires synthétiques et décrire quelques mécanismes d'actions de molécules pures extraites à partir de plantes médicinales.

Introduction

Dans une deuxième partie, nous présentons et nous interprétons nos travaux qui portent sur :

1. Les résultats de la recherche bibliographique pour le choix des plantes médicinales étudiées.
2. Les études expérimentales comprenant une évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits préparés à partir des deux plantes en utilisant un modèle animal.

Etude bibliographique

L'inflammation

Toutes irritations, soit infection, traumatisme mécanique ou chimique, trouble métabolique ou brûlure (Cohen et Jacquot, 2012) peuvent léser les cellules ou les tissus, en engendrant des dommages qui peuvent mener à la mort cellulaire ou tissulaires. Pour faire face à ces lésions, l'organisme a mis en œuvre un processus de défense, non spécifique et très complexe dénommé la réaction inflammatoire ou l'inflammation (Lillian et *al.*, 2006).

L'inflammation est un mécanisme universel de défense (Muster, 2005) qui vise à neutraliser et à éliminer l'agent en cause (Lillian et *al.*, 2006), à bâtir une barrière physique autour du foyer inflammatoire ainsi éviter l'extension de l'inflammation vers d'autres endroits et enfin à réparer les tissus lésés (Janeway et *al.*, 2003).

I.1. Les médiateurs de l'inflammation

I.1.1. Amines vasoactives

Les amines vasoactives sont les médiateurs principaux de l'inflammation libérés par les mastocytes, les polynucléaires basophiles, les plaquettes et les capillaires lésés (Stevens et Low, 1997). Les plus importants sont les histamines et les sérotonines (Elling et *al.*, 2006). Ils provoquent la dilatation des artérioles et augmentent la perméabilité des veinules (Stevens et Low, 1997). En plus, l'histamine amplifie la réaction inflammatoire en favorisant l'expression des molécules d'adhésion, E-sélectine, ICAM-1 et LFA-1 à la surface des cellules endothéliales (Demoly et *al.*, 2002).

I.1.2. kinines

Les kinines sont de petits peptides (Stevens et Low, 1997). Ils provoquent une dilatation locale des vaisseaux, la contraction des muscles lisses et augmentent la perméabilité vasculaire (Beck, 1991). Ils sont, en partie, responsables de la douleur aussi, ils participent à l'apparition de l'œdème et à l'augmentation de la chaleur locale (Cavaillon, 1998).

I.1.3. Médiateurs lipidiques

La prostaglandine (PG), la thromboxane(TX) et la leucotréanine sont des dérivées des eicosanoïdes, issus de la transformation de l'acide arachidonique sous l'action de la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase (Cho et Mado, 2009; Das, 2010). L'acide arachidonique provient de la dégradation des phospholipides membranaires libéré par la phospholipase A₂ activée (figure 1) (Fourcade et *al.*, 2000).

Leur importance dans la réaction inflammatoire se résume dans la perméabilité vasculaire, l'attraction et l'activation des polynucléaires (Nicolaou, 2012).

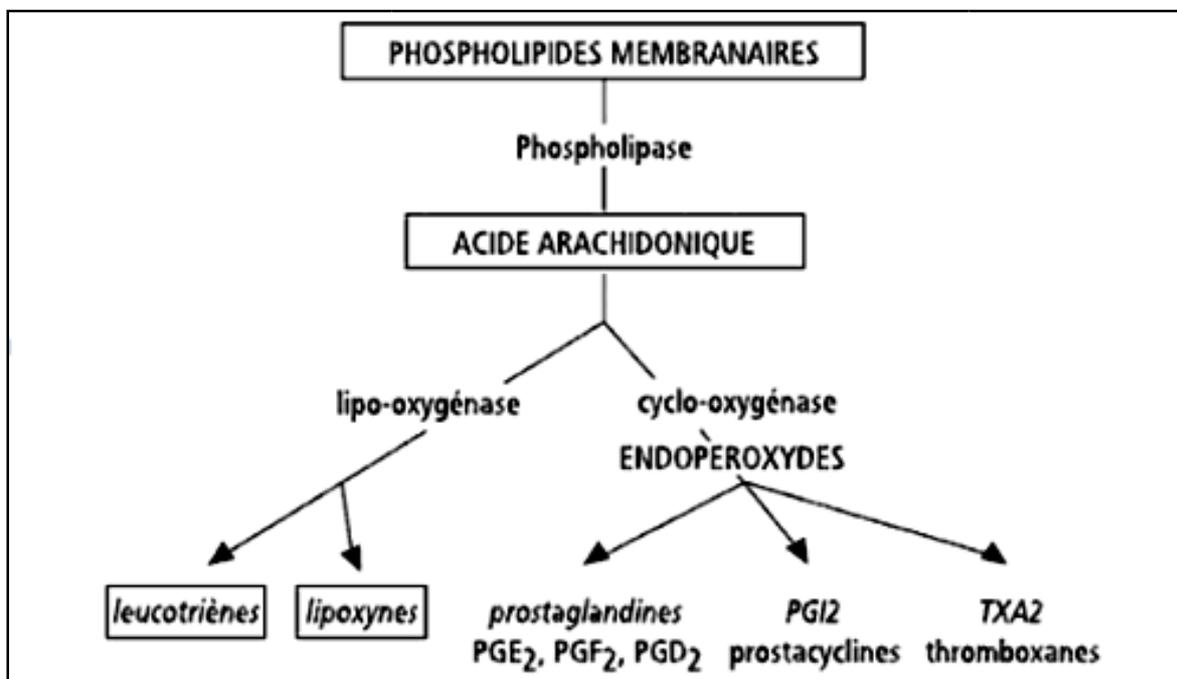


Figure 1 : Voie de synthèse des médiateurs lipidiques (Willoquet et *al.*, 2011).

I.1.4. Cytokines pro inflammatoires

Les cytokines sont des peptides de faible poids moléculaire (8 – 30 KD) (Lacroix et *al.*, 2007). Ce sont des molécules solubles produites par un grand nombre de cellules et elles interviennent dans la communication intracellulaire (Cavaillon, 1995; Fradelizil et *al.*, 1998). Les plus importantes dans la réaction inflammatoire sont IL1, et TNF- α (Devesa et *al.*, 2011).

Le TNF- α (Figure 2) et l'IL-1(Figure 3) ont des effets locaux par l'activation des neutrophiles et monocytes qui contribuent à la défense antimicrobienne et à

l'activation des fibroblastes qui promeuvent la réparation (Kanaji et *al.*, 2011), et d'autres effets variés comprenant: hyperthermie, stimulation de la sécrétion des protéines de la phase aigüe par le foie (protéine C réactive, amyloïde A), activation de la coagulation, vasodilatation systémique et catabolisme (Anthony et *al.*, 2004).

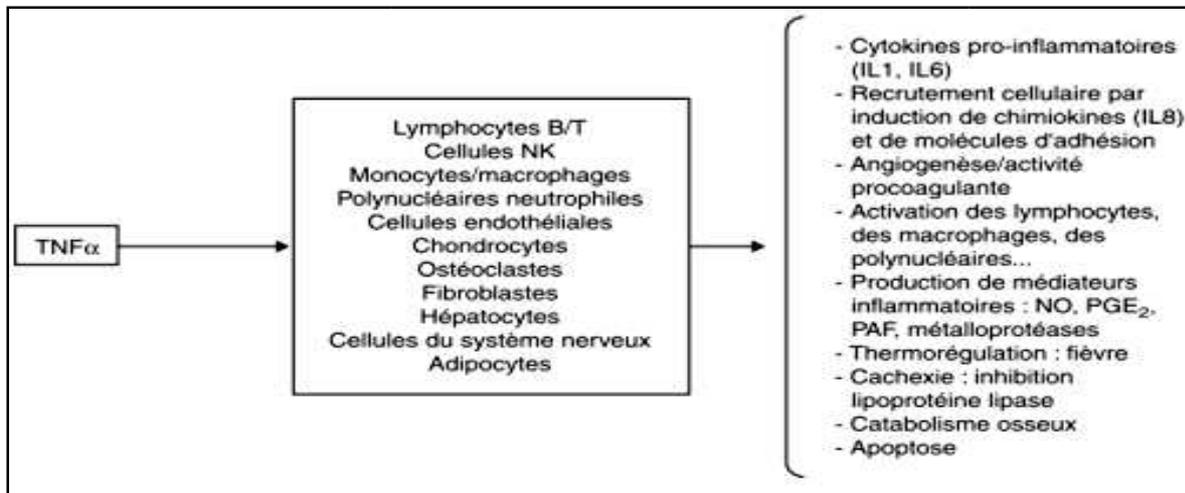


Figure 2 : Cibles cellulaires du TNF- α (Binard et Saraux, 2006).

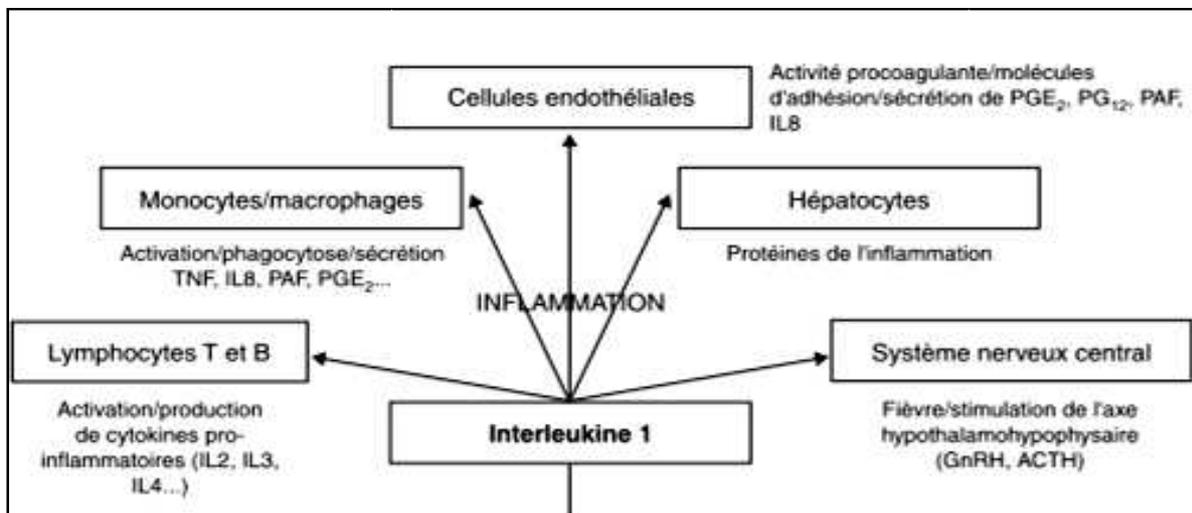


Figure 3 : Les interleukines et leurs cibles moléculaires (Binard et Saraux, 2006).

I.1.5. La cascade du complément

Le complément est un système complexe présent sous formes inactif. Lors de l'inflammation, il s'active par deux voies: classique et alternée. Le complément activé induit l'activation des leucocytes et provoque la libération des radicaux libres et des protéases (Chapel et *al.*, 2004).

I.1.6. Voie de signalisation : exemple de la voie NF- κ B

Le NF- κ B est un facteur de transcription, il existe dans le cytoplasme sous forme inactive, couplé à une protéine inhibitrice I- κ B. Il est activé par, les cytokines pro inflammatoire, LPS, UV... (Binard et Saraux, 2006). Après phosphorylation par des kinases spécifiques le NF- κ B activé migre vers le noyau et active l'expression des gènes impliqués dans les réponses inflammatoires tels que gène iNOS, COX... (Figure 4) (Gorochov et Papo, 2000).

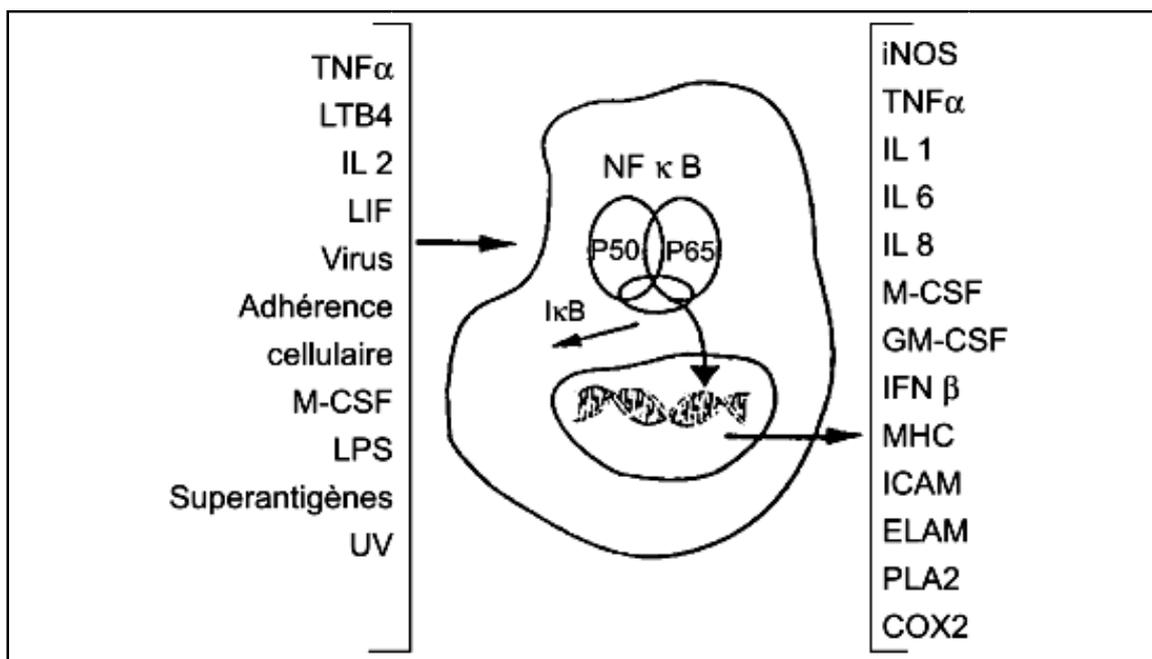


Figure 4 : Les médiateurs responsables de l'activation de la voie de signalisation par le NF- κ B (Russo-Marie, 2000).

I.1.7. Les radicaux libres

I.1.7.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des espèces chimiques ayant un ou plusieurs électrons libres sur leur orbite externe tels les radicaux superoxydes (O_2^-), peroxydes (RO_2), hydroxyle (OH^\cdot) et l'ion hypochloreux ($HOCl$) (Césarini, 2004). Dans les conditions physiologiques normales, il existe un équilibre entre la production de ces ERO et les systèmes anti-oxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) (Edeas, 2010) et non enzymatiques (vitamines E et C, flavonoïdes, beta carotènes, , albumine, acide urique, glutathion réduit (GSH)) (Léophonte, 2006). Les cytokines pro-inflammatoires (IFN- α , IL-1b et IL-8), les prostaglandines et autres dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique, et la voie du complément activent le NADPH oxydase des macrophages et des neutrophiles qui produisent des quantités très élevées d'ERO (figure 5) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Ces ERO provoquent un stress oxydant qui est à l'origine de destructions moléculaires (peroxydation lipidique, protéolyse, lésions des acides nucléiques) et cellulaires (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

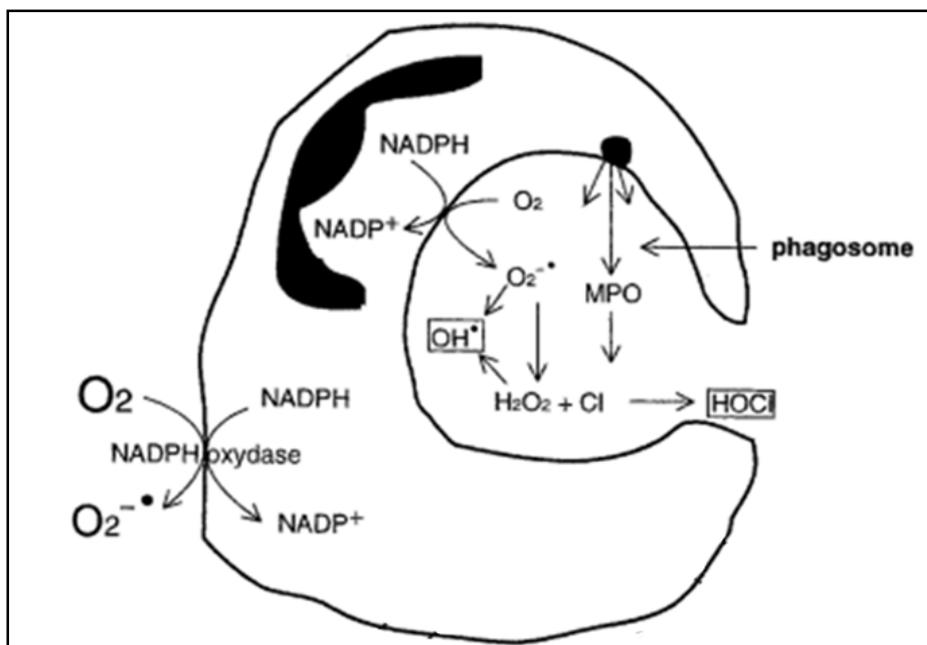


Figure 5 : L'activation des NADPH oxydase des polynucléaires (Pasquier, 1995).

I.1.7.2. Espèces réactives azotées

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule synthétisée localement par l'endothélium et les macrophages sous l'action de la nitrite oxyde synthase, c'est un puissant vasodilatateur (Alan et *al.*, 1997). Le NO est capable de se combiner au radical superoxyde (O_2^-) pour former un produit intermédiaire, le radical peroxynitrite ($ONOO^-$) capable d'activer la production des prostaglandines (PGH₂) (Ravat et *al.*, 2011).

I.2. Les phases de l'inflammation et les mécanismes impliqués

Les phases et les mécanismes impliqués dans l'inflammation peuvent être regroupés selon la séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires (Borel et *al.*, 1997) :

I.2.1. La phase vasculaire

Phase vasculaire immédiate (Weill et batteux, 2003), caractérisée par l'intervention des différents médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, les kinines, l'oxyde nitrique (NO), les ERO et les dérivés eicosanoides (MacKenze, 2010) qui entraînent un ensemble de modifications temporaires et réversibles des vaisseaux sanguins, notamment l'endothélium (Pratico, 2005).

L'activation de l'endothélium provoque une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins, un ralentissement du courant sanguin ce qui explique la rougeur et la chaleur lors de l'inflammation (Huang et Vita, 2006), et une induction de l'expression des molécules d'adhésions impliquées dans le recrutement de leucocytes (Gosset et *al.*, 1998 ; Kelly, 2007), en fin les cellules endothéliales produisent des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires (McClaren et Kennedy, 2005). La résultante de l'augmentation de la perméabilité membranaire est l'exsudation, caractérisée par l'accumulation de fluides, de protéines et de cellules dans les tissus ainsi que l'apparition de l'œdème (Diebold et *al.*, 1995).

I.2.2. La phase cellulaire

La phase cellulaire se manifeste par l'activation, mobilisation, différenciation et prolifération de nombreuses cellules (Weill et batteux, 2003) qui infiltreront la zone lésée de l'inflammation, les cellules passent dans les tissus conjonctifs, contribuent à leur gonflement et secrètent les différents médiateurs et enzymes; cette phase permet l'élimination du pathogène et des tissus lésés (Borel et *al.*, 1997).

Les cellules majoritaires d'inflammation sont :

- ✓ Polynucléaires neutrophiles

Favorisent la phagocytose, la destruction des bactéries, et la production de médiateurs inflammatoires (Figure 6) (Tillié-Leblond et Thorette, 2004).

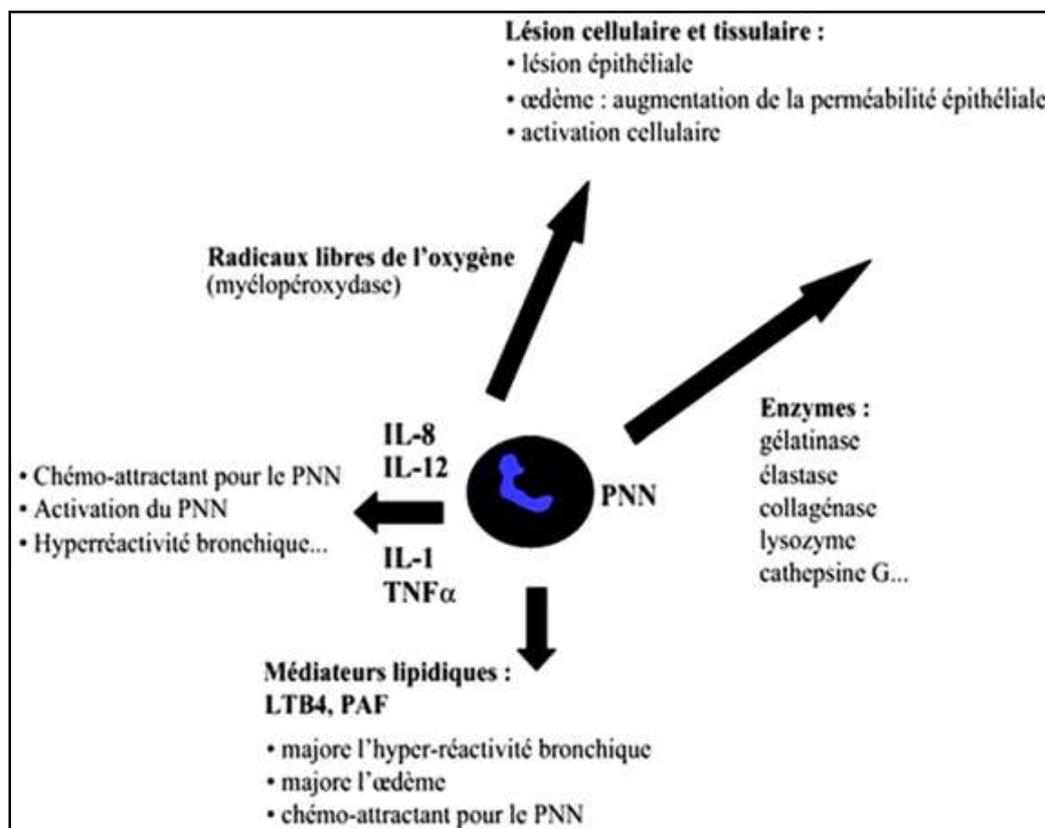


Figure 6 : Principaux médiateurs libérés par le neutrophile activé (Tillié-Leblond et Thorette, 2004).

➤ Les plaquettes

Responsables de la formation d'agrégats et la libération de médiateurs chimiques doués de propriétés enzymatiques (sérotonine et les enzymes lysosomiales....), ainsi que des substances chimiotactiques (Dunois-Lardé, 2011).

✓ Les Mastocytes

Responsables de la libération des médiateurs chimiques tel que : l'histamine, sérotonine et kinine.....etc (Binard et Saraux, 2006).

✓ Les monocytes / macrophages

Interviennent 4 à 5 heures après, elles jouent un rôle important dans la phagocytose et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Weill et Batteux, 2003).

I .2.3. La phase de cicatrisation

Après quelques jours de l'inflammation, des tentatives de régénération et de réparation tendent à restaurer l'intégrité du tissu agressé (Weill et Batteux, 2003).

I.3. Les type d'inflammation

I.3.1. Inflammation aigue

L'inflammation aigue ou l'inflammation primaire (Cohen et Jacquot, 2012) est une réaction focalisée d'un tissu constitutive à une agression. Elle est caractérisée par une succession de la phase vasculaire immédiate, d'une phase cellulaire consécutive et finalement la phase de cicatrisation (Weill et Batteux, 2003).

I.3.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique ou l'inflammation secondaire (Cohen et Jacquot, 2012) est très fréquente, déterminée par sa longue durée (des mois ou des années). Elle débute par une phase d'inflammation aigue ou, elle apparait spontanément suite à une infection par un agent pathogène. A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aigue les phénomènes vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais co-existent tout le long du processus inflammatoire (Russo-Marie., 1998). Elle est caractérisée par l'absence de la phase de cicatrisation (Perronne, 1999).

Les composés actifs d'origine végétale

Il y'a environ 500.000 plantes sur la terre ; 100.000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés thérapeutiques (Iserin, 2001). Les plantes médicinales contiennent des centaines, voire des milliers de composés actives qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques (Iserin, 2001) parmi ces molécules on cite :

II.1. Les polyphénols

Selon Lugasi et *al.* (2003), les polyphénols constituent un des groupes des composés les plus nombreux et largement distribués chez les végétaux. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racine, tige, fleur, pollens, fruits, graines et bois) et ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Han et *al.*, 2007).

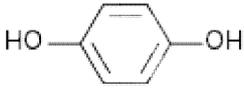
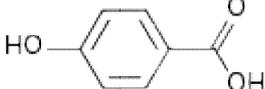
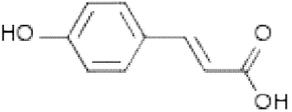
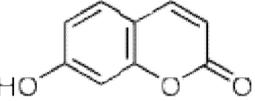
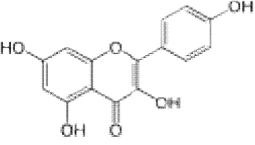
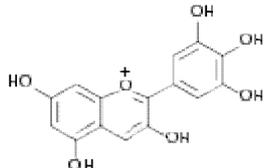
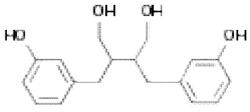
L'élément structural qui caractérise ces métabolites secondaires est la présence d'un noyau benzénique, auquel est lié un ou plusieurs groupements hydroxyles qui sont libres ou engagés dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside) (Wichtl et Anton, 2003).

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues cette diversité structurale due à une double origine biosynthétique (celle de l'acide shikimique, celle issue de l'acétate), encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.1.1. Classification

Bruneton en 2009 a divisé les polyphénols en plusieurs classes : Les phénols simples, les acides phénols, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanosides, les quinones, les lignines et les lignanes (Tableau I).

Tableau I : Les différentes classes des composés phénoliques (Bruneton, 2009).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule
C6	Phénols simples	Hydroquinone	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïque	
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide coumarique	
	coumarines	Ombelliférone	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol	
	anthocyanes	Delphinidol	
(C6-C3) ₂	lignanes	Entérodiol	
(C6-C3) _n	Lignines		
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Procyanidol	

II.1.1.1. Les acides phénols

Des composés organiques qui ont au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique; on trouve dans cette classe les dérivés de l'acide benzoïque C6 –C1 (acide gallique, alcool salicylique...) et les dérivés de l'acide cinnamique C6-C3 (acide caféique...) (Han et *al.*, 2007).

II.1.1.2. Les flavonoïdes

Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2007), ils ont la structure C6-C3-C6 (Wichtl et Anton, 2003) et comportent trois cycles: cycle A issu de condensation d'un triacétate, cycle B issu d'un acide coumarique et un noyau pyranique qui est à la base de la classification des flavonoïdes selon son degré d'oxydation et son état (ouvert ou recyclé, saturé ou insaturé) (Ghedira, 2007).

II.1.1.3. Les coumarines

Dérivent des phényles propaniques (C6-C3), ils sont considérés comme des lactones des acides cinnamiques (Wichtl et Anton, 2003).

II.1.1.4. Les tanins

Comportent deux classes:

✓ **Les tanins condensés**

Sont des polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes carbone-carbone, ces liaisons ne sont pas hydrolysables (Hopkins, 2003).

✓ **Les tanins hydrolysables**

Leur structure de base est constituée d'un glucide, habituellement un glucose, dont un radical hydroxyle forme une liaison ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003).

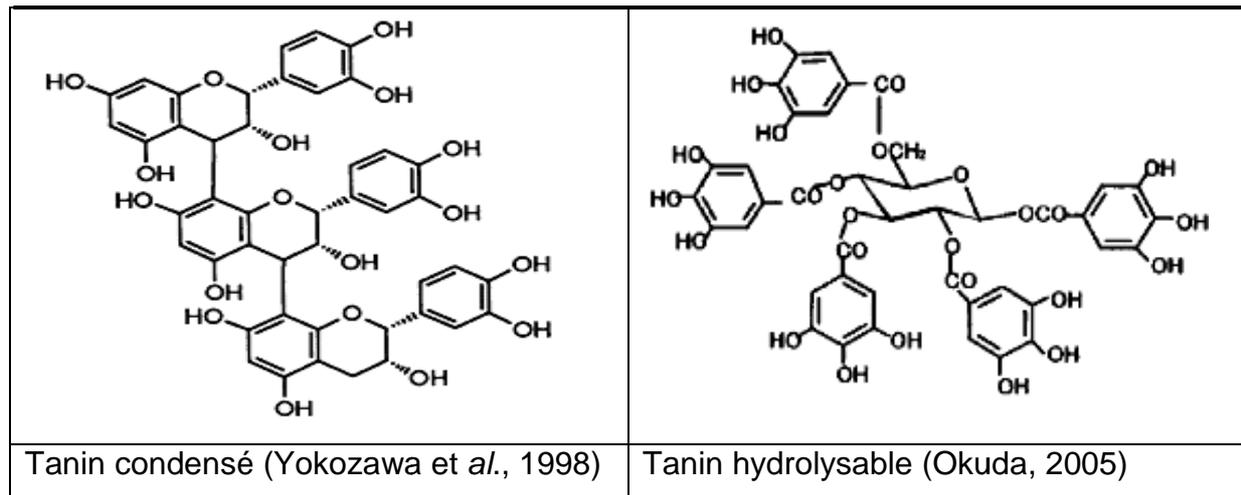


Figure 7 : Structure des tanins (Yokozawa, 1998; Okuda, 2005).

II.1.1.5. Les quinones

Substances issues d'oxydation des phénols, ils se caractérisent par le motif 1,4-dicétyclohexa-2,5-diénique (para quinone) ou bien par le motif 1,2-dicyclohexa-3,5-diénique (ortho quinone) (figure 9) (Lumb et al, 2008).

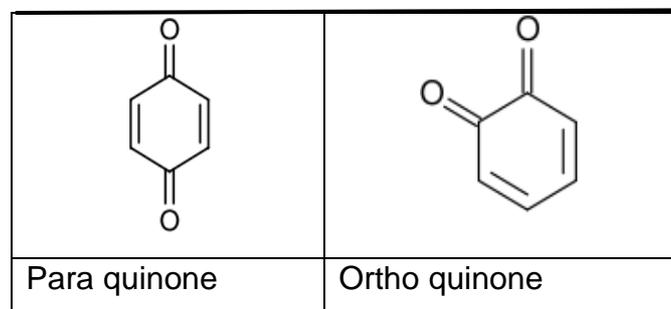


Figure 8 : Structures de base des quinones (Lumb et al, 2008).

II.2. Les terpènes et les huiles essentielles

- ✓ Les terpènes : sont des métabolites secondaires, formés par l'assemblage d'unités pentacarbonées ramifiées dérivés du 2-méthylbutadiène, Ils constituent le plus grand groupe de produits naturels et comportant au moins 30.000 composés. Leur classification est basée sur le nombre des carbones, on trouve : les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15),

les diterpènes (C₂₀), les triterpènes (C₃₀) et les tetraterpènes (C₄₀) (Bruneton, 2009 ; Degenhardt et *al.*, 2009)

- ✓ Les huiles essentielles: sont des produits qui renferment le principe volatil, elles peuvent être des monoterpènes, des sesquiterpènes, des composés issus de la dégradation d'acides gras ou des composés issus de la dégradation des terpènes (Millet, 2010).

II.3. Les alcaloïdes

Ce sont des métabolites secondaires contenant l'azote qui leur confère un caractère basique (Hichter, 1993); leur fonction amine est généralement incluse dans un hétérocycle, mais dans certains cas, elle peut être présente dans une chaîne aliphatique ou remplacée par un ammonium quaternaire ou par un amide (Wichtl et Anton, 2003).

Ces composés sont issus généralement de la métabolisation des acides aminés, de terpènes ou de peptides..., et se divisent en trois grandes classes : les vrais alcaloïdes qui dérivent des acides aminés et qui ont un système hétérocyclique, les pseudo-alcaloïdes qui dérivent généralement des terpènes et les proto-alcaloïdes qui ne disposent pas de systèmes hétérocycliques (Wichtl et Anton, 2003).

Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est considérée comme facteur de cause ou de conséquence de plusieurs états pathologiques comme les maladies cardiovasculaires (Mariotti, 2011), les cancers (Sakat et *al.*, 2010) ou les maladies neuro-dégénératives (Zhang et *al.*, 2010). Ainsi plusieurs recherches se sont intéressées au développement des substances anti-inflammatoires.

III.1. Les anti-inflammatoires synthétiques

III.1.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes (GC)

Ces stéroïdes sont des analogues ou des précurseurs de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales (Muster, 2005), agissant selon plusieurs mécanismes :

- ✓ Ils inhibent la synthèse de nombreuses protéines pro-inflammatoires (cytokines, chimiokines, molécules d'adhésion, cyclo-oxygénase de type 2, NO-synthase) : les GC se fixent sur leurs récepteurs (GCR) et forment un complexe GC-GCR; ce dernier bloque la transcription des gènes codant pour les protéines pro-inflammatoires en inhibant la fixation des facteurs de transcription (NF-kB, AP-1), ou bien en inhibant l'activité des enzymes d'acétylation des histones (HAT) et en activant les enzymes de déacétylation des histones (HDAC) (figure 9) (Devillier, 2005).
- ✓ Ils inhibent aussi l'activité de la phospholipase réduisant ainsi la production de l'acide arachidonique et, en conséquence la synthèse des prostanoïdes et celle des leucotriènes (Figure 10) (Timour, 2008).

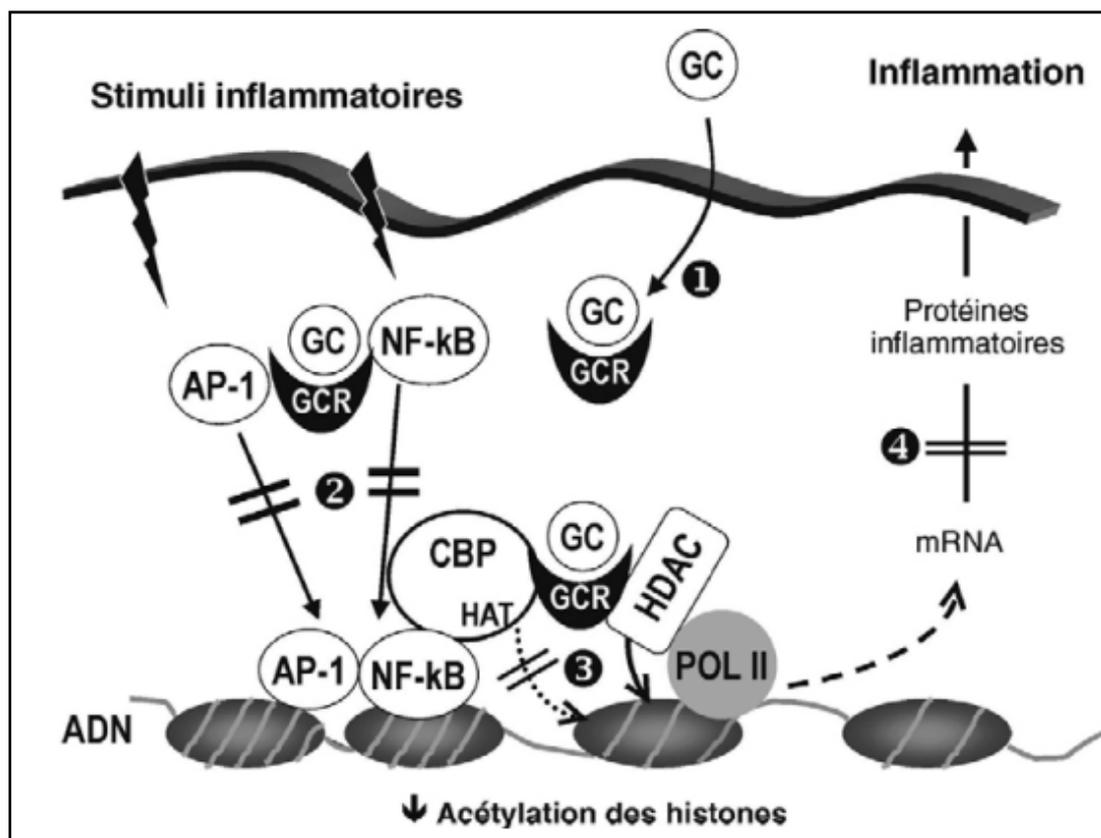


Figure 9 : Mécanisme anti-inflammatoire des corticoïdes (Devillier, 2004).

II.1.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Sont parmi les médicaments les plus utilisés dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques (Jouzeau et *al.*, 2004); ils sont des acides faibles lipophiles et regroupent des molécules ayant, malgré une hétérogénéité structurale, un même mode d'action (Vaubourdolle, 2007).

Les AINS inhibent la production des prostanoides primaires en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif de la cyclo-oxygénase (Blain et *al.*, 2000; Chiolero, 2000; Jouzeau et *al.*, 2004) (Figure 10).

La découverte de deux iso-enzymes (COX-1, COX-2) a permis d'améliorer la classe des AINS et de synthétiser des inhibiteurs sélectifs de la COX-2 nommés coxibs possédant une activité anti-inflammatoire plus élevée que celle montrée par AINS classiques qui inhibent aussi la COX-1 (Naveau, 2004).

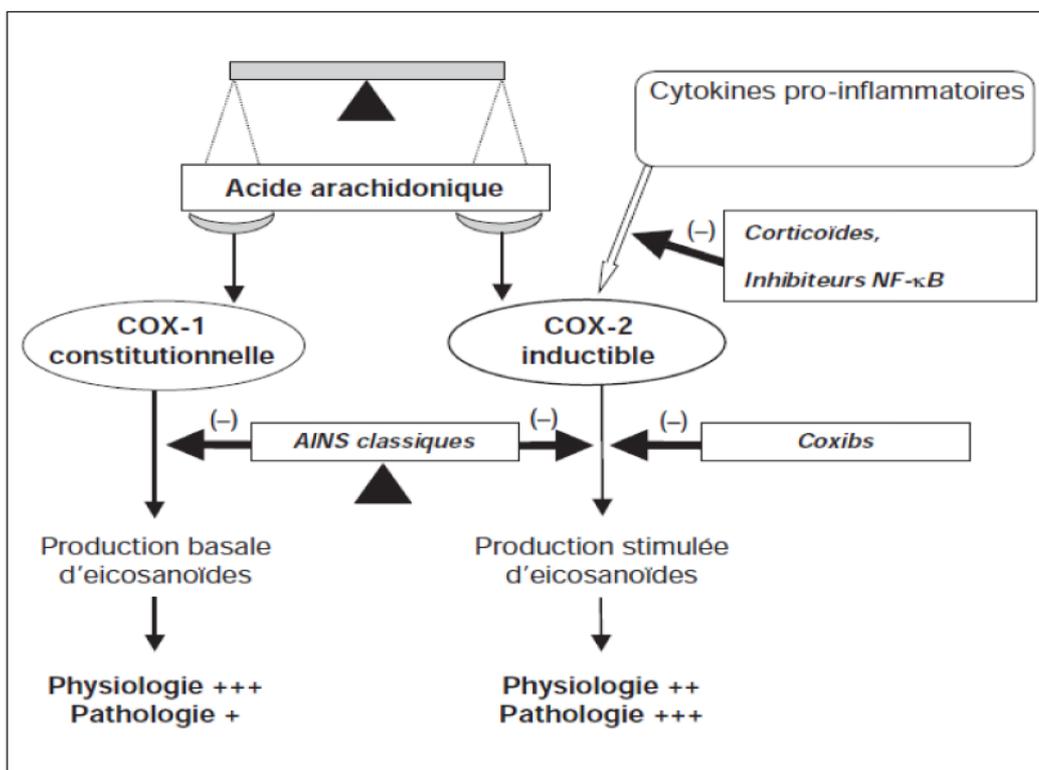


Figure 10: Mécanisme d'action des AINS (Jouzeau et *al.*, 2004).

Ces deux principales classes des anti-inflammatoires sont contre indiquées et elles nécessitent des précautions d'emploi dans plusieurs cas : tous états infectieux, anémie, diabète, insuffisance rénale... (Muster, 2005).

Les AINS peuvent provoquer des problèmes cardiovasculaires, rénaux et gastro-intestinaux (Wirth, 2006). L'utilisation prolongée des corticoïdes provoque une insuffisance corticosurénalienne et une hyperlipidémie (Timour, 2008).

Le but des recherches actuelles est de substituer ces traitements chimiques dont les effets sont lourds pour les patients par des traitements présentant la même efficacité et mieux tolérés par le corps. L'un des remèdes naturels sont les substances d'origine végétale.

III.2. Mécanismes d'action des anti-inflammatoires d'origine végétale

La plante médicinale présente la source principale des médicaments dans les pays en voie de développement, d'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80 % de la population de ces pays (Bousta et Ennabili, 2011).

Ces remèdes naturels peuvent s'avérer dans de nombreux cas plus économiques, plus efficaces et plus sûrs que des médicaments (Bousta et Ennabili, 2011).

III.2.1. Composés phénoliques

III.2.1.1. Phénols simples

Le catéchol et le phlorogucinol appartenant à cette classe (Bruneton, 2009), sont deux molécules anti-inflammatoires dont le mécanisme a été déterminé.

- ✓ Le catéchol: empêche l'activité de NO dans les cellules microgliales induites par les LPS et inhibe l'expression de la iNOS et du TNF- α en agissant selon différents mécanismes :
 - inhibe la translocation nucléaire de la sous-unité (p65) du facteur nucléaire NF- κ B.
 - inhibe la phosphorylation et la dégradation du I κ B et la phosphorylation de p38 MAPK ce qui provoque l'inactivation de NF- κ B (figure 11) (Zheng et al., 2008).

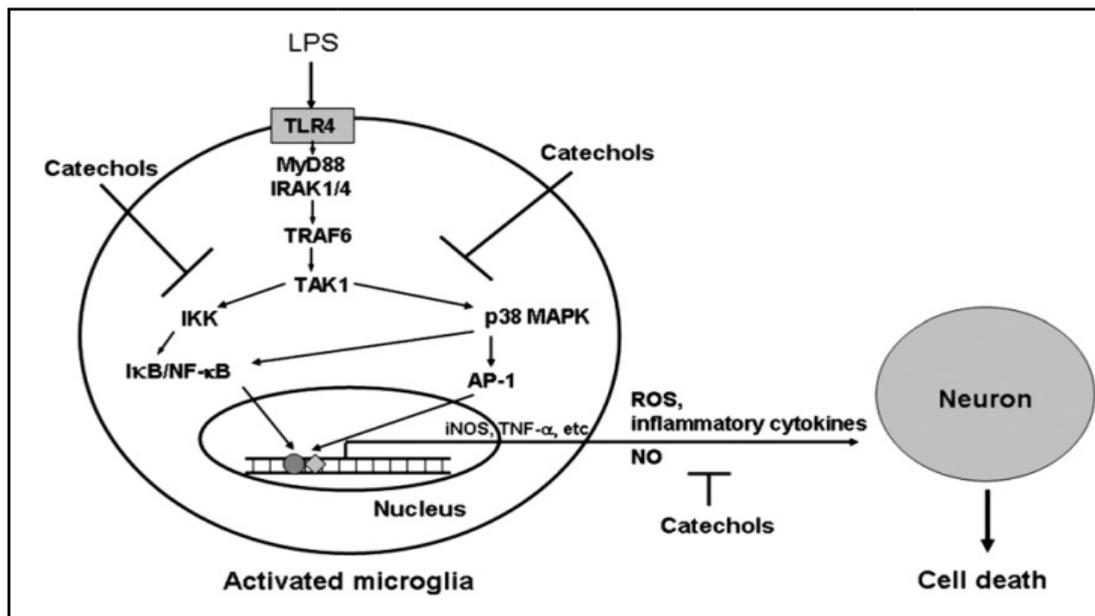


Figure 11 : Mécanisme d'action anti-inflammatoire de catéchol (Zheng et al., 2008).

- ✓ Les dérivés de phlorogucinol (3-geranyl-1-(2 methylpropanoyl) phloroglucinol (figure 13) et le 3-geranyl-1-(2-methylbutanoyl) phloroglucinol) sont extraits à partir d'*Hypericum empetrifolium* ; ils inhibent l'activité de la COX-1 et la COX-2, et de la 5-LOX (Crockett et al., 2008).

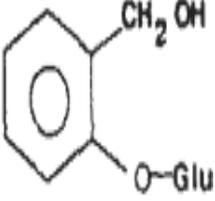
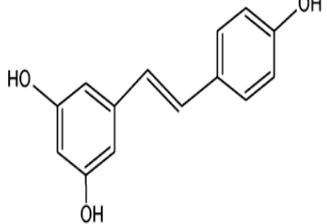
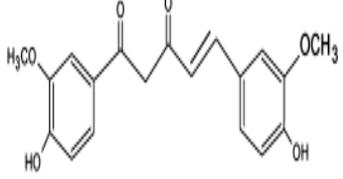
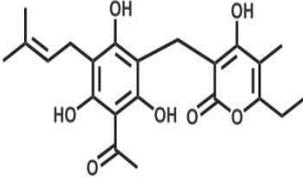
<p>Catéchol (Zheng et al., 2008)</p>	<p>Phloroglucinol (Bruneton, 2009)</p>	<p>3-geranyl-1-(2'-methanbutanoyl) phloroglucinol (Crockett et al., 2008)</p>

Figure 12: Structure de catéchol et de dérivé de phlorogucinol.

III.2.1.2. Les acides phénols

Plusieurs substances appartiennent à cette classe présentent des effets anti-inflammatoires et agissants selon différents mécanismes.

Tableau II : quelques acides phénols à effet anti-inflammatoire

Principe actif	Structure chimique	Plante	Effet anti-inflammatoire
Salicine		<i>Salix sp</i>	Sont à l'origine de la synthèse de l'aspirine (acide acétylé salicylique) (Lévesque, 2000) ; elles inhibent la COX dans les mastocytes activées (Goetz , 2011a)
Resveratrol		<i>Vitis vinifera</i>	agit sur les cellules microgliales induites par les LPS selon trois mécanismes anti-inflammatoires : -inhibition de l'activité d'ERO -suppression de la voie de transduction de signal par MAPK -activation de Sirt1 qui supprime l'activation de la voie de la signalisation de NF-κB (figure 13) (Zhang et al., 2010).
Curcumine		<i>Curcuma</i>	Empêche la phosphorylation et la dégradation d'IκB (Bisht et al., 2009).
Arzanol		<i>Helichrysum italicum</i>	Inhibition de l'activité de la LOX-5 et de la COX (Bauer et al., 2010).

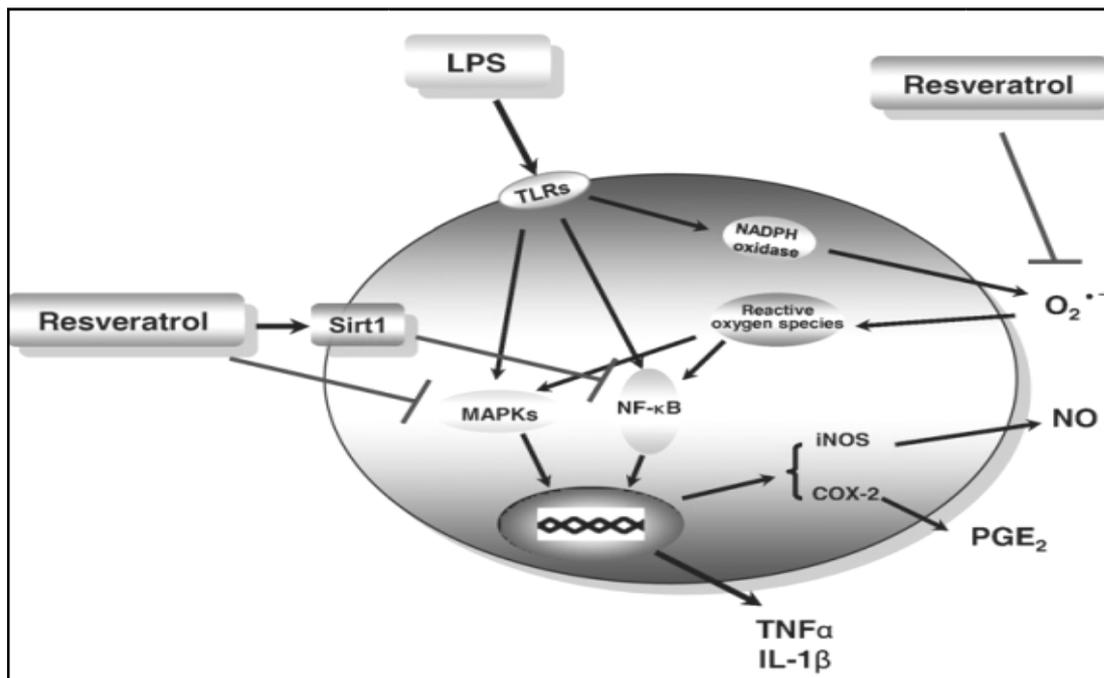


Figure 13: Mécanisme d'action de Resveratrol (Zhang et al., 2010).

III.2.1.3. Flavonoïdes

Il existe plusieurs composés de cette classe possédant des effets anti-inflammatoires parmi :

- ✓ Quercetine et Kaempferol (figure 14) : ils réduisent la production de la COX-2 et la iNOS par la suppression du signal NF-κB ou AP-1 dans les macrophages induites par les LPS ou par les cytokines (Bisht et al., 2009).
- ✓ 4'-hydroxychalcone (figure 14) : Il inhibe l'activation du NF-κB induite par le TNF-α en agissant au niveau de plusieurs étapes :
 - A- Inhibition de récepteur de TNF-α (TNFR1)
 - B- Inhibition du complexe de signalisation primaire (TRAF2, TAK1)
 - C- Inhibition de la dégradation de IKB et de la translocation nucléaire des hétérodimères p50/p65 (Figure 15) (Orlikova et al., 2011).

<p>Quercetin (Bisht et al., 2009).</p>	<p>Kaempferol (Bisht et al., 2009).</p>	<p>4'-hydroxychalcone (Orlikova et al., 2011).</p>

Figure 14: Structure de base de Quercetin, Kaempferol et de 4'-hydroxychalcone.

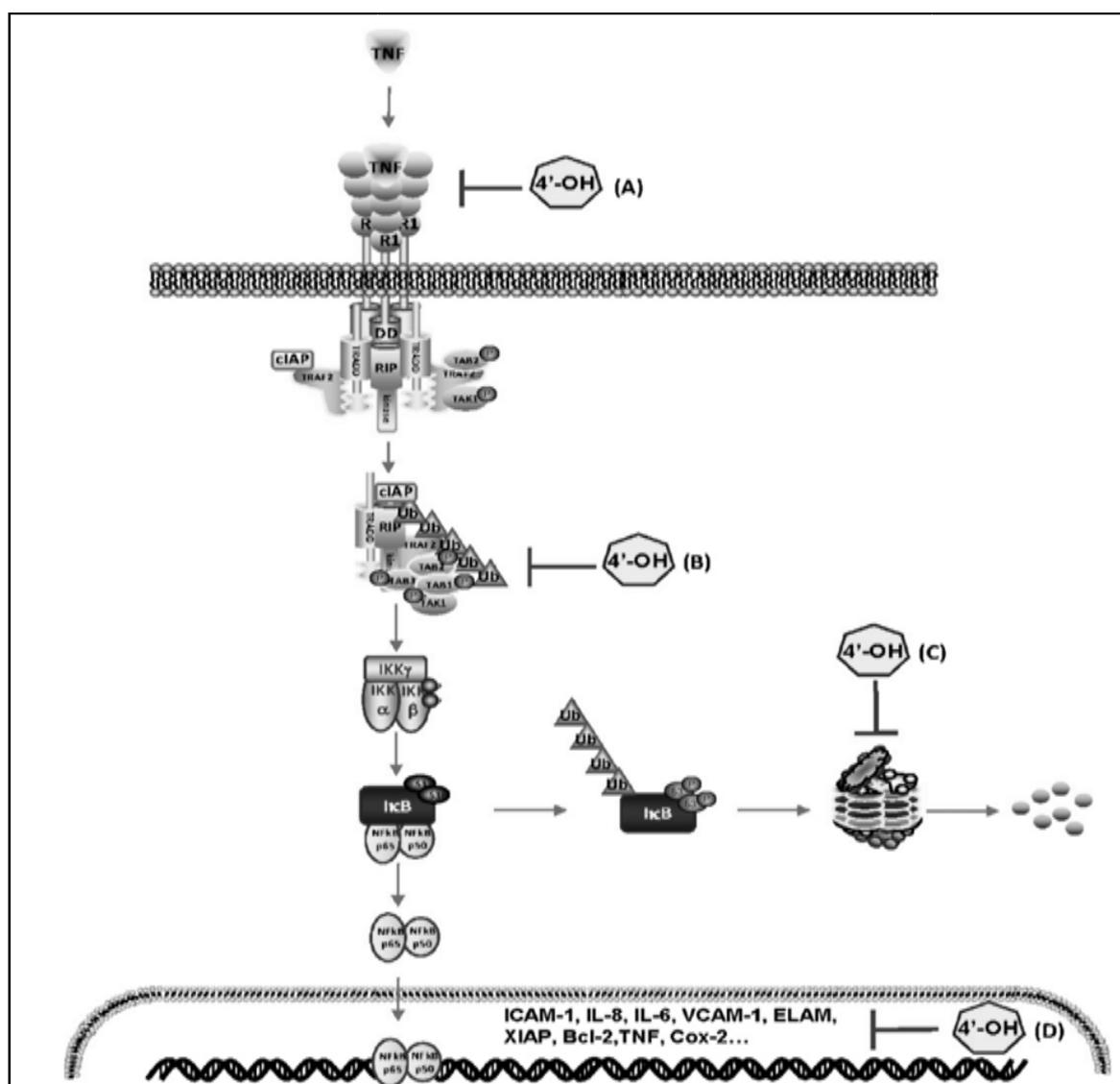


Figure 15: Mécanisme d'action de 4'-hydroxychalcone (Orlikova et al., 2011).

- ✓ Apigénine et luteoline inhibent l'activité transcriptionnelle du NF- κ B induite par TNF- α en agissant sur la protéine de fusion NF- κ B-p65 (Figure 16) (Funakoshi-Tago et al., 2011).

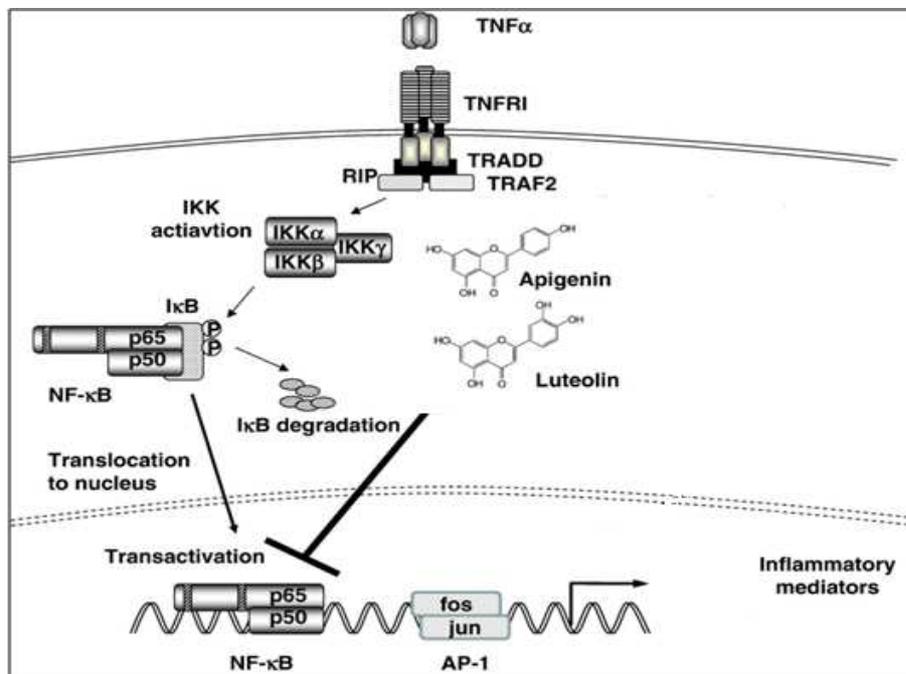


Figure 16: Mécanisme anti-inflammatoire d'Apigénine, luteoline et fisetine (Funakoshi-Tago et al., 2011).

III.1.2.3. Les coumarines

- ✓ Le 3-(1'-1'-diméthyl-allyl)-6-hydroxy-7-méthoxy-coumarine (figure 17) isolé à partir de *Ruta graveolens* inhibe l'expression des gènes de la iNOS, la COX-2 et les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-1 β) dans les macrophages induites par LPS, par l'inhibition de la dégradation d'I κ B (Raghav et al., 2007).

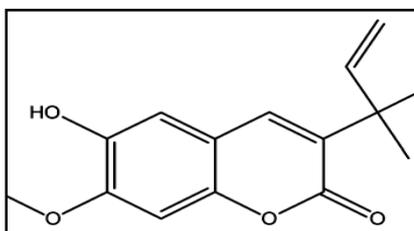


Figure 17: Structure de la 3-(1'-1'-diméthyl-allyl)-6-hydroxy-7-méthoxy-coumarine (Raghav et al., 2007).

III.1.2.4. Tanins

Ils se lient avec les protéines par des liaisons réversibles et forment une couche moins hydrophile de cette façon les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses ainsi ils sont principalement utilisés dans les traitements des blessures internes et externes (Bruneton, 2009).

Ils inhibent l'enzyme pro-inflammatoire la 5-LOX (Okuda, 2005).

L'acide tannique qui est issu de tanin hydrolysable protège les cellules épithéliales de la rétine (RPE) en absorbant les radiations ultraviolettes B (UVB) (Chou et *al.*, 2011). Les UVB induisent l'activation du signal IL-6/STAT3 qui active le CFB (facteur stimulant l'inflammation) (Chou et *al.*, 2011).

L'acide tannique empêche la production d'IL-6, la phosphorylation de STAT3 et ainsi l'expression de CFB, donc l'inflammation des RPE provoquée par UVB peut être réprimée par la voie IL-6/STAT3/CFB (figure 18) (Chou et *al.*, 2011).

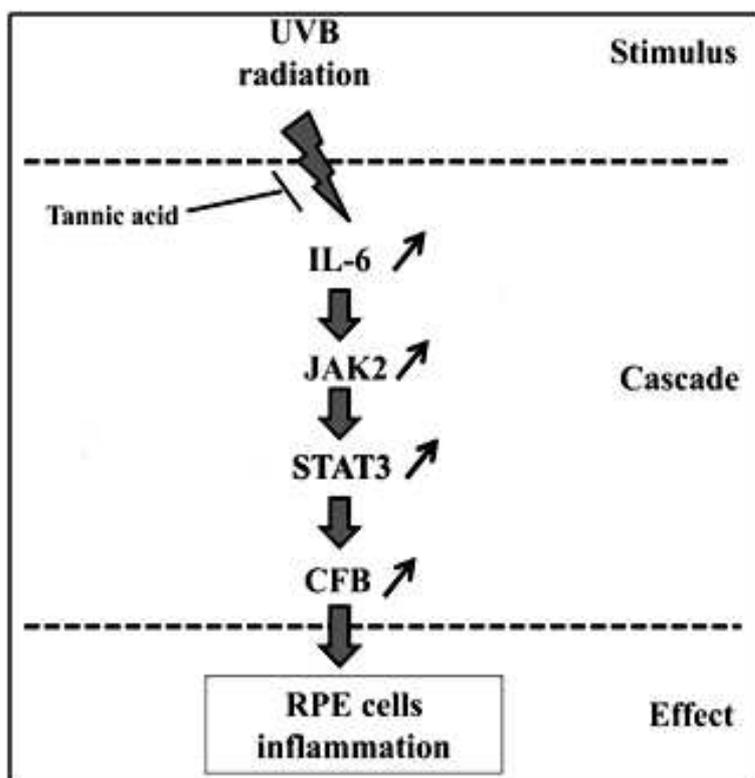


Figure 18 : Mécanisme d'action de l'acide tannique sur une inflammation causée par des UVB (Chou et *al.*, 2011).

III.2.2. Mécanisme d'action de composés terpéniques

Tableau III : quelques composés actifs terpéniques à effet anti-inflammatoire

harpagoside	Monoterpène.	<i>Harpagophytum procumbens</i>	Inhibe l'expression de la COX-2, iNOS et de TNF- α par la répression du NF- κ B stimulé par les LPS (Goetz, 2011a)
Cucurbitacin E	Triterpène	<i>Citrullus lanatus</i>	inhibe la COX1 et plus spécifiquement la COX2 (Abdelwahab et al., 2011)
Aescine	Triterpène	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Induit l'augmentation du tonus veineux et artériel, diminue l'adhésion des neutrophiles à l'endothélium (Goetz, 2011b).
α -humulene	Huiles essentielles Sesquiterpènes	<i>Cordia verbenacea</i>	inhibe la synthèse de TNF- α , et de l'IL-1B, réduit l'expression de la COX-2 et iNOS (Fernandes et al., 2007).
trans-caryophyllene	Huiles essentielles Sesquiterpènes	<i>Cordia verbenacea</i>	empêche la synthèse de TNF- α réduit l'expression de la COX-2 et de iNOS (Fernandes et al., 2007).

III.2.3. Alcaloïdes

Parmi les molécules qui appartiennent à cette classe et qui possèdent un effet anti-inflammatoire :

- ✓ Le rhynchophylline et l'isorhynchophylline (figure 19)

Ce sont deux isomères extraits à partir de la plante *Uncaria rhynchophylla*, ils inhibent la synthèse du NO, IL-2B, TNF- α dans les cellules microgliales induites par les LPS par la répression, de l'expression de iNOS et du NF- κ B, phosphorylation de P38 MAPKs et la dégradation de I κ B (Yuan et al., 2009).

✓ Brucine et brucine N-oxyde (figure 19)

Ils sont extraits à partir des graines de *noix-nux-vomica*, ils ont une activité anti-inflammatoire et analgésique à travers l'inhibition de la COX et par la réduction de synthèse de la sérotonine (Yin et al., 2003).

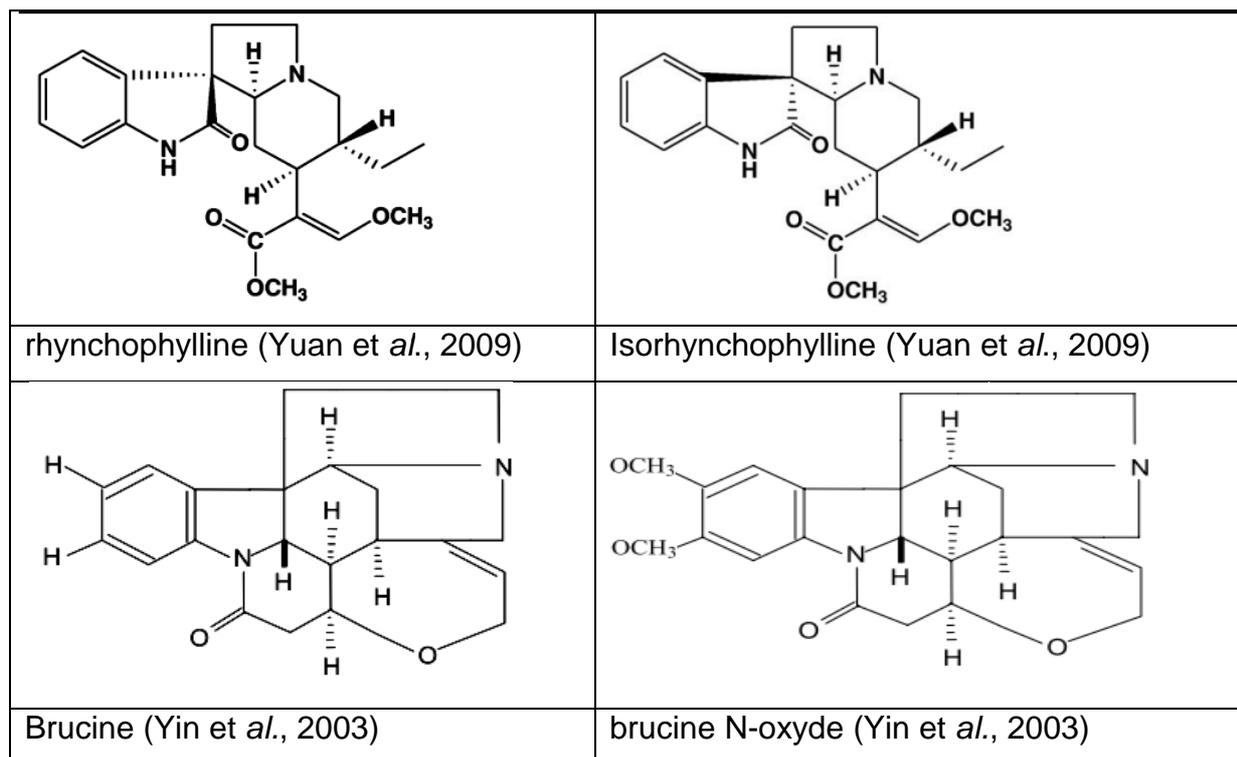


Figure 19 : Structure de basederhynchophylline, l'isorhynchophylline, Brucine et de brucine N-oxyde.

Etude expérimentale

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

Dans le but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des composés actifs extraits de plantes, nous avons sélectionné deux plantes l'Orme champêtre (*Ulmus campestris*) et le peuplier noir (*Populus nigra*). Le choix n'était pas arbitraire mais on s'est basé sur l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies à caractères inflammatoires.

I.1.1.2. Description des plantes

I.1.1.2.1. *Ulmus campestris*

✓ Description botanique

Arbre atteignant 20 à 25m de hauteur à, cime bien fournie, tronc très rugueux, feuilles alternés, ovales-lancéolés de 7cm de long sur 3cm de large, dissymétrique, brièvement acuminées, doublement dentées, lisses ou scabreuses sur la face supérieure. Fleurs petites rougeâtres, presque sessiles, en fascicules latéraux multiflores. Les fruits sont des akènes ailés (samares) à aile circulaire plane, entourant complètement la graine; son époque de floraison est entre Mars et Avril (Beloued, 1998) (figure 20).



Figure 20: *Ulmus campestris*.

✓ Distribution géographique

U. campestris est répondu au bord des cours d'eau et des vallées fraîches (Schauenberg et al., 2006). Elle se trouve en Europe du sud et centrale, Asie

Matériels et méthodes

du sud-ouest, Afrique du nord-ouest et elle est planté comme arbre des routes (Hensel, 2008).

✓ **Classification :** (Beloued,1998).

Règne	<i>plantae</i>
Ordre	Urticales
Famille	Ulmacées
Genre	<i>Ulmus</i>
Espèce	<i>Ulmus campestris</i>

Principes actifs

L'écorce de l'orme et ses feuilles sont riches en tanins et en mucilages (Debuigne et Couplan, 2009).

✓ **Propriétés thérapeutiques**

L'écorce intérieure de l'orme ou bien la seconde écorce et ses feuilles possèdent des propriétés diurétiques et émollientes et elles sont utilisées contre la diarrhée, rhumatisme, les maladies de la peau et les inflammations de cavité buccale et du larynx (Beloued, 1998).

I.1.1.2.2. *Populus nigra*

✓ **Description botanique**

Arbre (figure 21) atteint 25m de hauteur, son tronc présente une écorce crevassée; ses larges feuilles, presque triangulaires, sont luisantes sur leur deux faces; ces bourgeons se couvrent d'une substance résineux jaune qui dégage un profond parfum balsamique; c'est une espèce à fleurs disposées en chatons qui sont de couleur rougeâtre pour les mâles et verte pour les femelles, ces dernières donnent des graines munies d'un duvet cotonneux (Muller et *al.*, 2002; Debuigne et Couplan, 2009).

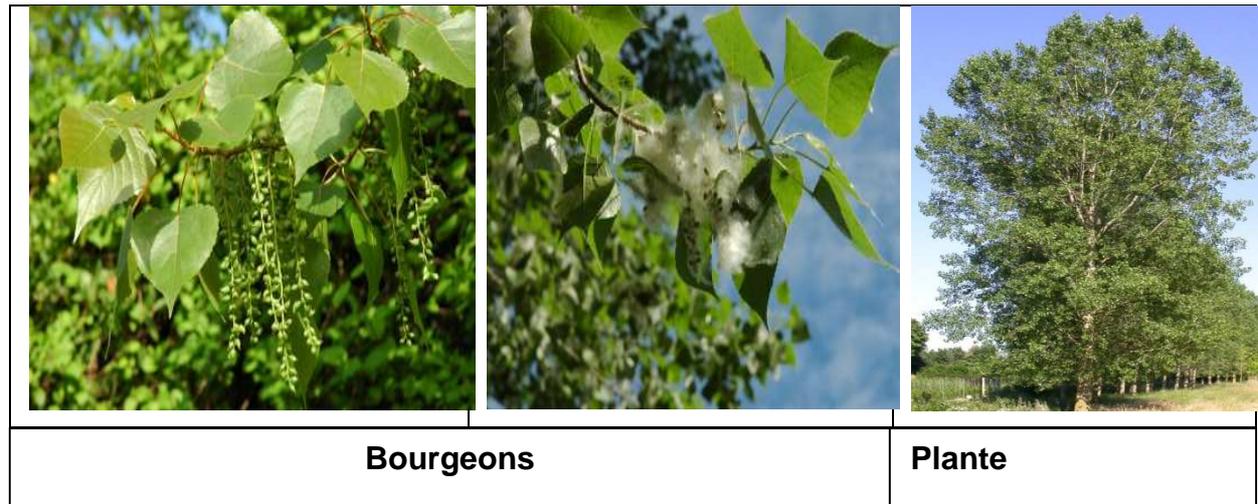


Figure 21: *Populus nigra*.

✓ **Classification** (Beloued, 1998).

Règne	<i>Plantae</i>
Ordre	Salicales
Famille	Salicacées
Genre	<i>Populus</i>
Espèce	<i>Populus nigra</i>

✓ **Principes actifs**

Les feuilles contiennent de la salicine (environ 2,4 %), salicortine, saliréposide et des dérivés benzoate comme la populine (salicine-6-benzoate), la trémuloidine (sali-cine-2-benzoate) et trémulacine (salicortine-2-benzoate). Les bourgeons contiennent des acides phénoliques et des flavonoïdes. Leurs acides caféique et p-coumarinique ont d'importantes propriétés antioxydants (Goetz, 2011a).

✓ **Propriétés thérapeutiques**

Populus ou Peupliers ont des propriétés antirhumatismales et anti-inflammatoires, un effet antiseptique et astringent (Beloued, 2008).

Matériels et méthodes

I.1.2. Matériels animal et conditions d'élevage

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire, *in vivo* des extraits de plantes, nous avons utilisé des souris albinos mâles et femelles, d'un poids qui varie entre (25-30) g avec une moyenne d'âge (6 ± 2) semaines.

Ces animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et l'expérimentation a été réalisée au niveau de laboratoire d'expérimentation animale de l'université de Bejaia.

Pour respecter leur cycle biologique, les animaux ont été mis sous des conditions de température ambiante de (23-25) °C et d'humidité de (60-70)%. La salle est soumise à un éclairage artificiel de 12 heures et d'obscurité de 12 h. Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment à bouchon et l'eau de robinet.



Figure 22 : Cage de la souris.

I.1.3. Réactifs et Appareillage

- ✓ Solution de carragénine à 0,5 % dans du sérum physiologique.
- ✓ Le diclofénac sodique comme anti-inflammatoire de référence.
- ✓ Sonde intra-gastrique
- ✓ Le micromètre digital est l'appareil de mesure.

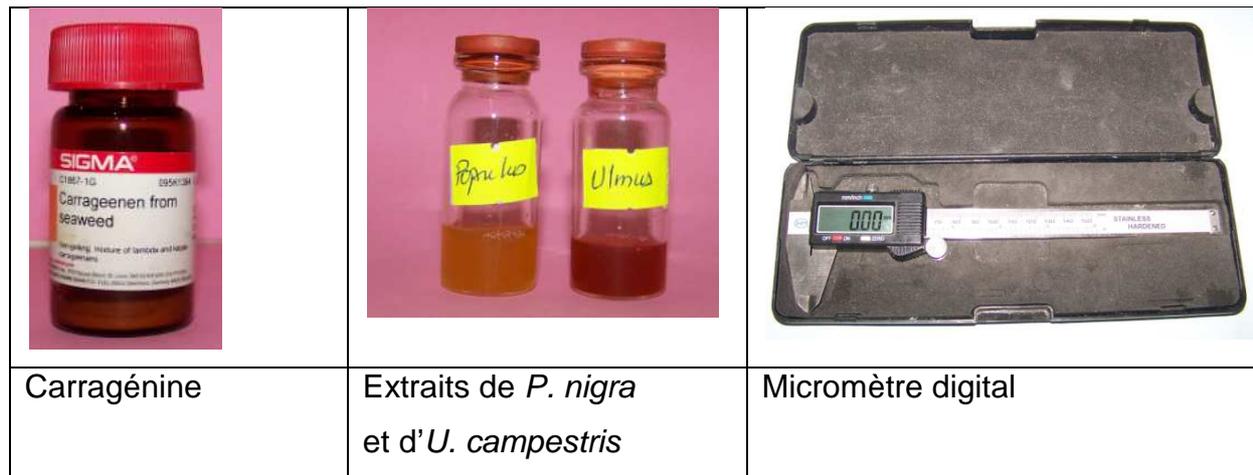


Figure 23 : Les réactifs et l'appareillage

I.2.Méthode

I.2.1.Préparation des extraits

✓ La récolte

Les bourgeons du Peuplier noire et les écorces d'Orme champêtre ont été récoltés et échantillonnés en mars et septembre, respectivement dans la forêt d'AzrunBechar à Amizour situé à l'est de Bejaia.

✓ Le Séchage

Les bourgeons de *Populus nigra* et les écorces d'*Ulmus campestris* ont été séchés à l'étuve (37°C) afin d'éliminer toute trace d'humidité.

✓ Le Broyage

A l'aide d'un broyeur électrique, les bourgeons de *Populus nigra* et les écorces *Ulmus campestris* ont été broyés, afin d'obtenir une poudre fine.

✓ Tamisage

La poudre obtenue a été tamisée pour récupérer une poudre très fine afin d'optimiser l'extraction (63µm). La poudre a été préservée dans des flacons en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

✓ Extraction

C'est une extraction sélective avec plusieurs solvants selon le Protocol de Chiang et ses collaborateurs, avec quelques modifications (figure 24) :

1. 600g de poudre de *Populus nigra* et d'*Ulmus campestris* ont été macérés dans de l'éthanol avec un rapport de 1:6 (P/V) et 1:4 (P/V) respectivement.
2. Le mélange a été laissé sous agitation pendant 24h après décantation le surnageant a été centrifugé puis séché à l'air libre et à une température ambiante.
3. L'extrait éthanolique obtenu a été remis dans un mélange eau/acétate d'éthyle avec un rapport de 1:3 (V/V).
4. Après séparation et séchage, la phase organique d'acétate d'éthyle subit une autre extraction avec un mélange chloroforme /eau 1:3 (V/V) (Chiang et al., 1994).

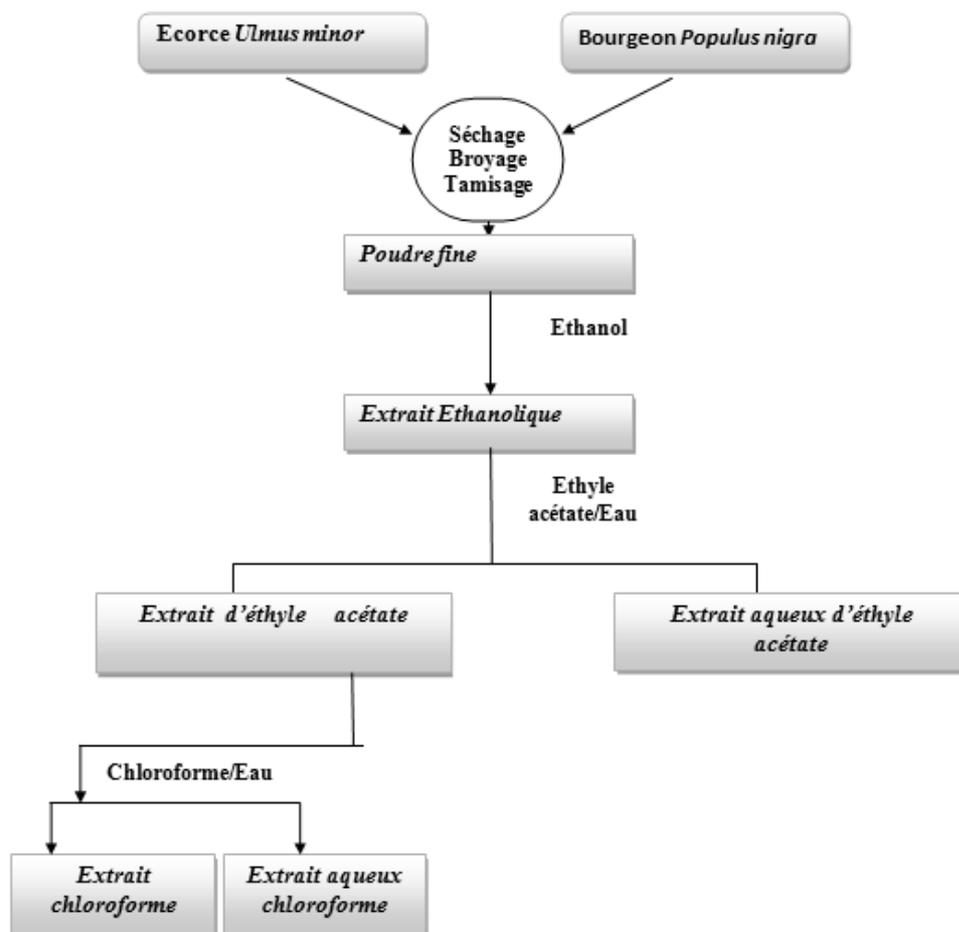


Figure 24 : Les étapes d'extraction (Chiang et al., 1994).

Matériels et méthodes

En se basant sur les résultats des études *in vitro* déjà réalisés au niveau du laboratoire de Biochimie Appliquée, nous avons choisi l'extrait aqueux chloroforme de *P. nigra* et aqueux de l'acétate d'éthyle d'*U. campestris*, pour l'évaluation leur activité anti-inflammatoire sur un modèle animal.

I.2.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire

I.2.2.1. Le principe

Pour mettre en évidence l'activité anti inflammatoire des extraits de *Populus nigra* et d'*Ulmus campestris* un modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris, induite par la carragénine a été sélectionné.

Ce test consiste en une injection de l'agent phlogistique au niveau de la patte de la souris. L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire.

I.2.2.2 .Evaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits de plantes

La technique utilisée est inspirée de la méthode décrite par (Winter et *al.*, 1963 in Sonogo et *al.*, 2006; Okokon et *al.*, 2006). Des œdèmes au niveau des pattes de souris sont induits après injection sub-plantaires (intra-articulaire) d'une solution de carragénine sur la patte arrière gauche (figure 25), une heure après l'administration de la solution test par voie intra-gastrique (figure 25).

Les animaux utilisés sont privés de nourriture pendant les 12 heures précédant l'expérience et privés d'eau pendant la période expérimentale.

Un effectif de 36 souris a été réparti en 04 lots (10 souris par lot, 06 souris pour le diclofenac) comme suit :

- **Le groupe témoin** : reçoit une solution de NaCl (0,9%) (10ml/Kg) de la solution préparé a été administrée par voie intra-gastrique 1h avant l'injection de la carragénine.

- **Le groupe contrôle**: reçoit un anti-inflammatoire de référence (diclofénac) à 50 mg/Kg, dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution de (10ml/Kg) a été administrée par voie intra-gastrique 1heure avant l'injection de la carragénine.

Matériels et méthodes

- **Les deux groupes tests** : un reçoit l'extrait de *Populus nigra* et l'autre reçoit celui d'*Ulmus campestris*) 200 mg/Kg dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution (10ml/Kg) a été administrée de la même façon que l'anti-inflammatoire de référence.

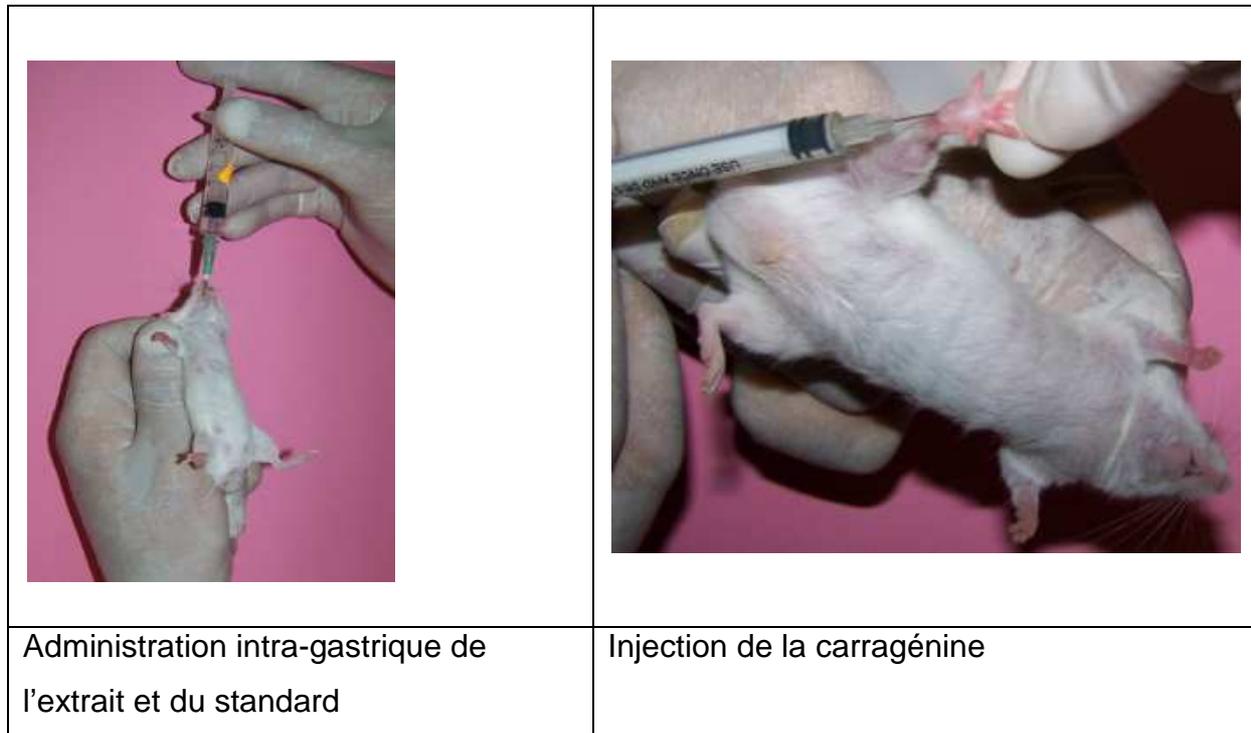


Figure 25: Représentative de l'administration intra-gastrique et de l'injection.

L'œdème est évalué par la mesure du diamètre (mm) de la patte dans l'axe dorsal-plantaire par le micromètre digital avant et à des intervalles d'une heure, pendant 5 heures et 24 heures après injection de la carragénine.

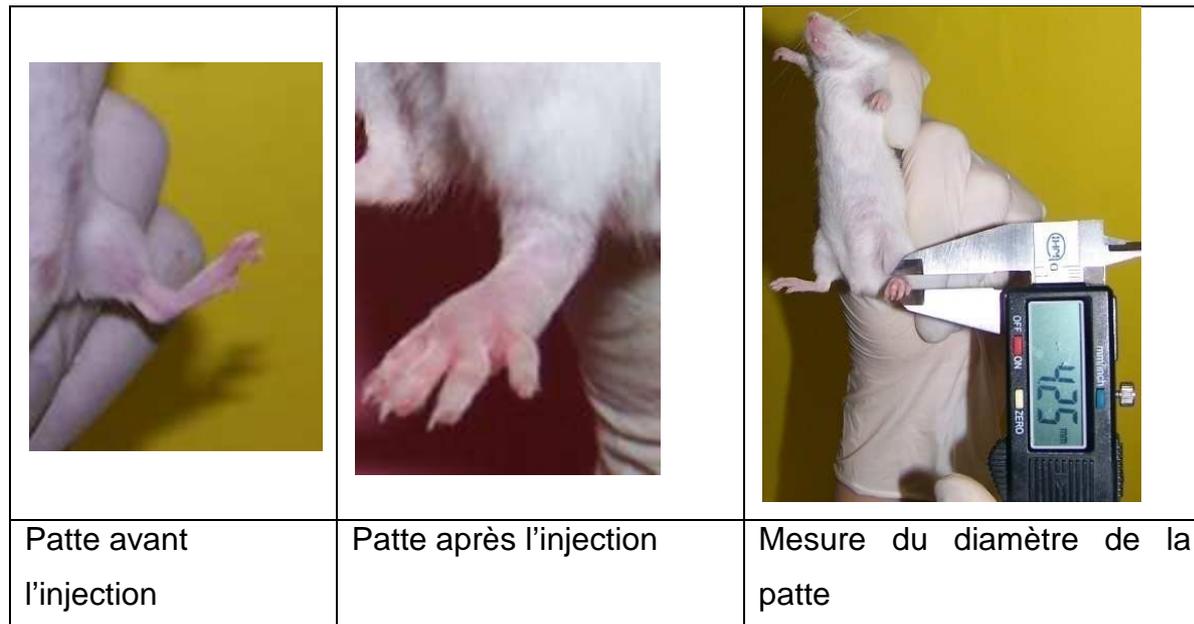


Figure 26: Présente la patte avant et après l'injection et la méthode de mesure.

L'activité anti-inflammatoire est évaluée par la détermination du pourcentage d'augmentation de l'œdème, en présence du standard et de l'extrait des deux plantes sélectionnées relativement au contrôle. Selon la formule suivante :

$$\% \text{ œdème} = [(Dn - Do) / Do] \times 100$$

(Do : diamètre moyen mesuré avant l'injection de la carragénine).

(Dn: diamètre moyen mesuré aux heures de relevé n=1 à 5 heures après l'injection de la carragénine).

L'activité anti-inflammatoire des produits testés est estimée par la détermination des pourcentages d'inhibition de l'œdème, calculé suivant la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Dn - Do) \text{ témoins} - (Dn - Do) \text{ traité}] / (Dn - Do) \text{ témoins} \times 100$$

I.2.3 Analyse des résultats

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne \pm SEM. En utilisant le logiciel Statistica, les moyennes ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA). Une différence significative est représentée par un $p \leq 0,05$.

Résultats et Discussion

Résultats et discussions

II.1.Résultats

L'étude de l'activité anti inflammatoire de *P. nigra* et d'*U. campestris* a été réalisée sur un modèle animal en provoquant une inflammation aigue, au niveau de la patte de la souris, par injection de la carragénine.

L'évaluation est basée sur la mesure du diamètre de la patte avant et après injection de la carragénine, chaque heure, pendant cinq heures et à 24h. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV: Le diamètre de la patte mesurée en fonction du temps chez les lots, témoin et traitées par le diclofénac et les deux extraits des plantes *P. nigra* et *U. campestris*.

Lots	AV INJ	1h	2h	3h	4h	5h	24h
Témoin 10ml/Kg	2,33±0,02	3,26±0,06	3,53±0,08	3,84±0,15	3,88±0,08	3,86±0,07	3,58±0,12
<i>P. nigra</i> 200mg/Kg	2,34±0,03	2,86±0,06	2,86±0,08	2,85±0,34	3,51±0,10	3,50±0,12	3,18±0,13
<i>U. campestris</i> 200mg/Kg	2,33±0,01	3,00±0,10	2,99±0,11	3,34±0,14	3,54±0,12	3,59±0,10	3,29±0,15
Diclofénac 50mg/Kg	2,34±0,01	2,96±0,03	2,90±0,04	2,97±0,09	3,07±0,11	3,13±0,14	3,14±0,09

1-Les valeurs sont la moyenne± SEM, test LSD ou comparaison planifié, (n=10).

2- P<0.05 différence significativement par rapport au témoin

L'injection de la carragénine a provoqué une augmentation du diamètre des pattes en fonction du temps chez les quatre groupes expérimentaux, cette augmentation étant plus importante chez le groupe témoin, avec un maximum de 3,84±0,15mm à partir troisième heure, en comparant aux groupes traités par le diclofénac, l'extrait aqueux chloroforme de *P. nigra* et l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle d'*U. campestris*.

On a également enregistré que le diamètre des pattes a diminué chez tous les lots après 24 heures d'injection de la carragénine, sans atteindre le diamètre initial.

Les diamètres mesurés nous ont permis de calculer le pourcentage d'augmentation de l'œdème en fonction du temps au niveau des quatre lots (figure 27).

Résultats et discussions

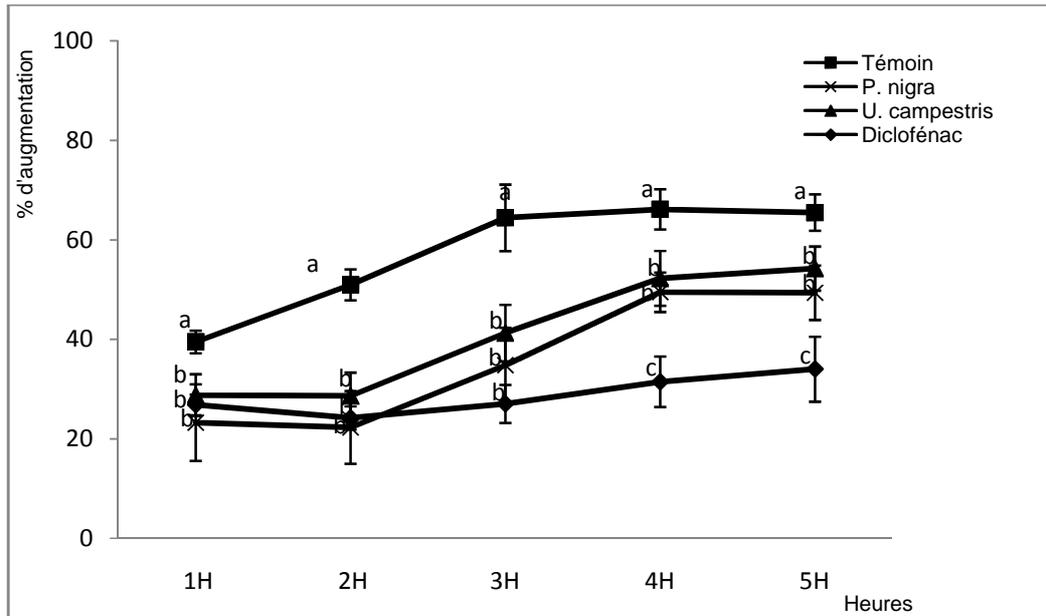


Figure 27 : Pourcentage d'augmentation de l'œdème chez le lot, témoin, standard et les lots traités par les extraits de *Populus nigra* et *Ulmus campestris*.

L'évolution de l'œdème est significativement plus importante chez le groupe témoin par rapport aux autres groupes, et atteint un pic caractéristique d'une inflammation aigue aux environs de 4 heures après injection de la carragénine ($66.18 \pm 4.05\%$). L'œdème a été significativement diminué à $28,72 \pm 4,67$, $22,3 \pm 7,30$ et $24,27 \pm 2,34$ chez les groupes traités par l'extrait d'*U. campestris*, l'extrait de *P. nigra* et le diclofénac respectivement. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les trois groupes expérimentaux jusqu'à la troisième heure, alors que des différences significatives ($P < 0.05$) ont été notées à partir de la quatrième heure entre les groupes traités par les extraits et le groupe contrôle positif.

Résultats et discussions

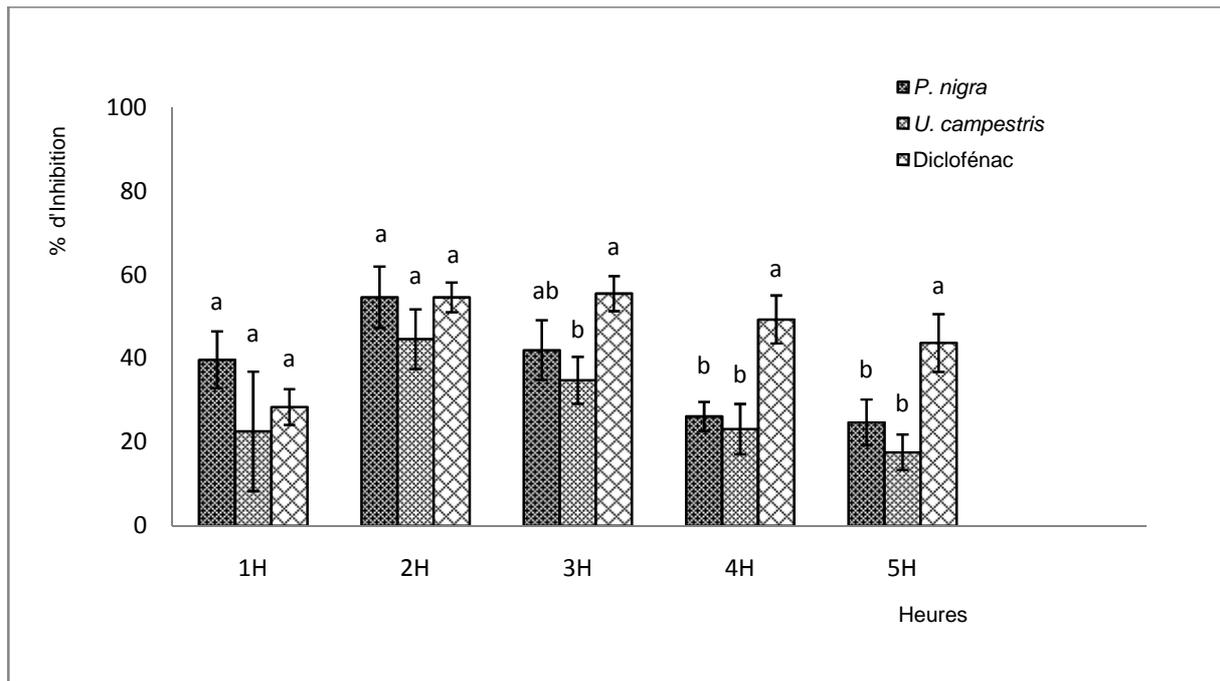


Figure 28: Pourcentage d'inhibition de œdème chez les souris traitées par le diclofénac et par les deux extraits des plantes : *Populus nigra* et *Ulmus campestris*.

Les résultats ont révélé que l'extrait aqueux chloroforme de *Populus nigra* a efficacement inhibé la formation de l'œdème 39,71±7,71% dès la première heure après injection de la carragénine et deux heures après son administration intra-gastrique. L'effet inhibiteur maximal est apparu à la deuxième heure d'expérimentation avec un pourcentage d'inhibition de 54,70±7,30 %. L'extrait aqueux d'acétate d'éthyle d'*U. campestris* a inhibé la formation de l'œdème à la deuxième heure 44,66±7,15%, on a aussi remarqué que cet effet inhibiteur a diminué dans les heures qui suivaient.

L'Administration préventive du diclofénac a significativement inhibé l'œdème pendant la durée de l'expérimentation avec une plus grande efficacité 55,55±7,24% au environ de la troisième heure après injection de la carragénine.

II.2.Discussion

Il a été rapporté que l'extraction des composés phénoliques à partir du matériel de la plante est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction utilisée, la taille des particules de l'échantillon, le temps et les conditions de stockage aussi bien que la présence d'autres substances (Chavan et *al.*, 2000; Goli et *al.*, 2004).

Ainsi Les deux parties de plantes étudiée ont été séchées dans des conditions de température et de l'obscurité qui permettent une bonne conservation des composés actifs.

Pour extraire le maximum de composés nous avons utilisé une poudre très fine d'un diamètre inférieur ou égal à 63 μ m et cela pour augmenter la surface d'échange entre le solvant et le matériel solide (la poudre).

La méthode d'extraction utilisée permet de séparer et de sélectionner les composés actifs dans les différentes phases. L'éthanol est utilisé dans la première étape, est un excellent solvant permettant l'extraction des polyphénols et possède une faible toxicité comparé au méthanol (Cowan, 1999).

L'œdème plantaire à la carragénine est un protocole expérimental très utilisé pour l'étude du modèle d'inflammation aigüe (Winter et *al.*, 1962 in Lattanzio et *al.*, 2011; Kaith et *al.*,1996; Loro et *al.*, 1999; Arunachalam et *al.*, 2002; Chattopadhyay et *al.*, 2002; Ismaili et *al.*, 2004; Perazzo et *al.*, 2005; Lu et *al.*, 2007; Owoyele et *al.*, 2009; Su et *al.*, 2012).

La carragénine est l'agent phlogistique sélectionné pour cette étude (Mujumdar et Misar, 2004) le choix de la carragénine est dû au fait qu'elle n'est pas antigénique et ne cause pas des effets systémiques (Kaushik et *al.*, 2011). La technique de l'œdème plantaire à la carragénine a été utilisée en raison de sa simplicité d'exécution, de la rapidité d'apparition des effets (Yonathan et *al.*, 2006) et aussi en raison de sa reproductibilité (Kale et *al.*,2007).

Plusieurs études sur la physiologie de l'œdème ont montré qu'après injection de la carragénine, une progression du développement d'œdème qui atteint un niveau maximal autour de 3 h était suivi par une période de stabilité et l'inflammation dure jusqu'à 24 à 96 heures (Kaith et *al.*,1996; Loro et *al.*, 1999; Mujumdar et Misar, 2004;

Résultats et discussion

Perazzo et *al.*,2005; Kale et *al.*,2007; Amouzoum et *al.*, 2008). Nos résultats sont en accord avec les études antérieures, car chez le groupe témoin, l'injection intra-articulaire de la carragénine a fait apparaître un œdème qui augmente en fonction du temps et atteint un pourcentage d'augmentation maximal ($66,18 \pm 4,05\%$) après 4 heures et une stabilité après 5 heures. 24 heures après injection de la carragénine nous avons remarqué une régression significative de l'œdème ($53,11 \pm 6,20\%$) qui tend à disparaître.

En utilisant les antagonistes des divers médiateurs d'inflammation, Ratnasooriya (2005) a montré que la réponse inflammatoire à la carragénine consiste en trois phases : phase initiale (1–2 h) caractérisée par la libération des histamines et des sérotonines qui interviennent dans la vasodilatation des vaisseaux, la transsudation plasmatique et l'œdème; une seconde phase (2–3 h) qui fait appel aux kinines plus exactement les bradykinines comme médiateurs, il augmentent la perméabilité vasculaire et une troisième phase (3–6 h) dont le médiateur est supposé être la prostaglandine associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée (Rotteli et *al.*, 2003; Ratnasooriya, 2005).

Dans notre étude nous avons d'abord vérifié la validité de la méthode en testant le diclofénac [(2,6-dichlorophenyl) amino] phenylacetate, un anti-inflammatoire non stéroïdien très efficace contre l'œdème à la carragénine.

Le diclofenac a réduit l'augmentation de l'œdème dès la première heure, de $39,54 \pm 2,29\%$ enregistré chez le témoin à $26,90 \pm 2,11\%$. Ce composé a inhibé l'œdème de façon significative pendant les 5h de mesures et a montré un pic caractéristique à la troisième heure avec un pourcentage d'inhibition de $55,55 \pm 7,24\%$. Ces résultats ont été déjà rapporté par d'autres études (Ara et *al.*, 2010; Talwar et *al.*, 2011; Ananthi et *al.*, 2010) qui ont suggéré que la molécule de référence agit à la 3^{ème} phase, en inhibant la libération de la prostaglandine. Le diclofénac est connu comme un puissant inhibiteur de la COX (Alam et *al.*, 2011).

Dans le but de justifier l'utilisation traditionnelle des extraits de *Populus nigra* et *Ulmus campestris* dans le traitement des maladies à caractère inflammatoire, nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire des extraits des deux plantes sélectionnées sur un modèle animal. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité de ces extraits en comparaison avec le diclofénac sodique.

Résultats et discussion

L'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux, de chloroforme de *P. nigra* de et d'acétate d'éthyle d'*U. campestris* est apparu dès la première heure après injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition maximal obtenu après deux heures de $54,70 \pm 7,30\%$ et $44,66 \pm 7,15\%$, respectivement. Nos résultats coïncident avec ceux obtenus avec d'autres plantes, qui ont suggéré que les extraits actifs à 2 heure après injection de l'agent phlogistique agissent sur les histamines, les sérotonines et les kinnines (Adedapo et al., 2008; Karawya et al., 2010; Mequanint et al., 2011; Okokon et al., 2012). Les extraits se sont révélés moins actifs après les trois heures, mais présentent des pourcentages d'inhibition modérés de $42,03 \pm 7,57\%$ et $34,83 \pm 5,96\%$ pour l'extrait aqueux de *P. nigra* et *U. campestris* respectivement. Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de certains composés dans les extraits qui peuvent agir sur la troisième phase en réprimant la synthèse des prostaglandines. Karawya et ses collaborateurs (2010) ont suggéré que l'extrait de feuilles de *P. nigra* a inhibé l'œdème à la carragénine en agissant sur la COX. La diminution de l'effet inhibiteur des extraits ($24,78 \pm 5,47\%$ pour l'extrait de *P. nigra* et $17,61 \pm 4,23\%$ pour l'extrait *U. campestris* à 5h) après les deux heures peut être expliquée aussi par le métabolisme de ces derniers.

L'activité anti-inflammatoire des deux plantes peut être due à leur composition en métabolites secondaires. En effet *P. nigra* contient des phénols glycoside tels que, salicine et populine (Toiu et al., 2011) qui possèdent un effet inhibiteur de la COX (Agnihotri et al., 2010).

Les acides phénoliques tels que, l'acide caféique, acide p-coumarique, des flavonoïdes tels que, la quercétine et lutéolin ont été identifiés dans les bourgeons de *P. nigra* (Goetz, 2011a) des études *in vitro* et *in vivo* ont suggéré que la quercétine (Nair et al., 2006; Comalada et al., 2005) et lutéoline (López-Lázaro, 2009) réduisent l'inflammation en empêchant, la synthèse et la libération de médiateurs inflammatoires par l'inhibition de l'activité du Nf-KB (Comalada et al., 2000; López-Lázaro, 2009), et inhibent ainsi l'expression de la phospholipase A2 et de la COX (Orhan et al., 2007).

Plusieurs espèces d'*Ulmus* ont été étudiées, il a été montré que les extraits d'*Ulmus davidiana* et *Ulmus macrocarpa* contiennent des flavonoïdes comme la catéchine et ses dérivés (Jung et al., 2010). Ces composés inhibent, la peroxydation lipidique,

Résultats et discussion

chélate leFe²⁺ et inhibent l'expression de iNOS et COX-2 (Lee et *al.*, 2007; Kwon, 2011). La quercétine et le kaempferol ont été isolés à partir d'*Ulmus pinnato-ramosa* (Chumbalov, 1974); ces deux substances ont un effet anti-inflammatoire.

Les flavonoïdes à travers leur groupements hydroxyles (C₃-OH) fortement réactifs possèdent une activité antioxydant et une capacité de piéger les radicaux libres en particulier O₂⁻, OH, NO (Ghedira, 2005). La production des espèces réactives d'oxygène, le monoxyde d'azote et le peroxy-nitrite par les neutrophiles pendant l'inflammation induite par la carragénine a aussi été déterminée (Pasquier, 1995) et un certain nombre d'inhibiteurs spécifiques possédant une utilisation clinique potentielle ont été identifiés. L'activité anti-inflammatoire enregistrée au niveau des extraits testés peut en partie due à la présence de composés actifs possédant des activités anti-radicalaires.

Conclusion

Conclusion

Récemment, le modèle d'œdème de la patte chez la souris induit par un agent phlogistique est devenu un prototype de modèles de douleur inflammatoire localisée permettant la détermination des substances à activité anti-inflammatoire.

L'administration intra-gastrique des extraits aqueux de *P. nigra* et *U. campestris* à une dose de 200 mg/Kg a montré un effet inhibiteur significatif de l'inflammation locale induite par la carragénine, au niveau de la patte de la souris en agissant sur les différentes phases de l'inflammation. L'activité maximale est observée à la deuxième heure avec des pourcentages d'inhibition de $54,70 \pm 7,30\%$ et $44,66 \pm 7,15\%$ pour l'extrait aqueux chloroforme de *P. nigra* et aqueux d'acétate d'éthyle d'*U. campestris* respectivement. L'administration préventive du diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien, a significativement inhibé l'œdème pendant toutes les heures de l'expérimentation avec une plus grande efficacité $55,55 \pm 7,24\%$ au environ de la troisième heure après injection sub-plantaire de l'agent pro-inflammatoire utilisé.

Les résultats obtenus nous ont permis de suggérer que les extraits testés contiennent des molécules qui peuvent agir sur la synthèse des histamines, des sérotonines et des kinines, aussi leur mode d'action sur la synthèse des prostaglandines ne doit pas être négligé.

Pour élucider le mécanisme d'action des composés actifs présents dans nos extraits:

Après les meures finales, les animaux ont été sacrifiés et les pattes ont été récupérées en coupant au niveau du tibio-tarsal. Ces dernières ont été conservées à -80°C et seront utilisées pour une large variété d'essais liés à la réponse inflammatoire. Le tissu de la patte peut être examiné par immunohistochemie ou par hybridation *in situ* pour la localisation cellulaire et la quantification de protéines spécifiques comme les facteurs de croissance, des cytokines, ou pour la mesure de prostaglandine E_2 et l'activité d'élastase et de cyclooxygenase. Le liquide d'œdème peut aussi être récupéré par centrifugation de pattes entières et la mesure directe de molécules spécifiques.

L'identification des composés responsables de l'activité testée serait à envisager dans le but d'une application pharmaceutique.

Bibliographie

Abdelwahab S. I. , Ahmed H. L. E., Sirat H. M., A. Yagi S. M., Koko W. S., Mohan S., Taha M. M.E., Ahmad S., Shiau Chuen C., Narrima P., Rais M. M., A., Hadi H.A. (2011). Anti-inflammatory activities of cucurbitacin E isolated from *Citrullus lanatus* var. *citroides*: Role of reactive nitrogen species and cyclooxygenase enzyme inhibition. *Fitoterapia* **82**: 1190–1197.

Adedapo A. A., Sofidiya M. O., Maphosa V., Moyo B., Masika P. J., Afolayan A. J. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extract of *Cussonia paniculata* stem Bark. *Records of Natural Products* **2**: 46-53.

Agnihotri S., Wakode S., Agnihotri A. (2010). An overview on anti-inflammatory properties and chemo-profiles of plants used in traditional medicine. *Indien Journal of National Products and Resources* **1**: 150-167.

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

Alex L. Huang et Vita J. A. (2006). Effects of Systemic Inflammation on Endothelium-Dependent Vasodilation. *Trends Cardiovasc Med* **16**: 15-20.

Ananthi S., Raghavendran H. R. B., Sunil A. G., Gayathri V. , Ramakrishnan G., Vasanthi H.R. (2010). *In vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga). *Food and Chemical Toxicology* **48**: 187–192.

Ara A., Arifuzzaman M., Ghosh C. K., Hashem M. A., Ahmad M. U., Bachar S. C., Nahar L., Sarker S. D. (2010). Anti-inflammatory activity of *Adenanthera pavonina* L., Fabaceae, in experimental animals. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 1-3.

Bannwarth B. et Bernbaum F. (1999). Nouveaux anti-inflammatoires non-stéroïdiens : donneurs de NO et inhibiteurs de COX-2. *Médecine interne* **3**: 5-341.

Bauer J., Koeberle A., Dehm F., Pollastro F., Appendino A., Northoff H., Rossi A., Sautebin L., Werz O. (2011). Arzanol, a prenylated heterodimeric phloroglucinyl pyrone, inhibits eicosanoid biosynthesis and exhibits anti-inflammatory efficacy *in vivo*. *Biochemical Pharmacology* **81**: 259–268.

Beck W. S. (1991). *Hematology*. MIT Press. France. 667p

Beloued A. (2001). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications Universitaires. Algérie. 368p.

Binard A., Saraux A. (2006). Inflammation rhumatisales. *Elsevier SAS Paris* **14** : 1-21.

Bisht K., Wagner K. H., Bulmer A. C. (2010). Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* **278**: 88–100.

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

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

Bousta D. et Ennabili A. (2011). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. Pharmacognosie. *Phytothérapie* **9**: 297-303.

Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier. TEC & DOC. Paris. 1269p.

Byeon S. E. , Joo Young Chung J. Y., Yong Gyu Lee Y. G., Byung Hun Kim B. H., Kim K. H. , Cho J. Y. (2008). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. *Journal of Ethnopharmacology* **119**: 145–152.

Carvalho J. C.T., Sertié J.A.A., Barbosa M. V.J.,Patricio K. C.M., Caputo L. R.G., Sarti S. J., Ferreira L. P., Bastos J. K. (1999). Anti-inflammatory activity of the

crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog. *Journal of Ethnopharmacology* **64**: 127–133.

Cavaillon J. M. (1996). Inflammation d'origine bactérienne. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* **36**: 914-924.

Césarini J. P. (2004). *Le sélénium: actualités*. John Libbey Eurotext, 145p.

Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N. (2004). *Immunologie*. De Boeck. France. 372p.

Chavan, U. D.; Shahidi, F. and Naczk, M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Larthyus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry* **75**: 509-512.

Chiolero A, Würzner G. et Burnier M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques. *Néphrologie* **8**: 425-430.

Cho H., Madu A. (2009). Etiology and treatment of the inflammatory causes of cystoid macular edema. *Journal of Inflammation Research* **2**: 37–43.

Chou W.W., Wang Y. S., Chen K. C., Wu J. M., Liang C. L., Juo S.H. H. (2012). Tannic acid suppresses ultraviolet B-induced inflammatory signaling and complement factor B on human retinal pigment epithelial cells. *Cellular Immunology* **273**: 79–84.

Chumbalov T. K., Nurgalieva G. M., Abdykaiyкова R. A. (1972). Flavonol Glycosides From The Leaves of *Ulmus pinnato-ramosa*. *UDC*. **3**: 547.972.

Cohen Y., Jacquot C. (2008). Anti-inflammatoires. *Pharmacologie* 324–342.

Comalada M., Camuesco D., Sierra S., Ballester I., Xaus J., Galvez J., Zarzuelo A. (2005). *In vivo* quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF- κ B pathway. *European Journal Immunology* **35**: 584–592.

Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G. A., Uzunov D., Tubaro A., Menichini F., Loggia R. D. (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology* **116**: 144–151.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* **9**: 564-582.

Crockett S. L., Wenzig E. M., Kunert O., Bauer R. (2008). Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. *Phytochemistry Letters* **1**: 37–43.

Das U. N. (2010). Current and emerging strategies for the treatment and management of systemic lupus erythematosus based on molecular signatures of acute and chronic inflammation. *Journal of Inflammation Research* **3**: 143–170.

Debuigne G. et Couplan F. (2009). *Petit Larousse des plantes médicinales in* Olivaux T. Larousse. France.

Degenhardt J., Köllner T. G., Gershenzon J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry* **70**: 1621–1637.

Devesa I., Planells-Cases R., Fernández-Ballester G., González-Ros J. M., Devillier P. (2004). Effets synergiques et additifs entre les différentes classes d'anti-inflammatoires de l'asthme. *Allergologie et immunologie clinique* **45** : 416-421.

Diebold J., Molina T., Bigorgne C., Audouin J. et Tourneau A. (1995). les expressions morphologiques de la réaction inflammatoire. *Revue française des laboratoires* **276** : 21-25.

Dunois-Lardé C., Baruch D. (2011). Production de plaquettes in vitro. *Transfusion Clinique et Biologique* **18** : 158–164.

Edeas M., Attaf D., Mailfert A.-S, Nasu M., Joubet R. Maillard (2010). Reaction, mitochondria and oxidative stress: Potential role of antioxidants. *Pathologie Biologie* **58**: 220–225.

Elling B., Rothenberg M.A., Elling K. M., Pollak A. N. (2006). *Pathophysiology: Paramedic Jones & Bartlett Learning*. USA. 181p.

Fernandes E. S., Passos G. F., Medeiros R. Cunha F. M., Ferreira J., Campos M. M., Pianowski L. F., Calixto J. B. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (–)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European Journal of Pharmacology* **569**: 228 – 236.

Ferrer-Montiel A., Fernández-Carvajal A. (2011). Role of the transient receptor potential vanilloid 1 in inflammation and sepsis. *Journal of Inflammation Research* **4**: 67–81.

Fourcade O., Simom M. F., Le Belle F., Fauvel J., Génestal M., Cathala B., Chap H. (2000) .Phospholipase A₂ type IIA et syndrome inflammatoire .*Reanim Urgences* **9**: 355-66.

Fradelizil D. et Theze J. (1998). Cytokines : médiateurs de la réponse immunitaire et de la réaction inflammatoire. *Annales de l'institut Pasteur/ actualité* **9** : 95-106.

Funakoshi-Tago M., Nakamura K., Tago K., Mashino T., Kasahara T.(2011). Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, Apigenin, Luteolin and Fisetin. *International Immunopharmacology* **11**: 1150–1159.

G. Willoquet, Talbert M., Gervais R. (2011). *Guide pharmaco clinique*. Wolters Kluwer. France, 1610 p.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* **4**: 162-169.

Goetz P. (2011a). Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie* **9**: 310-317.

Goetz P. (2011b). Phytothérapie de l'inflammation (partie II). *Phytothérapie* **9**: 362–368.

Goli, A. H., Barzegar, M., Sahari, M. A., 2004. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachiavera*) hull extracts. *Food chemistry* **92**: 521-525.

Gosset P., Lassalle P., Molet S.,Tonnel A. B. (1998). Interactions cellules inflammatoires endothélium dans la réaction inflammatoire allergique. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* **38** : 176-181.

Han X., Shen T., Lou H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* **8**: 950-988.

Hichter W. (2008). *350 plantes médicinales*. Delachaux et Nestlé. France. 255p.

Hopkins W.G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck. 514p.

- Iserin P. (2001).** *Larousse des plantes médicinales*. Larousse Paris. 335p.
- Ismaili H., Milella L., Fkih-Tetouani S., Ildrissi A., Camporese A., Sosa S., Altinier G., Loggia R. D., Aquino R. (2004).** *In vivo* topical anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. *Journal of Ethnopharmacology* **91**: 31–36.
- Janeway C. A., Travers P., Walport M. (2003).** *Immunobiologie*. De Boeck . France. 792 p.
- Jouzeau J.Y., Daouphars M., Benani A., Netter P. (2004).** Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin Biol* **28** : 7-17.
- Kaith B.S., Kaith N.S., Chauhan N. S. (1996).** Short communication Anti-inflammatory effect of *Arnebia euchroma* root extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **55**: 77- 80.
- Kale M., Misar A.V., Dave V., Joshi M., Mujumdar A.M. (2007).** Anti-inflammatory activity of *Dalbergia lanceolaria* bark ethanol extract in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* **112**: 300–304.
- Kanaji N., Sato T., Nelson A., Wang X., Li Y. J., Kim M., Masanori N. , hesham B., Michalski J., Maha Farid , Chandler M., Pease W., Patil A. ,Rennard S. I.,Liu X. (2011).** Inflammatory cytokines regulate endothelial cell survival and tissue repair functions via nF-κB signaling. *Journal of Inflammation Research* **4**:127–138.
- Kelly M, Hwang J. M. et Kubes P. (2007).** Modulating leukocyte recruitment in inflammation. *J Allergy Clin Immunol* **120**: 3-8.
- Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme* **20**: 165 – 177.
- Kvietys P. R., D. Granger N. (2012).** Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radical Biology and Medicine* **52**: 556–592.

Kwon J.-H., Kim S.-B., Park K.-H., Lee M.-W. (2011). Antioxidative and Anti-inflammatory Effects of Phenolic Compounds from the Roots of *Ulmus macrocarpa* Archives of Pharmacal Research **34**: 1459-1466.

Lattanzio F., Greco E., Carretta D. , Cervellati R., Govoni P., Speroni E. (2011). In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. extract. *Journal of Ethnopharmacology* **137**: 880–885.

Léophonte P., Guérin J.-C., Lebas F.-X., Liard F., Boulanger P. (2006). Stress oxydatif et BPCO. Rôle des infections. Prévention oxidatif-stress and COPD. Role of infection. *Prevention Médecine et maladies infectieuses* **36** : 245 – 252.

Lévesque H., Lafont O. (2000). L'aspirine à travers les siècles : rappel historique. *Medicine Interne* **21**: 8-17.

Lillian S. B., Smeltzer S. C., Suddarth D. S., Bare B. (2006). *Soins infirmiers en médecine et en chirurgie: 5. Fonctions immunitaire et tégumentaire.* De Boeck, France. 392p.

López-Lázaro M. (2009). Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **9**: 31-59.

Loro J.F., Rio I., Pérez-Santana L. (1999). Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology* **67**: 213–218.

Lu T.-C., Ko Y.-Z., Huang H.-W., Hung Y.-C., Lin Y.-C., Peng W.-H. (2007). Analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous extract from *Glycine tomentella* root in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **113**: 142–148.

Lugasi A, Hovari J, Sagi k, v et Biro L, (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis* **47**: 119-125.

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

Mariotti F., (2011). L'inflammation postprandiale : les données récentes suggèrent un rôle préventif des proteines alimentaires et de leur nature. *OCL. VOL* **18**: 14-20.

Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* **51**: 304–315.

Mclaren M., Kennedy G. (2005). Endothelium II: inflammatory response. *The Medicine Publishing Company Ltd* **23**: 1-6.

Mequanint W., Makonnen E., Urga K. (2011). *In vivo* anti-inflammatory activities of leaf extracts of *Ocimum lamiifolium* in mice model. *Journal of Ethnopharmacology* **134**: 32–36.

Millet F. (2010). Les formes galéniques et les huiles essentielles. *Phytothérapie* **8**: 33–36.

Moreiraa L.Q., Vilelab F. C., Orlandib L., Diasa D. F., Santosa A. L. A., DA Silvaa M. A., Paivac R., Alves-da-Silvaa G., Giusti-Paiva A. (2011). Anti-inflammatory effect of extract and fractions from the leaves of *Byrsonima intermedia* A.Juss.in rat. *Journal of Ethnopharmacology* **138**: 610-615.

Mujumdar A.M., Misar A.V. (2004). Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* **90**: 11–15.

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

Nair M. P., Mahajan S., Reynolds J. L., Aalinkeel R., Nair H., Schwartz S. A., Kandaswami C. (2006). The Flavonoid Quercetin Inhibits Proinflammatory Cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha) Gene Expression in Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells via Modulation of the NF-kB System. *Clinical and Vaccine Immunology* **13**: 319-328.

Naveau B. (2005). Dual Inhibition of Cyclo-oxygenases and 5-Lipoxygenase: a Novel Neutrophils Therapeutic Approach to Inflammation?. *Joint Bone Spine* **72**: 199–201.

Nicolaou A. (2012). Eicosanoids in skin inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (in press)*

Okuda T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry* **66**: 2012–2031.

- Orlikova B., Tasdemir D., Golais F., Dicato M., Diederich M. (2011).** The aromatic ketone 4'-hydroxychalcone inhibits TNF α -induced NF- κ B Activation via proteasome inhibition. *Biochemical Pharmacology* **82**: 620–631.
- Owoyele B. V., Nafiu A. B., Oyewole I. A., Oyewole L. A., Soladoye A. O. (2009).** Studies on the analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Parquetina nigrescens* leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology* **122**: 86–90.
- Pasquier C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires* **276** : 87-92.
- Perazzo F. F., Gustavo H.B. Souza G. H. B., Lopes W., uis CardosoL. G.V., Carvalho J. C.T., Nanayakkara N.P. D., Bastos J. K. (2005).** Anti-inflammatory and analgesic properties of water–ethanolic extract from *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) aerial parts. *Journal of Ethnopharmacology* **99**: 215–220.
- Pratico D. (2005).** Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis* **181**: 215–224.
- Raghav S. K., Gupta B., Shrivastava A., Das H. R. (2007).** Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase and IL-1 β through suppression of NF- κ B activation by 3-(1-1-dimethyl-allyl)-6- hydroxy-7-methoxy-coumarin isolated from *Ruta graveolens* L. *European Journal of Pharmacology* **560**: 69 – 80.
- Ravat F., Payre J., Peslages P., Fontaine M., Sens N. (2011).** La brûlure : une pathologie inflammatoire Burn: An inflammatory process. *Pathologie Biologie* **59**: 63–72.
- Russo-Marie F. (2000).** Inflammation. *Encyclopédie médico-chirurgicale* **50** : 10-30.
- Sakat S. S., ARCHANA R Juvekar A. R. et Gambhire M. N., (2010).** In-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis coniculata* linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.**2**: 146-155.
- Sanogo R., Maiga A., Diallo D. (2006).** Activités analgésiques et anti-inflammatoires des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereospermum kuntrianum* et *Tricrilia Emetica* utilisés dans le traitement traditionnel des dysménorrhées au mali. *Pharma. Méd. Trad. Afr* **9** : 123-136.

Talwar S., Nandakumar K., Nayak P. G., Bansal P., Mudgal J., Mor V., Rao C. M., Lobo R. (2011). Anti-inflammatory activity of *Terminalia paniculata* bark extract against acute and chronic inflammation in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **134**: 323–328.

Tillié-Leblond I., Thorette C. (2005). Neutrophiles et asthme aigu grave. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* **45** : 63–67

Timour Q. (2008). Les anti-inflammatoires: avantages et inconvénients des AINS versus corticoïdes. *Medecine buccale* **10**: 28-195.

Toiu A., Vlase L., Oniga I., Benedec D., Tamaş (2011). M. Hplc analysis of salicylic derivatives from natural products farmacia **59**: 106-112.

Vaubourdolle M. (2007). *Médicaments*. Wolkers Kluwer. France. 867p.

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

Wichtl M., Anton R. (2003). *Plantes thérapeutiques*. In Lavoisier. TEC and DOC. Paris. 687p.

Wirth H. P., Hürlimann R., Flückiger T., (2006). Les AINS et les inhibiteurs de la COX-2: principaux effets indésirables. *Forum Med Suisse* **6**: 284-290.

Yin W., Wang S., Yin F. Z., Cai B. C. (2003). Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine N-oxide extracted from seeds of *Strychnos nux-vomica*. *Journal of Ethnopharmacology* **88**: 205–214.

Yokozawa Y., Chen C.P., Dong E, Tanaka T., Nonaka G. I., Nishioka I. (1998). Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Biochemical Pharmacology* **56**: 213–222.

Yonathan M., Asres K., Assefa A., Bucar F. (2006). In vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Cheilanthes farinose*. *Journal of Ethnopharmacology* **108**: 462–470.

Yuan D., Ma B., Yang J. Y., Xie Y. Y., Li Wang, Zhang L. J., Kano Y., Wu C. (2009). Anti-inflammatory effects of rhynchophylline and isorhynchophylline in mouse

N9 microglial cells and the molecular mechanism. *International Immunopharmacology* **9**: 1549–1554.

Zhang F., Liu J., Shi J. S. (2010). Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: Role of resveratrol in microglial activation. *European Journal of Pharmacology* **636**: 1–7.

Zhang X. F., Hung T. M., Phuong P. T., Ngoc T. M. , Min B.-S., Song K.-S., Seong Y. H., Bae K. B. (2006). Anti-inflammatory Activity of Flavonoids from *Populus davidiana*. *Arch Pharm Res* **29**: 1102-1108.

Zheng L. T., , Ryu G. M., Kwon B. M., Lee W. H., Suk K. (2008). Anti-inflammatory effects of catechols in lipopolysaccharide-stimulated microglia cells: Inhibition of microglial neurotoxicity. *European Journal of Pharmacology* **588**: 106-113.

Résumé

Ulmus campestris et *Populus nigra* sont deux plantes très utilisées pour le traitement de diverses pathologies en médecine traditionnelle. Dans cette étude, l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux des bourgeons de *P. nigra* et d'écorce d'*U. campestris* ont été évalués en utilisant un modèle d'inflammation aigue induit par la carragénine chez la souris. L'administration intra-gastrique des ces extraits à une dose de 200 mg/kg, a montré une activité anti-inflammatoire significative. L'effet maximal a été observé 2h après l'injection de la carragénine (54,70±7,30%) pour *P. nigra* et (44,66±7,15%) pour *U. campestris* comparé ($p < 0.05$) à celle du diclofénac sodique à 50 mg/kg (55,55±7,24%). Ces effets pourraient être liés à la libération des kinines et des histamines. Par conséquent, cette étude fournit un support pour l'utilisation des plantes dans le traitement des désordres liés à inflammation.

Mots clés : *Populus nigra* ; *Ulmus campestris*; activité anti-inflammatoire ; carragénine.

Abstract

Populus nigra and *Ulmus campestris* are plants commonly employed for the treatment of various ailments in traditional medicine. In this study, aqueous fraction extract of *P. nigra* buds and *U. campestris* bark were evaluated for the anti-inflammatory activity using carrageenan-induced paw edema in mice models. These plants showed significant anti-inflammatory activity at a dose of 200 mg/kg. Maximum effect was observed at 2h after injection of carrageenan (54,70±7,30%) for *P. nigra* and (44,66±7,15%) for *U. campestris* and was comparable ($p < 0.05$) to that of diclofenac sodium at 50 mg/kg (55,55±7,24%). These effects might correlate with the release of kinin and histamines. Therefore, this study provides a support for the plant in the management of inflammatory related disorders.

Key words: *Populus nigra*; *Ulmus campestris*; anti-inflammatory activity; carrageenan.