

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

Filière: Biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

Activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* sur un modèle animal.

Présenté par :

M^{lle}Brahmi Zina

M^{lle}Djellab Lamia

Membres du Jury :Grade et lieu

Présidente : M^{me} Debbache N.

M.A.A (UAMB)

Promotrice : M^{me} Atmani D.

M.C.B (UAMB)

Examineurs : -M^{lle}Tahiri O.

M.A.A (UAMB)

-M^{lle} Cherift N.

M.A.B (UAMB)

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

*Louange à ALLAH, le miséricordieux, qui nous a donné patience et courage,
afin d'achever ce travail.*

*Nous remercions tout particulièrement notre promotrice, D^r Atmani D. pour
l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'elle nous
apportée, pour ses remarques et ses conseils avisés, pour nous avoir guidé de la
meilleur façon qui soit afin de mener à bien ce travail et sa très grande
gentillesse.*

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

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

*M^{lle} Cheraft N et M^{lle} Tahiri O. qui ont accepté de faire partie du jury et de
consacrer leur temps pour examiner ce travail.*

*A toute personne ayant participé de pré ou de loin à notre formation et à tous
ceux qui nous ont apporté leur soutien et encouragements durant la réalisation
de ce travail.*

Zina et Lamia

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail à

Mes très chers parents, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec émotion, que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect j'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

A ma très chère tante Hayette pour ses conseils et son encouragement.

Mes très chers frères : Billel et Yazid.

A mes chères cousines particulièrement Abida, Nabila, Souad, Mima et leurs marie sans oublier ma chère belle sœur Farida.

A mes cousins Saadi Brahim Ghiles

A mes grand mère wrida et Djamila

A mes nièces et neveux Ahmed, Céline Houda Hani

A tout le reste de ma famille

A Nabil pour sa disponibilité et soutien et sa gentillesse

Mes très chers amis (es): Lamia, Fatima, Souad, Nabila, Meryem, Amina, Saliha, Kenza, Lila ...

A toute la promotion Biochimie appliquée «2013»

Zina

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice et 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 mes soeurs Hayette, Sihame, Samia et mes frères.

A ma sœur Fahima, son mari Sadek,

A mes oncles, mes tantes et toute ma famille.

A Samir pour sa disponibilité et soutien et sa gentillesse.

A toutes mes amies, en particulier: Zina, Souad, Linda, Saida, Lila, Kenza et

Salha.....

A toute la promotion de biochimie appliquée.

Lamia

Liste des abréviations

AA:	Acide arachidonique
ACTH :	Adrénocorticotrope
ANOVA:	Analysis of variance
AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS :	Anti-inflammatoire stéroïdien
COX:	Cyclo-oxygénase
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
ICAM:	Intercellular adhesion molecule
IL :	Interleukine
INF:	Interferon
iNOS:	Nitric oxide synthase inductible
LOX:	Lipo-oxygénase
LPS:	Lipopolysaccharide
LTB:	Leucotriene
MCP1 :	monocyte chemoattractant molecule
NO' :	Nitric oxide
NOS :	Nitric oxide synthase
OH' :	Hydroxyle
O2' :	Radical superoxyde
PAF:	Platelet activating factor
PEP:	Phosphoenol pyruvate

Liste des abréviations

PG:	Prostaglandine
PGG2:	Endoperoxyde
PGI2:	Prostacycline
PL:	Phospholipides
PLA2:	Phospholipase A2
SEM:	Standard error of mean
TX:	Thromboxane
TNF:	Tumor necrosis factor
VCAM :	Vascular cell adhesion molecule

Liste des figures

	Titre de la figure	Page
Figure 1	voie de biosynthèse de prostaglandine	3
Figure 2	l'enchaînement de la réponse inflammatoire	6
Figure 3	Nociception, étape cutanée	7
Figure 4	Mécanisme d'induction de la fièvre	8
Figure 5	Effets biologiques des prostaglandines et sites d'action des différents types d'inhibiteurs des voies du métabolisme de l'acide arachidonique	10
Figure 6	Structures chimiques des tanins	16
Figure 7	Action de flavonoïdes sur les cyclooxygénases et lipoxyooygénases	18
Figure 8	L'activité anti-inflammatoire du résveratrol	19
Figure 9	Mécanisme anti-inflammatoire des flavonoïdes par l'inhibition de NF-KB	20
Figure 10	<i>Clematis flammula</i>	21
Figure 11	Structure chimique de diclofenac sodique	25
Figure 12	L'injection de la carragénine au niveau de la patte arrière gauche de souris et l'apparition de l'œdème après injection de la carragénine	26
Figure 13	Apparition de l'œdème après injection de la carragenine	26
Figure 14	Pléthysmomètre	27
Figure 15	Torsions abdominales après l'injection acide acétique	28
Figure 16	L'injection intra-péritonéale de l'acide acétique chez les souris	28

Liste des figures

Figure 17	La structure chimique de l'aspirine	29
Figure 18	Test de la plaque chauffante	30
Figure 19	L'injection sous-cutanée d'une suspension aqueuse de levure de bière chez les souris	31
Figure 20	Mesures de la température rectale prise chez chaque souris par un thermomètre électronique	32
Figure 21	Pourcentage d'augmentation de l'œdème chez les groupes, témoin, standard et les groupes traités par l'extrait éthanolique de <i>C. flammula</i>	34
Figure 22	Effet de l'extrait éthanolique de <i>Clematis flammula</i> et l'aspirine sur le nombre de torsions induites par l'acide acétique	38
Figure 23	Effet de l'extrait éthanolique de <i>Clematis flammula</i> et l'aspirine sur l'essai de la plaque chauffante	40
Figure 24	Effet de l'extrait éthanolique de <i>C. flammula</i> (100, 200 et 400mg/Kg) et l'aspirine sur l'hyperthermie	42

Liste des tableaux

Tableau I : Principales classes de composés phénoliques.....	13
Tableau II : les principales classes de flavonoïdes.....	15
Tableau III : Principaux noms vernaculaires de la plante <i>Clematis flammula</i>	22
Tableau IV : Classification taxonomique de <i>Clematis flammula</i>	22
Tableau V : le pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les souris traitées par le diclofénac et par l'extrait éthanolique de <i>Clematis flammula</i>	35
Tableau VI : Effet analgésique de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Clematis flammula</i> sur les contractions abdominales induites chez la souris par l'injection de l'acide acétique.....	37
Tableau VII : Effet antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Clematis flammula</i> sur l'hyperthermie induite chez la souris par l'injection de la levure de bière.....	42

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Physiopathologie de l'inflammation, la douleur et la fièvre	
I.1. Les différents types d'inflammation.....	2
I.1.1. Inflammation aigue.....	2
I.1.2. Inflammation chronique	2
I.2. La physiopathologie de l'inflammation.....	2
I.3. Les étapes de l'inflammation.....	5
I.3.1. La phase vasculaire.....	5
I.3.2. La phase cellulaire.....	5
I.3.3. La phase d'amplification.....	5
I.3.4. La phase de résolution/cicatrisation	6
I.4. La physiopathologie de la douleur.....	6
I.5. La physiopathologie de la fièvre.....	7
I.5.1. Pyrogènes exogènes.....	8
I.5.2. Pyrogènes endogènes.....	8
I.6. Les anti-inflammatoires synthétiques.....	8
I.6.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes (GC).....	8
I.6.1.1. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens.....	9
I.6.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	9
I.6.2.1. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	9
I.7. Activité antipyrétique	11
I.8. Activité analgésique.....	11
Chapitre II : Les composés phénoliques	
II.1. Généralités sur les composés phénoliques.....	12
II.2. Biosynthèse des polyphénols.....	12
II.2.1. Voie schikimate.....	12
II.2.2. Voie acétate.....	12
II.3. Classification des composés phénoliques.....	12
II.3.1. Les formes simples.....	14
II.3.1.1. Les acides Phénoliques.....	14
II.3.1.2. Les flavonoïdes.....	14
II.3.2. Les formes condensées (complexes).....	16

Sommaire

Chapitre III : Anti-inflammatoires d'origine végétale

III.1. Activités biologiques des polyphénols.....	17
III.1.1. Activité anti-inflammatoire des polyphénols.....	17

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Matériel.....	21
IV.1.1. Matériel végétal.....	21
IV.1.2. Matériel animal et conditions d'élevage.....	23
IV.2. Méthodes.....	24
IV.2.1. Préparation de l'extrait.....	24
IV.2.2. Le protocole expérimental.....	25
IV.2.2.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	26
IV.2.2.1.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	26
IV.2.2.2. Etude de l'activité analgésique	28
IV.2.2.2.1. Test de torsion	28
IV.2.2.2.2. Test de la plaque chauffante.....	30
IV.2.2.3. Etude de l'activité antipyrétique.....	31
IV.2.2.4. Analyse des résultats.....	32

Chapitre V : Résultats et Discussion

V.1. Activité anti-inflammatoire.....	33
V.2. Activité analgésique.....	36
V.2.1. Test de torsion	36
V.2.2. Plaque chauffante.....	39
V.3. Activité antipyrétique.....	41
V.4. Discussion générale.....	44

Conclusion.....	46
------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	47
---	-----------

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 non-stéroïdiens (AINS) sont utilisés dans le monde entier pour le traitement de l'inflammation, la douleur et la fièvre (**Corrado et al., 2009**). Cependant, leur utilisation provoque chez les patients traités plusieurs effets secondaires tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale (**Zeilhofer, 2007**).

Ces effets indésirables sont généralement liés à l'inhibition des isoenzymes cyclo-oxygénases (COX1 et COX2) par les AINS classiques : la COX1 est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus, tandis que la COX2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF α et l'interleukine 1 (**Ouédraogo et al., 2012**).

La recherche scientifique s'est concentrée ces dernières années sur les plantes médicinales comme étant la source de composés naturels tels que les flavonoïdes, les stéroïdes, les polyphénols, les coumarines, les terpènes et les alcaloïdes en raison de leur large éventail d'importance pharmacologique y compris des activités anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques avec moins d'effets secondaires que les AINS (**Shukla et al., 2010**). Les parties aériennes de diverses espèces de *Clematis* sont en particulier employées en Europe et en Asie orientale comme un remède pour réduire la douleur et la fièvre, comme diurétique, utilisées dans le traitement de la douleur rhumatismale, des infections oculaires, des maladies des os, des désordres chroniques de la peau et de la goutte (**Yesilada et Upeli, 2007**). En Kabylie, on utilise *Clematis flammula* pour traiter surtout les rhumatismes.

L'objectif de notre travail est d'évaluer les activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* en utilisant un modèle animal. Cette étude contribuerait à établir une base scientifique à l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle.

L'inflammation, la fièvre et la douleur sont des phénomènes pathologiques extrêmement complexes, mettant en jeu le système immunitaire, des processus neurobiologiques et des systèmes humoraux locaux (**Monassier, 2006**).

I.1. Les différents types d'inflammation

On distingue deux types d'inflammation :

I.1.1. L'inflammation aiguë

C'est une lésion ou un traumatisme d'un tissu périphérique de l'organisme engendrant une réaction de défense, avec une durée de quelques jours, jouant un rôle important dans la restauration de l'homéostasie après une infection (**Calvino, 2007**).

I.1.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique peut évoluer de l'inflammation aiguë lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus pendant plusieurs mois ou plusieurs années sans entrer dans la phase de résolution (**Rousselet, 2005**).

I.2. La physiopathologie de l'inflammation

La réaction inflammatoire est une réponse physiologique de défense immédiate et transitoire, déclenchée par toute lésion cellulaire ou tissulaire, quel que soit le mécanisme (infectieux, chimique, traumatique, immunitaire...) (**Fonteneau, 2005**).

I.2.1. Les médiateurs de l'inflammation

L'inflammation est une réaction qui a lieu par différents types de médiateurs. On en distingue plusieurs:

I.2.1.1. Les médiateurs enzymatiques tels que les kinines produits par les mastocytes. Ces molécules augmentent la perméabilité vasculaire et la vasodilatation pour donner le symptôme de la rougeur qui accompagne l'inflammation (**Miossec, 2003**).

I.2.1.2. Les amines vasoactives sont des médiateurs principaux de l'inflammation libérés par les mastocytes, les polynucléaires basophiles, les plaquettes et les capillaires lésés. Les plus importants sont les histamines et les sérotonines. Ils provoquent la dilatation et l'augmentation de la perméabilité des veinules (**Elling et al., 2006**).

I.2.1.3. Les médiateurs lipidiques produits suite au métabolisme de l'acide arachidonique. Celui-ci est un lipide qui appartient à la classe des acides gras polyinsaturés (C20) libérés à partir des phospholipides membranaires par la phospholipase A₂. Son métabolisme génère les eicosanoïdes qui sont transformés en différents types de molécules par deux voies différentes: la voie des cyclo-oxygénases qui les transforme en endoperoxydes (PGG₂) et PGH₂ (prostaglandine H₂). PGH₂ est plus tard converti en PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, prostacycline (PGI₂), et thromboxane (TX) par des synthèses spécifiques (Figure 1) (Morteau, 2000). La voie des lipooxygénases qui produit des leucotriènes (Le Bars et Adam, 2002).

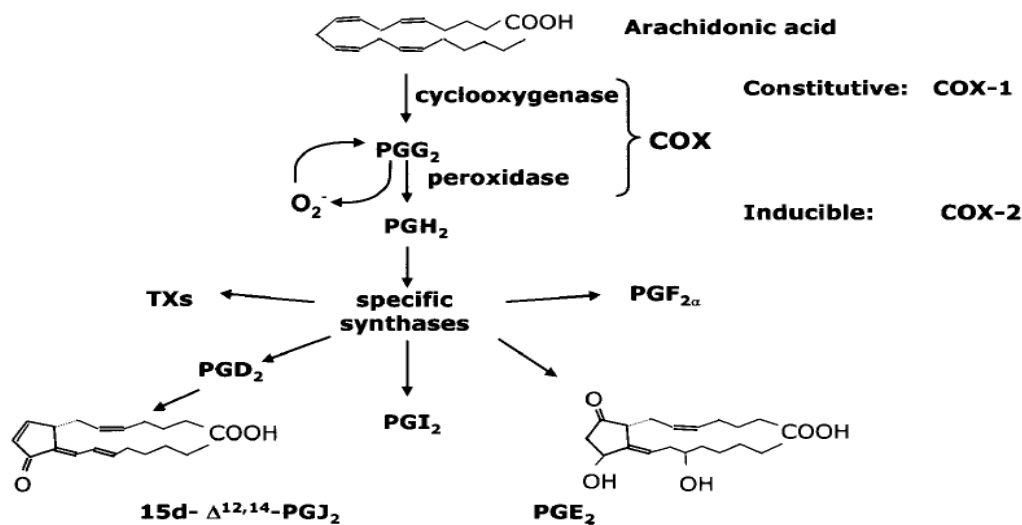


Figure 1: voie de biosynthèse des prostaglandines (Minghetti, 2004).

Les prostaglandines PGE₂ et PGI₂ jouent un rôle important dans le stade précoce de la réaction inflammatoire, étant responsables de la vasodilatation artériolaire et de l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Goldman-Mottet, 2004).

Il existe deux isoformes de la cyclo-oxygénase : l'une constitutive (COX-1) et l'autre induite lors de l'inflammation (COX-2) (Samuelsson et al., 2007).

- **La cyclo-oxygénase 1 (COX-1)**

La COX-1 est distribuée dans la plupart des tissus à des concentrations à peu près constantes. On la trouve dans les thrombocytes, les cellules endothéliales des vaisseaux, les tubules rénaux et la muqueuse gastrique (Jouzeau, 2004). Les prostaglandines physiologiques, issues de la voie COX-1 sont présentes en permanence et ont une activité essentielle dans la régulation de la perfusion rénale et dans la protection gastro-intestinale en stimulant la sécrétion du mucus protecteur de l'épithélium gastrique et freinent la production d'acide

chlorhydrique (**Goldman-Mottet, 2004**). La thromboxane A2 (TXA2), produite aussi par la COX-1, prostaglandine vasoconstrictrice et proagrégante par les plaquettes (**Jouzeau, 2004**).

- **La cyclo-oxygénase 2 (COX-2)**

La cyclo-oxygénase 2 est présente physiologiquement dans la prostate, l'utérus, les testicules et les poumons. Cependant, après induction, on peut la trouver dans tous les tissus (**Dubois et al., 1998**). En effet, la synthèse et l'activité de COX-2 sont induites par des agents pro-inflammatoires comme les lipopolysaccharides (LPS), le TNF- α et des cytokines telles que les interleukines IL- β 1. L'hypoxie et/ou l'ischémie localisée stimulent aussi l'expression du gène COX-2, en réponse à une agression tissulaire pathologique (fièvre, douleur, inflammation, prolifération cellulaire) (**Dubois et al., 1998**).

I.2.1.4. Les cytokines sont des peptides de faible poids moléculaire qui jouent un rôle important dans le développement d'une réponse inflammatoire aigüe elles interviennent dans la communication intracellulaire. Les plus importantes dans la réaction inflammatoire sont IL1, et TNF- α qui exercent des effets locaux par l'activation des fibroblastes qui promeuvent la réparation et d'autres effets variés comprenant: hyperthermie, stimulation de la sécrétion des protéines de la phase aigüe par le foie, activation de la coagulation, vasodilatation systémique et catabolisme (**Kanaji et al., 2011**).

I.2.1.5. Les radicaux libres dérivés de l'oxygène (ERO) formés lors de la phagocytose, ils ont une action nécrosante locale (notamment endommagent les cellules endothéliales) et activent la phospholipase A2. Leurs effets potentiellement dangereux sont contrebalancés par des antioxydants présents dans le sérum, les liquides extracellulaires (**Goudable et Favier, 1997**). 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. Ces ERO provoquent un stress oxydant qui est à l'origine de destructions moléculaires (peroxydation lipidique, protéolyse, lésions des acides nucléiques) et cellulaires (**Goudable et Favier, 1997**).

I.2.1.6. Espèces réactives azotées

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule synthétisée localement par l'endothélium et les macrophages sous l'action du nitrite oxyde synthase, qui est responsable de la vasodilatation rapide. Il constitue donc un relais puissant dans la réponse immune. Celle-ci se traduit par une augmentation de la perméabilité capillaire entraînant une réaction œdémateuse et une rougeur (**Raymondjean, 2007**).

I.3. Les étapes de l'inflammation

L'inflammation évolue vers des phases différentes successives et interdépendantes.

I.3.1. la phase vasculaire

Suite à l'agression du tissu, des cellules activées comme les mastocytes produisent différents médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine produite par les plaquettes, les kinines, l'oxyde nitrique (NO), les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les cytokines tels que le facteur- α de nécrose de tumeur (TNF- α), les interleukines (ILs) et les dérivés eicosanoides (**Yang et al., 2012**). Tous ces médiateurs entraînent un ensemble de modifications temporaires et réversibles des vaisseaux sanguins, notamment l'endothélium qui provoque une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et un ralentissement du courant sanguin ce qui explique la rougeur et la chaleur lors de l'inflammation. Aussi, une induction de l'expression des molécules d'adhésion telles que VCAM, MCP-1 sont impliquées dans le recrutement des leucocytes (**Mackenze, 2011**).

I.3.2. la phase cellulaire

Elle est constituée par la diapédèse sanguine des cellules poly et mononuclées, favorisée par l'augmentation de la perméabilité vasculaire. Les leucocytes et neutrophiles sont attirés sur le lieu de l'inflammation par chimiotactisme. Ces derniers produisent des molécules d'adhésion comme les ICAM (**Raymondjean, 2007**).

I.3.3. la phase d'amplification

Les monocytes produisent des cytokines pro-inflammatoires qui contribuent à l'amplification de l'inflammation en déclenchant une cascade de phénomènes inflammatoires locaux et généraux. En effet, elles stimulent les hépatocytes ou le CNS (système nerveux central) à produire des protéines de l'inflammation (**Raymondjean, 2007**).

I.3.4. la phase de résolution/cicatrisation

L'inflammation s'accompagne généralement d'une augmentation des polynucléaires qui contribuent à l'assainissement et à la restauration des tissus endommagés (**Raymondjean, 2007**).

Les différentes phases de la réaction inflammatoire sont illustrées dans la Figure 2.

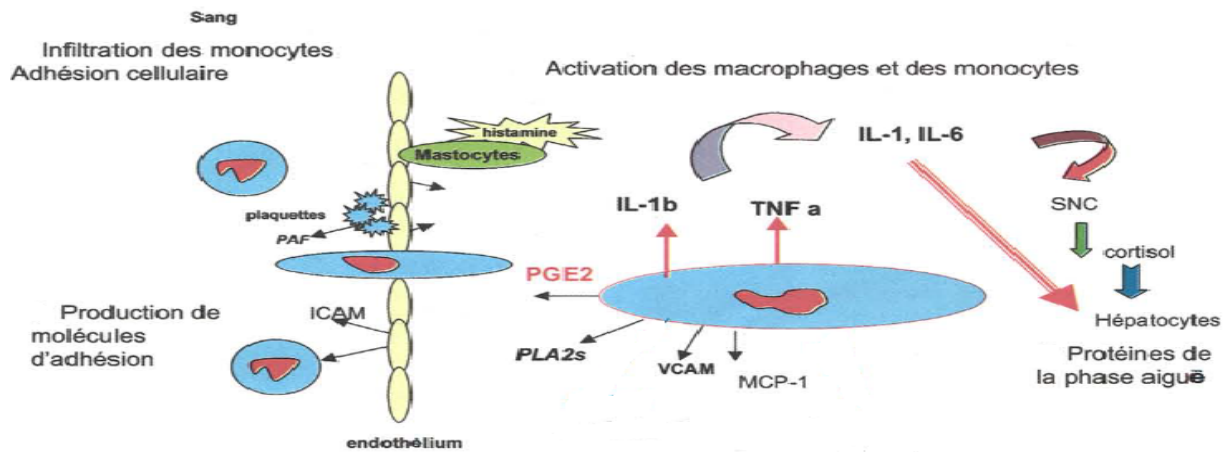


Figure 2: l'enchaînement de la réponse inflammatoire (**Raymondjean, 2007**).

I.4. La physiopathologie de la douleur

Les mécanismes inflammatoires conduisent à l'expression de phénomènes douloureux. Les influx nociceptifs sont générés en périphérie par les terminaisons de fibres nerveuses peu ou non myélinisées. Ces terminaisons constituent les nocicepteurs, elles sont situées dans la peau, les muscles, les articulations et les viscères. Les influx sont ensuite véhiculés par les fibres C et A delta vers la moelle épinière par l'intermédiaire des racines postérieures des nerfs rachidiens. La majorité des nocicepteurs répondent à des stimuli différents (**Guirimand et Le Bars, 1996**) thermiques, mécaniques ou chimiques (**Calvino, 2007**). Des molécules libérées par l'inflammation au site de lésion : la bradykinine, les ions K^+ et H^+ , les prostaglandines, l'histamine, la sérotonine activent les nocicepteurs déjà sensibilisés (Figure 3) Ces derniers produisent la substance P, un neuromédiateur qui stimule la dégranulation des mastocytes libérant ainsi l'histamine et aggravant la douleur (**Gatt, 2006**). Les canaux ioniques dans les membranes des nocicepteurs jouent un rôle vital dans l'initiation du signal et sa conduction. L'activation de ces canaux antagoniste la douleur et diminue l'hyperexcitabilité des neurones (**Du et al., 2011**).

La douleur aiguë rapide est due à l'activation des fibres A delta alors que la douleur retardée correspond à celle des fibres C (Gatt, 2006).

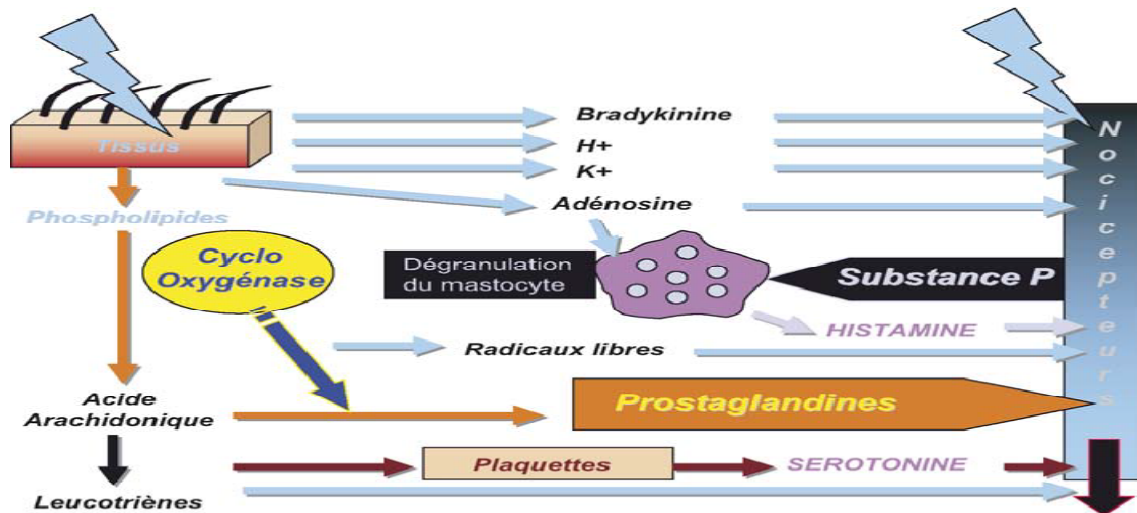


Figure 3: Nociception, étape cutanée (Gatt, 2006).

I.5. La physiopathologie de la fièvre

La fièvre est un état d'hyperthermie contrôlée dans laquelle la température de consigne hypothalamique (37°C) est augmentée, amenant l'organisme à mettre en œuvre ses mécanismes de thermogenèse. La fièvre est essentiellement induite par les cytokines suivantes : interleukines 1 β et 6, interférons α , β et le TNF- α (tumor necrosis factor). Ces molécules induisent alors la production de PGE₂ au niveau de l'aire pré-optique hypothalamique qui provoque une élévation de température (Dascombe, 1985).

On parle de fièvre aiguë quand le symptôme dure moins de 5 jours mais quand une fièvre supérieure à 38,3°C dure plus de 20 jours on parle alors d'une fièvre persistante (Dascombe, 1985). Les phénomènes pathologiques à l'origine de la fièvre (agents pathogènes, processus tumoral, rejet de greffe, allergène...) ont tous en commun d'activer le système immunitaire et d'induire la production et la libération dans le sang d'une série de protéines de petits poids moléculaires (8 à 25 kDa) appelées « facteurs pyrogènes » (Figure 4) (Cimpello *et al.*, 2000).

I.5.1. Pyrogènes exogènes

Un pyrogène exogène est une substance qui cause la fièvre. Sa provenance est extérieure au corps tels que les virus, ou les toxines (Cimpello *et al.*, 2000).

I.5.2. Pyrogènes endogènes

Un pyrogène endogène induit la fièvre à l'intérieur de l'organisme. Il est représenté par des molécules telles que les complexes antigène-anticorps, des composants de complément, (Dascombe., 1985), les interleukines (ILs) -1 α et-1 β , IL-6 et IL-8 et le facteur- α de nécrose de tumeur (TNF- α) (Soares et al., 2006).

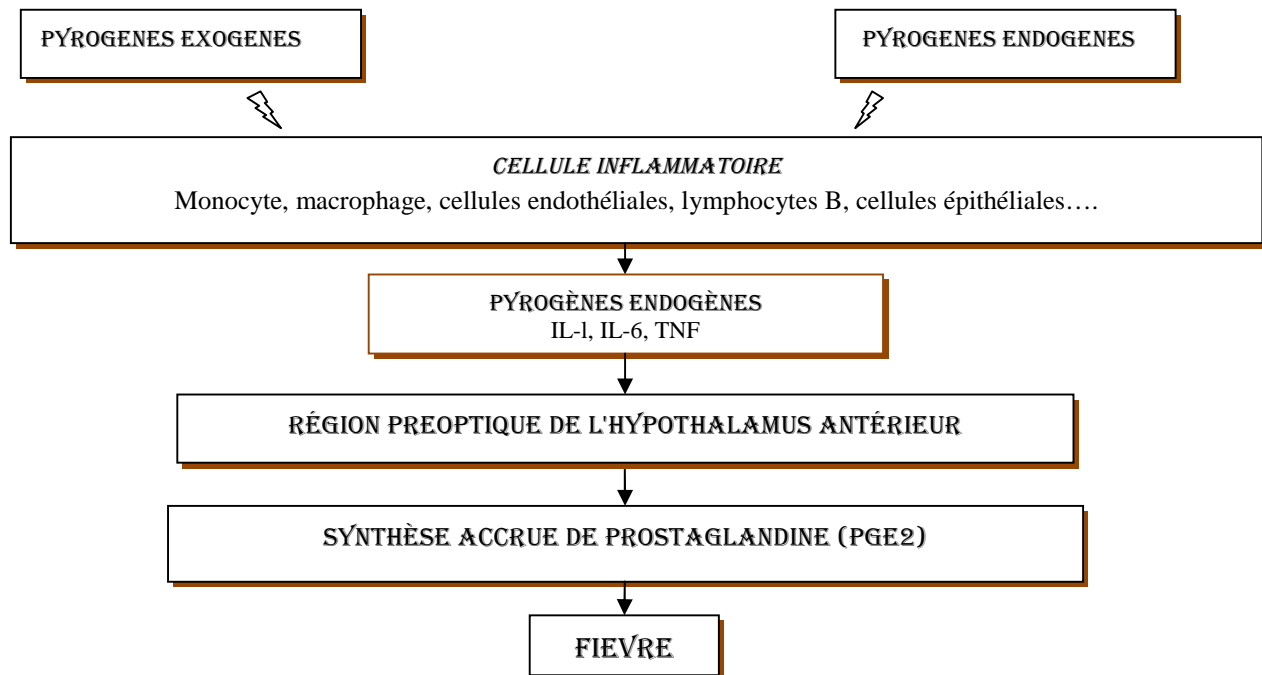


Figure 4 : Mécanisme d'induction de la fièvre (Cimpello et al., 2000).

I.6. Les anti-inflammatoires synthétiques

Le développement d'une réponse inflammatoire efficace peut jouer sur la défense de l'organisme. Lorsque l'inflammation est trop importante pour régresser spontanément, on la combat avec des corticoïdes ou des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Stewart et al., 2008).

I.6.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes (GC)

Ces stéroïdes sont des analogues ou des précurseurs de la cortisone, naturellement sécrétés par les glandes surrénales, incluent la prednisolone et methylprednisolone (Muster, 2005).

I.6.1.1. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens agissent, indirectement en diminuant l'œdème. Ils interviennent également en amont de la cascade de l'acide arachidonique, en bloquant l'action de l'enzyme phospholipase A2 ce qui inhibe à la fois la synthèse des Leucotriènes et des prostaglandines, et a donc un effet plus fort que l'inhibition des COX seuls; en absence d'inflammation, les corticoïdes (contrairement aux AINS) n'ont pas d'effet antalgique (**Fonteneau, 2005**).

I.6.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde que ce soit dans le contexte de la prescription médicale ou de l'automédication. Leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques sont connues depuis la fin du 19^{ème} siècle (**Blain, 2002**).

I.6.2.1. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens

La plupart des AINS agissent au niveau du site cyclo-oxygénase et donc bloquent la synthèse des prostaglandines. Ils se fixent sur le site catalytique hydrophobe de l'acide arachidonique de façon compétitive et réversible et bloquent donc son catabolisme. D'autres AINS, comme par exemple l'aspirine, la phénylbutazone et la flunixin, sont à l'origine d'une inhibition irréversible de la cyclo-oxygénase (**Devillier, 2001**).

I.6.2.1.1. Mécanisme d'action de l'aspirine

L'aspirine acétyle le résidu (Ser) 530 de la COX-1 et le résidu (Ser) 516 de la COX-2, et empêche ainsi par encombrement stérique l'accès de l'acide arachidonique au site actif de la COX. La COX-1 est complètement inactivée par l'aspirine (**Vergne et al., 2000**).

En plus du blocage de la cyclo-oxygénase, certains anti-inflammatoires semblent pouvoir agir à des autres niveaux :

La formation des prostaglandines. Par exemple, la phénylbutazone agit sur l'endoperoxyde isomérase, bloquant la transformation des endoperoxydes en prostaglandines (**Vergne et al., 2000**).

L'inhibition de la lipo-oxygénase, la migration des leucocytes, captation de radicaux libres oxygénés, Ainsi la compétition avec certains médiateurs de l'inflammation (**Leimgruber, 2006**).

Selon la spécificité anti-COX on distingue quatre catégories d'AINS :

- Les anti-COX-1 préférentiels : inhiber par l'aspirine à faible dose, l'indométacine et piroxicam.
- les anti-Cox-2 préférentiels : nimésulide (Nexen®), méloxicam (Mobic®).
- Les anti-Cox-2 sélectifs : célécoxib (Celebrex ®), parécocixib (Dynastat ®), étoricoxib (Arcoxia®), qui se démarquent des précédents par leur moindre risque ulcérogène et l'absence d'effet antiagrégant plaquettaire (Leimgruber, 2006).
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens «classiques» sont, pour la plupart, des inhibiteurs plus puissants de la COX-1 que de la COX-2 expliquant leurs nombreux effets indésirables : principalement digestifs et rénaux mais également hématologiques, hépatiques et génitaux (Figure 5) (Hervé, 1999).

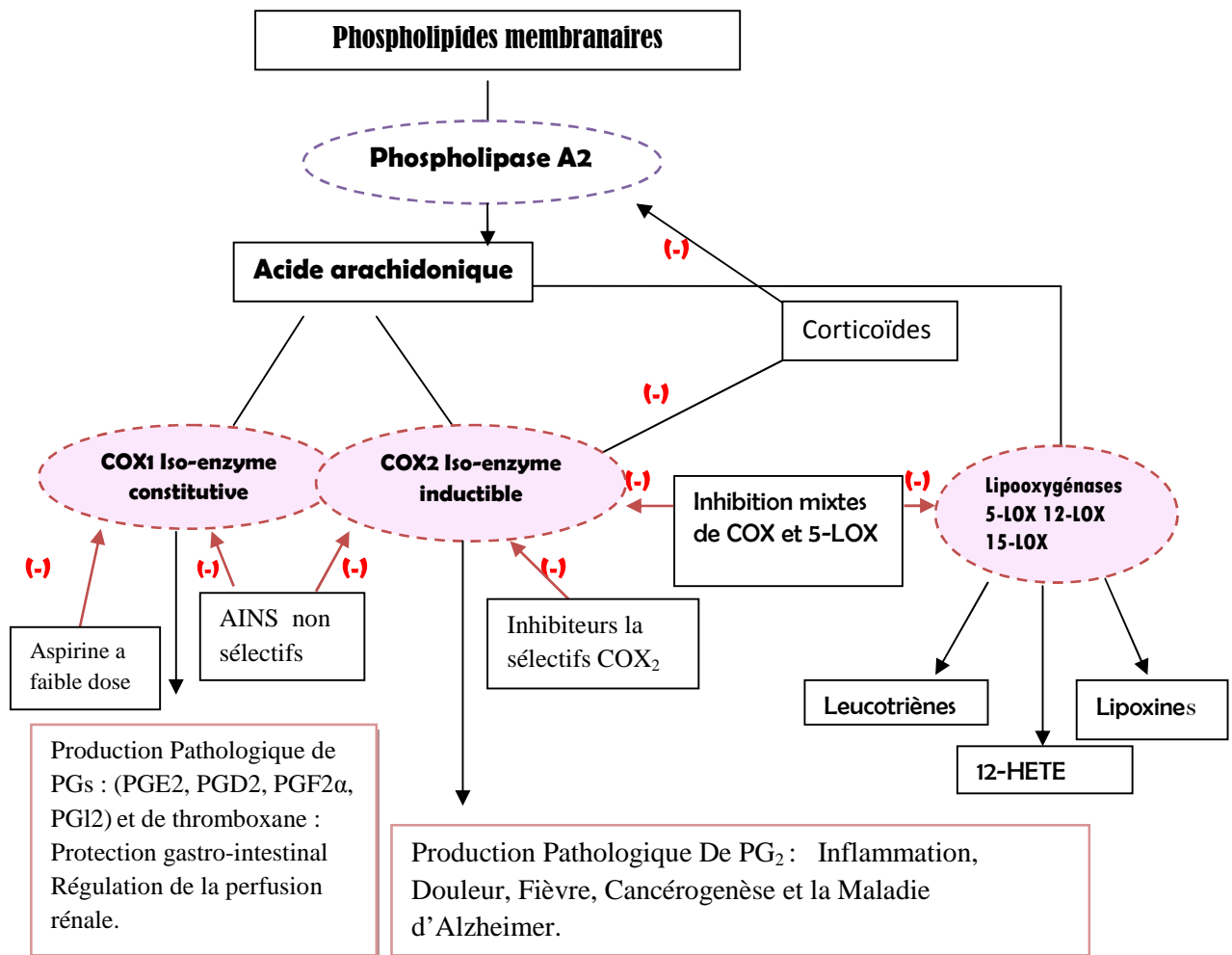


Figure 5: Effets biologiques des prostaglandines et sites d'action des différents types d'inhibiteurs des voies du métabolisme de l'acide arachidonique (Anne et al., 2010).

La plupart des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens montrent habituellement des activités anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques bien équilibrées (**Taniguchi, 1997**).

I.7. Activité antipyrétique

Les prostaglandines, en particulier la PGE₂ augmentent la valeur de référence (37°C) de la régulation thermique (fièvre) et provoquent la douleur (**Silbernagl et al., 2000**). Ainsi, lors de la fièvre, les antipyrétiques endogènes luttent contre la formation de PGE₂ (**Silbernagl et al., 2000**). Les AINS sont capables d'inhiber la libération hypothalamique de PGE₂ et donc de ramener la température corporelle à la normale (**Blatteis et al., 2005**).

I.8. Activité analgésique

Les AINS sont généralement classés parmi les analgésiques à activité modérée. Toutefois, leur action varie en fonction du type de douleur et ils s'avèrent très efficaces dans le traitement de la douleur associée à l'inflammation (**Branco et al., 2005**).

Ce type de douleur semble être contrôlé par la bradykinine et certaines cytokines (TNF- α , interleukines 1 et 8) par induction de la synthèse de prostaglandines et d'autres médiateurs. Le principal mode d'action antalgique est lié à l'inhibition de la cyclo-oxygénase puisque les prostaglandines peuvent sensibiliser les récepteurs de la douleur aux stimulations mécaniques et chimiques par abaissement du seuil des fibres nociceptives de type C (**Branco et al., 2005**).

II.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les polyphénols désignent un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement ce sont des métabolites secondaires (**Yoon et al., 2012**), Caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzoïque auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dont une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Le photochimiste complète cette définition, en introduisant un critère d'origine biosynthétique, de ce fait, un composé phénolique est un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide schikimique et/ou de celui du polyacétate (**Bruneton, 2009**).

II.2. Biosynthèse des polyphénols

II.2.1. Voie Schikimate

La biosynthèse de nombreux composés phénoliques débute au niveau des acides aminés aromatiques puis par désamination de ces derniers en acide cinnamique et leurs dérivés. Les précurseurs de cette voie sont l'érythrose 4-phosphate de la voie des pentoses et le PEP (Phosphoenol pyruvate) résultant de la glycolyse (**Hopking, 2003**).

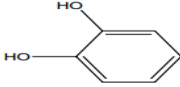
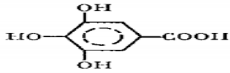
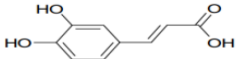
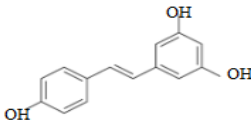
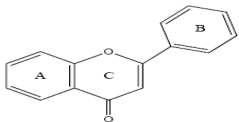
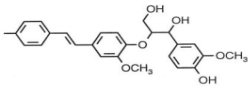
II.2.2. Voie acétate

C'est la cyclisation des composés phénoliques qui conduit à des polyacétates de longueurs variables (**Guignard, 1979**).

II.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau I) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation....). Et par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires qui peuvent être ou non des composés phénoliques) (**Martin et Andriansitohaina, 2002**).

Tableau I : Principales classes de composés phénoliques (Harbone, 1989).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemples)	structure
C6	Phénols simples	catéchol	Fruits, Légumes	 (Bruneton, 1999)
C6-C1	Acides Hydroxy-benzoïques	Acide gallique	Epices, fraises	 Acide gallique
C6-C3	Acides Hydroxycinnamiques caumarines	Acide cafeïque La scopolétine	Pomme de terre Pomme, Citrus	 Acide cafeïque (Doat ,1978; Djabou ,2006)
C6-C4	Naphto-quinones	Juglone	Noix	—
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne	 (Fraga, 2010)
C6-C3-C6	Flavonoides Isoflavonoides	catéchine	Fruits, légumes, fleurs, soja, pois	 (Djabou ,2006)
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin	
(C6-C3) n	Lignines		Bois, fruits à noyau	 (Austin et Noel ,2003).
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés		Raisin	

II.3.1. Les formes simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ (Macheix et al., 2006).

II.3.1.1. Les acides phénoliques

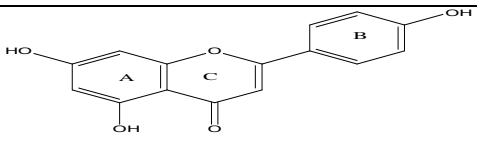
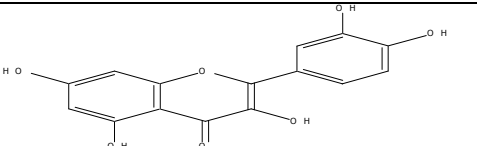
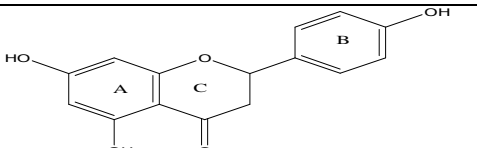
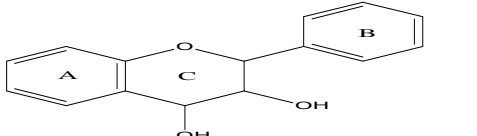
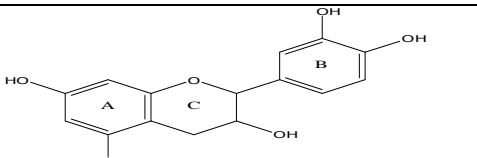
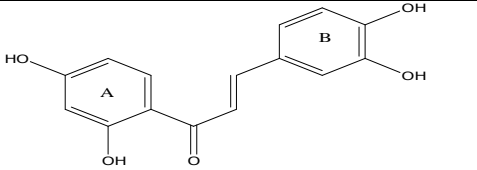
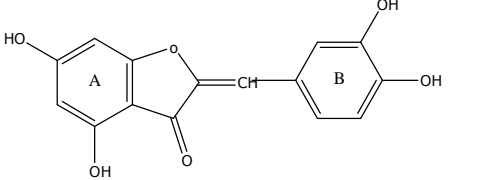
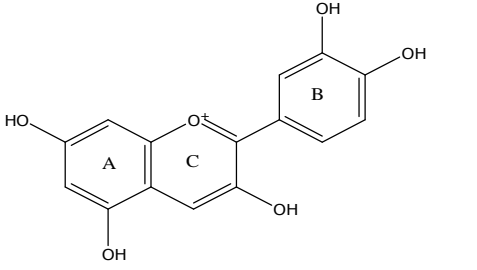
Des acides phénoliques sont habituellement divisés dans deux groupes ; des acides benzoïques et leur dérivés (C₆-C₁), ou des acides cinnamiques et leur dérivés (C₆.C₃). Tous ces composés sont hydroxylés.

II .3.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les plus abondants de notre alimentation. Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour (D'archivio et al., 2007). Ce sont des pigments quasi universels des végétaux presque toujours hydrosolubles. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ces substances bioactives relativement non toxiques possèdent divers effets biologiques (García-Mediavilla et al., 2007) et présentent une structure commune (Tableau II) .

Les variations structurales à l'intérieur des cycles subdivisent les flavonoïdes en plusieurs familles :

Tableau II : Les principales classes de flavonoïdes.

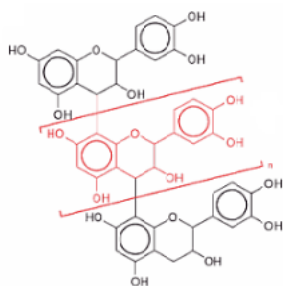
Classe	Exemple	Structure	Référence
Flavones	Apéginine		(Chira et al., 2008)
Flavonols	Quercétine		(Pietta, 2000)
Flavanones	Naringénine		(Hiem et al., 2002)
Flavane-3,4-diols	Leucoanthocyanidine		(Soobrattee et al., 2005)
Flavane-3-ols	Catéchine		(Pietta, 2000)
Chalcones	Butéine		(William et al., 2003)
Aurones	Aureusidine		(William et al., 2003)
Anthocyanidines	Delphinidine		(Skerget et al., 2005).

II.3.2. Les formes condensées (complexes)

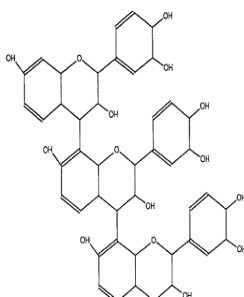
Ces composés résultent généralement de la condensation de certaines des formes simples précédemment évoquées.

II.3.2.1. Tanins

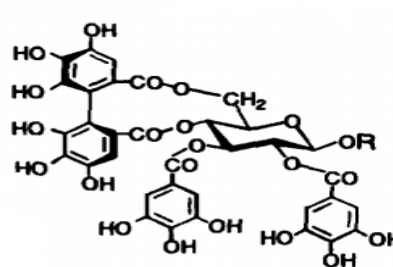
Les tanins sont des formes phénoliques condensées largement présents dans les produits naturels capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter. Selon leurs structures les tanins peuvent être divisés en deux classes : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (**Figure 6**) (**Macheix, 2005**).



Structure chimique d'un tanin condensé ($n=1-10$) (**Heldt, 2005**)



Structure générale des tanins (**Larbier et Leclercq, 1992**).



Structure chimique d'un tanin hydrolysable (**Jin et al., 1998**).

Figure 6 : Structures chimiques des tanins.

II.3.2.2. Les saponines :

Ce sont des composés complexes formés de deux types de molécules : les aglycones et les glycosides. Ils sont hydrolysés facilement par les acides et sont solubles dans l'eau formant une mousse après agitation (**Tyler et al., 1981**). Ils causent l'hémolyse des globules rouges à cause de leur capacité de se lier aux stérols de la membrane (**Bruneton, 1999**).

L'utilisation des anti-inflammatoires est associée à différents effets secondaires tels que l'ulcère, perturbation de la fonction rénale, ostéoporose ... Ainsi la recherche de nouveaux agents anti-inflammatoires issus de plantes, dénués d'effets secondaires serait souhaitable (**Blain, 2002**).

III.1. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont pris de nos jours une place importante dans la pharmacopée vue leur large éventail d'activité. Ils sont dotés d'activités antiproliférative, antimicrobienne, antioxydant et anti-inflammatoire.

III.1.1. Activité anti-inflammatoire des polyphénols

Les composés phénoliques agissent sur l'inflammation selon plusieurs mécanismes:

-La régulation des voies de signalisation de l'inflammation prouvées par des études (**Salas-Salvado et al., 2008**).

-L'inhibition des activités enzymatiques impliquées dans le processus inflammatoire. Des études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA): phospholipase A2, cyclo-oxygénases et Lipooxygénases. En effet, l'action des tanins est due au fait qu'ils se fixent aux protéines, en particulier la LOX (mais pas la COX), par des liaisons réversibles dont l'affinité est en fonction de la richesse de la protéine en proline (**Mota et al., 1985**). La lutéoline et la catéchine inhibent la cyclo-oxygénase, en revanche l'apigénine diminue son activité et inhibe également l'agrégation plaquettaire (**Girotti-chanu, 2006 ; Yang et al., 2009**). Des études récentes ont montré que la quercétine inhibe la (LOX) (Figure 7) et inactive l'expression de la COX-2 (**Girotti-chanu, 2006**).

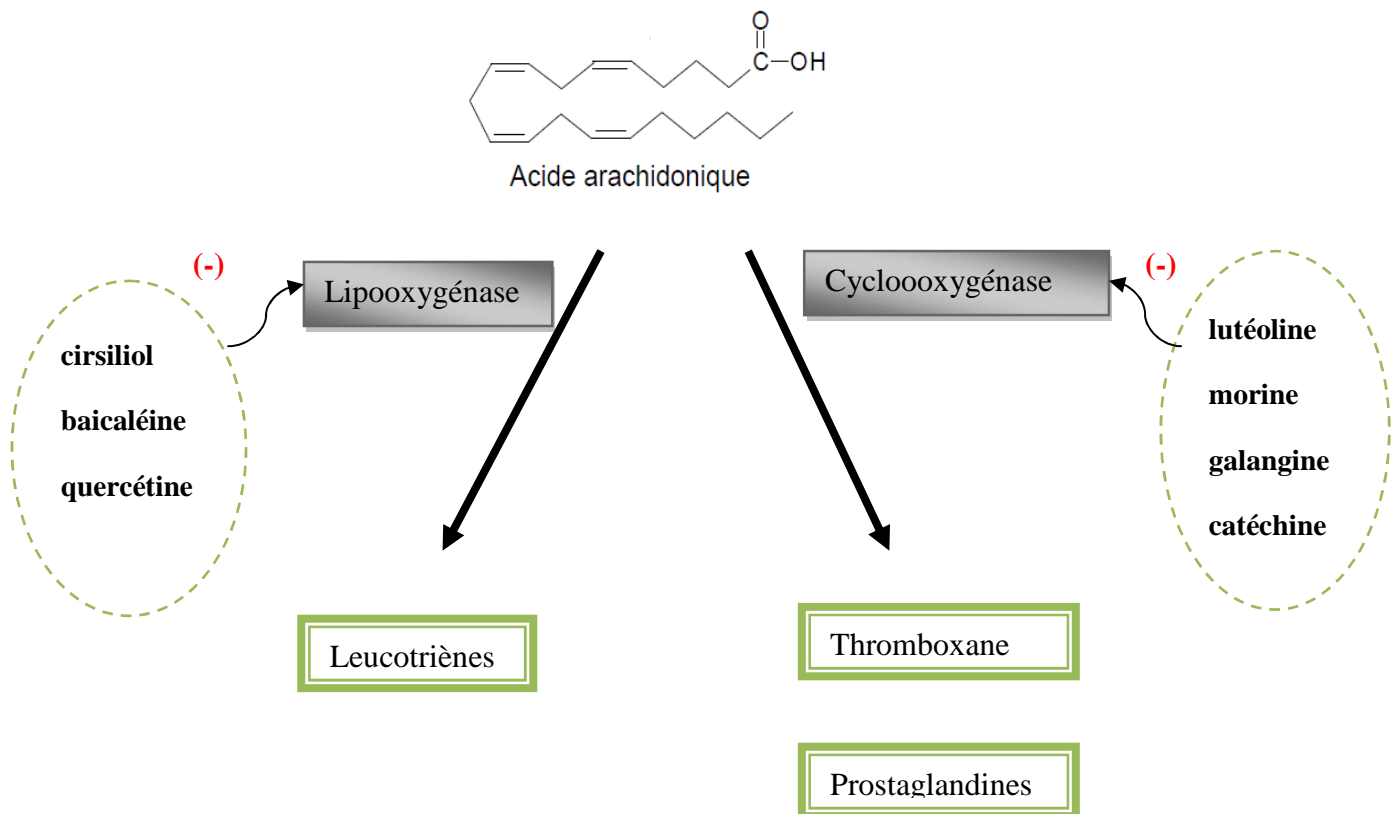


Figure 7: Action de flavonoïdes sur les cyclooxygénases et lipoxyooxygénases (**Girotti-chanu, 2006**).

Il a été reporté que le resveratrol a la même efficacité que l'aspirine en inhibant la COX-2 (Figure 8) (**Bruneton, 1999**). Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit la production de médiateurs lipidiques tels que les prostaglandines et les leucotriènes (**Kim et al., 2004**).

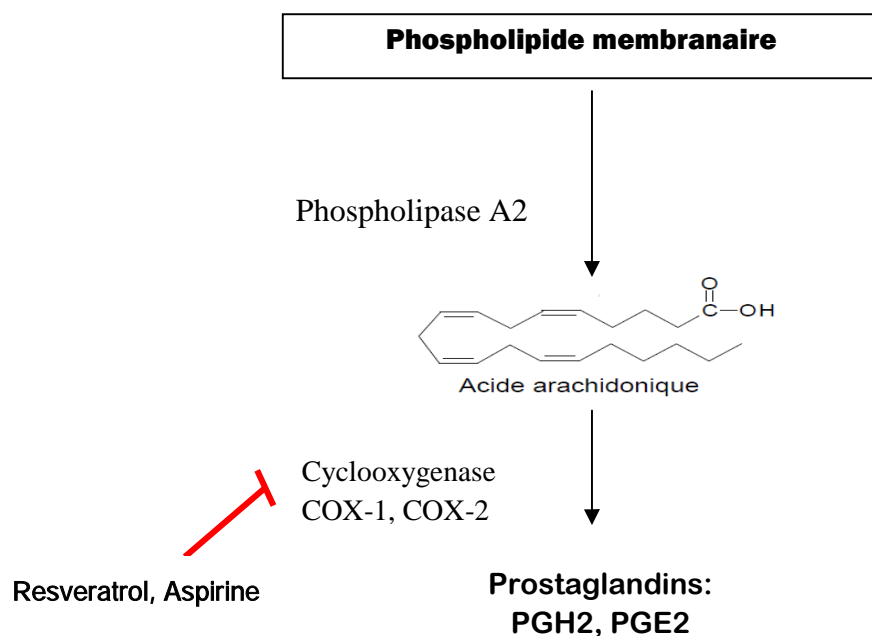


Figure 8 : L'activité anti-inflammatoire du résveratrol (**Bruneton, 1999**).

-Inhibition de l'expression de certains gènes. Le catéchol empêche les effets nocifs du NO dans les cellules microgliales induites par les LPS en inhibant l'expression de la iNOS et du TNF- α (**Bruneton, 2009**). L'activité anti-inflammatoire de l'acide ellagique est due au fait qu'il réduit l'expression du facteur de transcription NF- κ B et des enzymes COX-2 (**Umesalma et al., 2010**). La capacité de liaison et d'inhibition des facteurs de transcription comme (NF- κ B) qui active la transcription de certaines molécules pro-inflammatoires (Figure 9) (**González-Gallego et al., 2007**) constitue la base du mode d'action des polyphénols sur l'inhibition de l'expression de certains gènes. Cette capacité de liaison contribue au blocage de la translocation nucléaire de la sous unité (p65) du facteur nucléaire NF- κ B (**Zheng et al., 2008**).

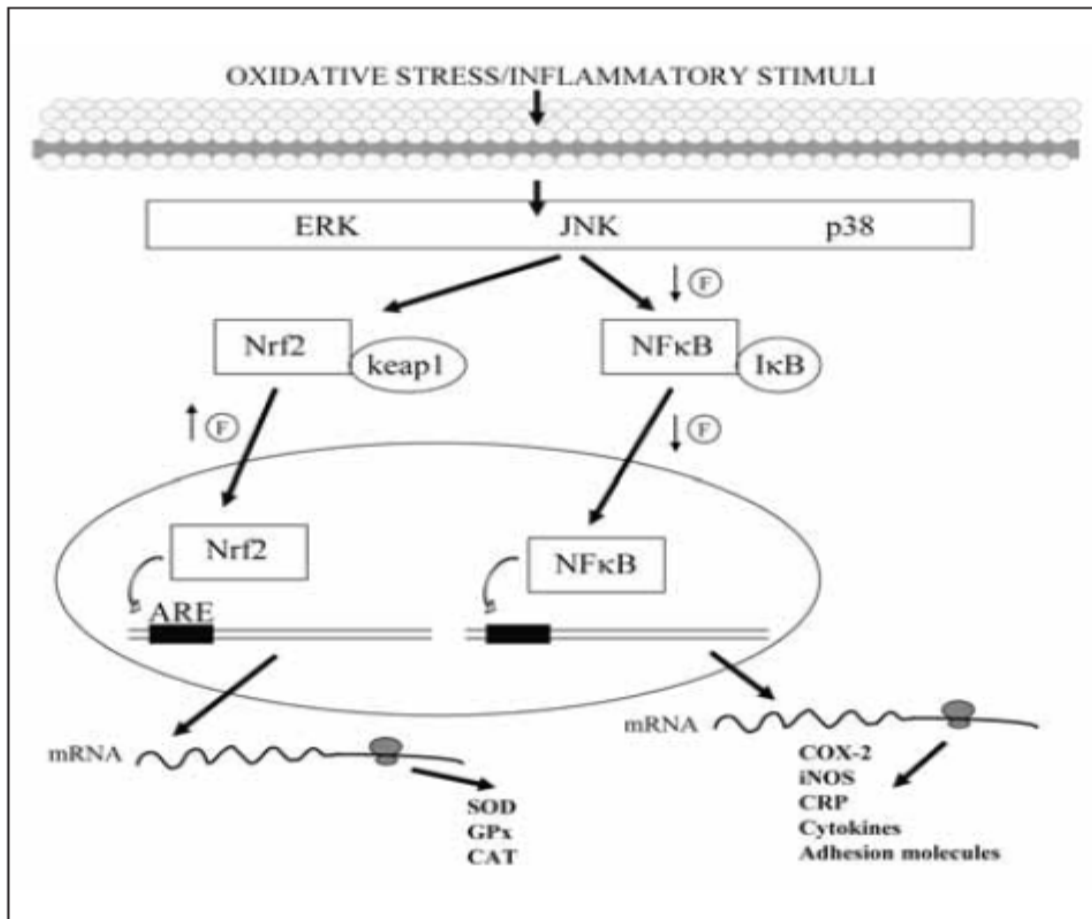


Figure 9 : Mécanisme anti-inflammatoire des flavonoïdes par l'inhibition de NF-κB
(González-Gallego *et al.*, 2007).

- Réduction du taux de médiateurs de l'inflammation tels que les cytokines (IL-8, IL-13 et IFN- α) circulantes, en particulier dans le cas des anthocyanes (Karlsen *et al.*, 2007). La lutéoline ou l'apigénine inhibent aussi la production de cytokines telles que (IL-4, IL-5 et IL-13) (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2010).

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel végétal

IV.1.1.1. Description

Notre étude a été réalisée sur les feuilles d'une plante largement utilisée en médecine traditionnelle locale appelée communément Clématite odorante ou flammette (**Marc *et al.*, 2008**) et scientifiquement : *Clematis flammula* (figure 10).

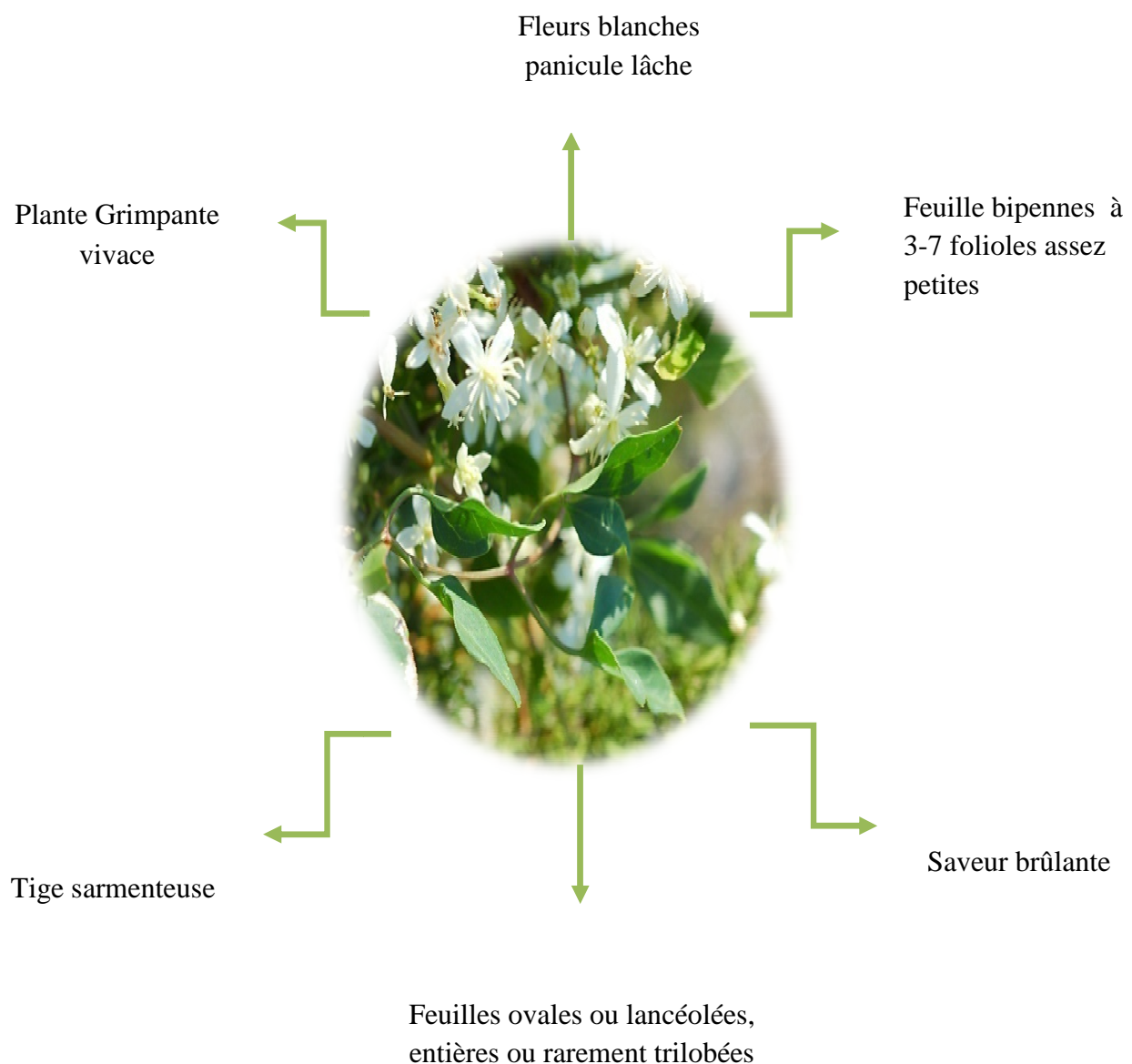


Figure 10 : *Clematis flammula* (Bernard, 1997).

IV.1.1.2 Noms vernaculaires de la plante

Le tableau III cite les différents noms de la plante.

Tableau III : Principaux noms vernaculaires de la plante *Clematisflammula*(Bernard, 1997).

Nom scientifique	Nom vernaculaire berbère	Nom vernaculaire arabe	Non commun
<u><i>Clematisflammula</i></u>	Azenzu Zenzou	Nard barda Yasmine bari Sebenq	Clématite

IV.1.1.3. Classification

Le tableau IV cite la classification taxonomique de *Clematisflammula*.

Tableau IV : Classification taxonomique de *Clematisflammula*(Bernard, 1997).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae –Végétal
Division	Magnoliophyta –Plante A Fleur
Classe	Magnoliopsida- Dicotylédones
Ordre	Renunculales
Famille	Renunculaceae
Genre	Clematis

IV.1.1.4.Habitat

Clematisflammula est une plante des régions méditerranéennes où elle croit notamment dans les forêts peuplées de chêne, résistant remarquablement à la sécheresse (Baba-Aissa.,1999).

IV.1.1.5.Effets thérapeutiques

Il a été rapporté que différentes espèces de *Clematis* sont employées dans le traitement de divers désordres inflammatoires, soulagement d'œdème et de douleurs de rhumatisme, les infections de l'œil, la goutte et les maladies chroniques de la peau (Keys, 1985 ; Grieve., 1994 ; Gruenwald et al., 2004).

Malgré la pratique mondiale d'employer la partie aérienne sèche d'espèces de *Clematis* contre des désordres inflammatoires dans la médecine traditionnelle, la partie aérienne fraîche d'espèces de *Clematis* est connue pour posséder une nature irritante lorsqu'elle est utilisée en doses excessives ou pendant une longue durée. Elle provoque ainsi des brûlures c'est pour cela qu'elle est nommée "Clématite brûlante". Une telle irritation est provoquée par la transformation enzymatique du glycoside de ranunculin dans le protoanémonin après écrasement de plante fraîche (Gruenwald et al., 2004). D'une part, le protoanémonin n'a pas été trouvé dans la plante sèche (Gruenwald et al., 2004).

IV.1.2.Matériel animal et conditions d'élevage

Pour évaluer des activités anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques de l'extrait éthanolique de *Clematisflammula* *in vivo*, nous avons utilisé des souris albinos mâles et femelles, d'un poids qui varie entre 18 et 30 g. Ces animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger. 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 /12h de lumière et d'obscurité. Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment à bouchon et l'eau de robinet.

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Préparation de l'extrait

-Récolte et identification :

La plante a été récoltée dans la forêt d'Azru'nBechar près du village de Tizi-Nefltah, commune d'Amizour à Bejaia dans la période mai- juin de l'année 2012 ; elle a été ensuite identifiée au sein du laboratoire de botanique de l'université de Bejaia comme étant la clématite *Clematisflammula*.

-Le séchage :

Les feuilles de *Clematisflammula* ont été séchées dans un endroit aéré et ombragé a fin d'éliminer toute les traces d'humidités, afin d'assurer une meilleure élimination d'eau tout en préservant la composition en composés phénoliques.

-Broyage et tamisage :

Les feuilles de la plante séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique (IKA) et le broyat a été tamisé jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de diamètre 63um.

-Extraction :

Dans notre étude une extraction selon le protocole de **Atmani et al., (2009)** a été réalisée. La poudre de *Clematisflammula* a été macérée dans de l'éthanol (96%) avec un rapport de 1/4 (m/v) pour extraire le maximum de composés phénoliques. Le mélange a été laissé sous agitation à l'abri de la lumière pendant 24h, l'agitation sert à établir un bon contact entre le solvant et les particules de la poudre suivie d'une décantation de 24h afin d'éliminer toutes les particules en suspension. Le surnageant a été récupéré et laissé sécher jusqu'à stabilisation du poids. Le résidu sec constitue l'extrait éthanolique qui a été stocké à une température de -20° jusqu'à l'utilisation. Le pourcentage d'extraction est calculé par la formule suivante :

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

P₁ : Poids d'extrait après évaporation (g).

P₀ : Poids vide du cristalliseur ou la boîte de pétri (g).

E : poids de la poudre ou de l'extrait sec de la phase précédente (g).

IV.2.2. Le protocole expérimental

IV.2.2.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Clematisflammulaa* été étudiée en utilisant un modèle expérimental d'inflammation aigue induite par la carragénine (I-carrageenan SIGMA). La méthode utilisée est décrite par **Winter et al., (1962)b**. Des œdèmes au niveau de la patte arrière gauche de souris de poids corporelle entre 20 à 30g sont induits après injection sub-plantaires (intra-articulaire) (Figure 12) d'une solution de 0,5 ml de carragénine (fraichement préparée) (1%), une heure après l'administration intra-gastrique de l'extrait.

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

Un effectif de **40 souris** a été réparti en 05 lots (08 souris par lot) comme suit :

-Groupe 1 (contrôle): reçoit une solution de NaCl (0,9%) de 10ml/Kg qui a été administrée par gavage 1h avant l'injection de la carragénine.

-Groupe 2 (standard) : reçoit un anti-inflammatoire de référence (diclofénac) à 50 mg/Kg (Figure 11) qui a été dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution de (10ml/Kg) a été administrée par gavage 1heure avant l'injection de la carragénine.

-Groupes traités (groupe 3, groupe 4, groupe 5) : reçoivent la solution test (extrait de plante) (100, 200 et 400 mg/Kg) respectivement dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution (10ml/Kg) a été administrée par gavage 1heure avant l'injection de la carragénine.

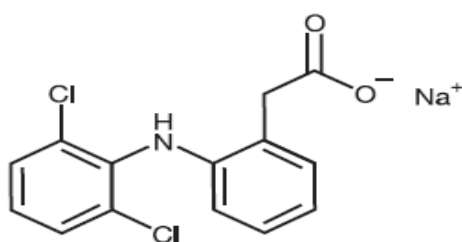


Figure 11 : Structure chimique de diclofénac sodique (**Brignon, 2012**).



Figure 12: L'injection de la carragénine au niveau de la patte arrière gauche de la souris.

IV.2.2.1.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'œdème (Figure 13) est évalué par la mesure du volume de la patte (mm^3) en utilisant le pléthysmomètre (Figure 14) avant et à des intervalles d'une heure, pendant 6 heures et à 24 heures après injection de la carragénine (1%). Les mesures ont été répétées trois fois et la moyenne a été calculée.



Figure 13: Apparition de l'œdème après injection de la carragénine.

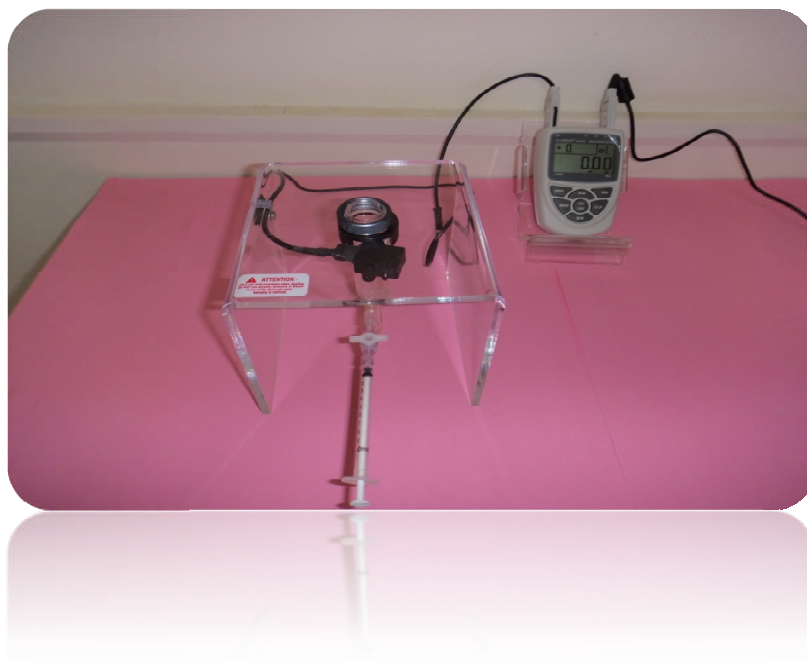


Figure 14:Pléthysmomètre.

L'activité anti-inflammatoire est évaluée par la détermination du pourcentage d'augmentation de l'œdème en présence de l'extrait de *C.flammula* relativement au contrôle. Ce pourcentage est estimé suivant la formule suivante :

$$\% \text{ œdème} = [(V_n - V_o) / V_o] \times 100 \text{ où}$$

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

V_n: volume moyen mesuré à un intervalle de temps après l'injection de la carragénine.

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

$$\% \text{ d'inhibition} = [(V_n - V_o) \text{ témoin} - (V_n - V_o) \text{ traité}] \times 100 / (V_n - V_o) \text{ témoin}$$

VI.2.2.2. Etude de l'activité analgésique

IV.2.2.2.1. Test de torsion

L'effet analgésique des extraits a été évalué suivant le nombre de torsions abdominales (Figure 15) induites par l'injection intrapéritonéale (Figure 16) d'une solution de (10ml/Kg) de l'acide acétique (0,6 %) suivant la méthode décrite par **Kosteret al., (1959)**.



Figure 15 : Torsions abdominales après l'injection acide acétique.

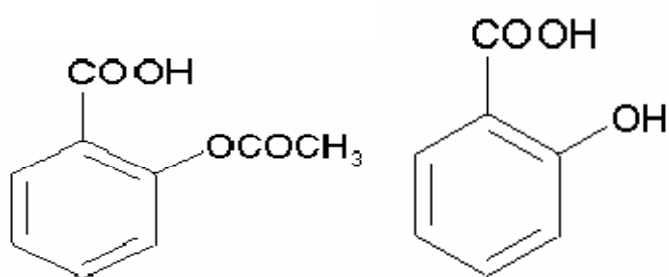


Figure 16: L'injection intra-péritonéale de l'acide acétique chez les souris.

Après une période d'adaptation de 2 semaines, des souris du sexe male (18-25 g) seront aléatoirement assignées à cinq groupes (n = 6) comme suit :

-Groupe 1 (contrôle): reçoit une solution de NaCl (0,9%). (10ml/Kg) de la solution préparée a été administrée par gavage 55min avant l'injection de l'acide acétique.

-Groupe 2 (standard) : reçoit un analgésique de référence (acide salicylique) (Figure 16) à 100 mg/Kg, il est dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution de (10ml/Kg) a été administrée par gavage 55min avant l'injection de l'acide acétique.



Acide salicylique

Acide acétylsalicylique (Aspirine)

Figure 17 : La structure chimique de l'aspirine (Greeves et Wothers, 2003).

-Groupes traités (groupe 3, groupe 4, groupe 5) : reçoit la solution test (100, 200 et 400 mg/kg) respectivement dissous dans du NaCl (0,9%). 55 minutes avant l'injection IP d'acide acétique de 0.6 %.

Cinq minutes après l'injection IP d'acide acétique, le nombre de torsion abdominale et d'étirement pendant les 30 minutes suivantes sera enregistré.

L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (1 - \text{Wt}/\text{Wb}) \times 100$$

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

Wt : est la moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.

IV.2.2.2.2. Test de la plaque chauffante

Les souris ont été placées sur une plaque chauffante maintenue à $55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figure 18). La latence de réponse nociceptive est l'action de saut a été mesuré suivant la méthode décrite par **Woolfe et Mac Donald, (1944)**.

La mesure commence 1h après l'administration orale des agents de test

-Groupe 1 (contrôle): reçoit une solution de NaCl (0,9%) ; (10ml/Kg) de la solution préparée a été administrée par gavage.

-Groupe 2 (standard) :reçoit un analgésique de référence (Acide salicylique) à 100 mg/Kg, il est dissous dans du NaCl (0,9%). Une solution de (10ml/Kg) a été administrée par gavage.

-Groupes traités (groupe 3,groupe 4,groupe 5) :reçoit la solution test(100, 200 et 400 mg/kg) respectivement dissous dans du NaCl (0,9%).



Figure 18: test de la plaque chauffante.

Seulement les souris qui ont montré des réponses nociceptives dans les 15 secondes ont été choisies pour les expériences. Les mesures ont été prises chaque 15 minute au cours d'une période de 60 minutes.

VI.2.2.3. Etude de l'activité antipyrétique

L'étude sur l'activité antipyrétique a été menée suivant la méthode décrite par **Adams *et al.*, (1968)**. L'hyperthermie est induite par injection au dessous de la nuque (sous-cutanée) (Figure 19) d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à la dose de 10ml/kg chez les souris mises à jeun pendant 24 h. Les animaux ont été choisis pour l'expérience après la confirmation de la stabilité de leur température rectale approximative pendant 7 jours.



Figure 19: L'injection sous-cutanée d'une suspension aqueuse de levure de bière chez les souris.

Dix-huit heures après, la température rectale a été prise de nouveau chez chaque souris par un thermomètre électronique de marque Chicco (Figure 20), et des lots de huit souris ont été constitués avec des souris présentant une augmentation de température supérieure ou égale à 0,5 °C. Une heure après l'administration orale de l'extrait à (100, 200, 400 mg/Kg) ou l'acide acétylsalicylique (100 mg/kg), la température rectale est ensuite prélevée à des intervalles d'une heure et pendant 4h. L'extrait et standard seront dissous dans de l'eau physiologique, administrés par gavage.

V.1. Activité anti-inflammatoire

L'œdème de la patte des souris induit par l'injection de la carragénine est un modèle largement utilisé dans l'inflammation aiguë pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de nouvelles substances (Winter *et al.*, 1962a ; Ouédraogo *et al.*, 2012).

La carragénine est un polysaccharide sulfaté extrait à partir des algues (Mujumdar et Misar, 2004 ; Wang *et al.*, 2013) dont le choix est dû au fait qu'elle n'est pas antigénique et ne cause pas des effets systémiques. Elle agit aussi comme pro-inflammatoire par activation de la phospholipase A2 (Yin *et al.*, 2003).

La recherche de composés anti-inflammatoires naturels chez *C. flammula* est basé sur le fait que, dans ce modèle expérimental, la distribution et le mécanisme d'action des anti-inflammatoires seraient proches de ceux observés chez les hommes (Otternes et Grans, 1988).

Les souris ont été privées de nourriture 12h avant l'expérimentation, pour ne pas augmenter les réactions œdémateuses. L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* a été évaluée en utilisant ce modèle.

La réaction inflammatoire a été presque immédiate suite à l'injection de la carragénine qui a provoqué l'apparition de signes classiques d'une inflammation aiguë locale comme la rougeur, la douleur, la chaleur et un œdème chez les cinq groupes expérimentaux.

Le développement de l'œdème induit par la carragénine est un événement biphasique: la première phase est déclenchée suite à la libération de l'histamine, la sérotonine et les kinines à la première heure favorisant ainsi la vasodilatation qui est à l'origine de la rougeur et la chaleur qui touchent le site de l'inflammation (Amol et kallangouda , 2011 ; Huanga *et al.*, 2011). Par contre, la deuxième phase, initiée après la première heure et qui s'étend jusqu'à la cinquième heure, est liée à la libération des prostaglandines (Saini et Singha, 2012 ; Habib et Waheed., 2013) associée à la migration leucocytaire vers la zone enflammée (Ndiaye *et al.*, 2006).

Le volume de la patte mesuré avec le plethysmomètre nous a permis de calculer les pourcentages d'augmentation de l'œdème en fonction du temps (pendant 6 et 24h après) pour les cinq groupes testés (Figure 21).

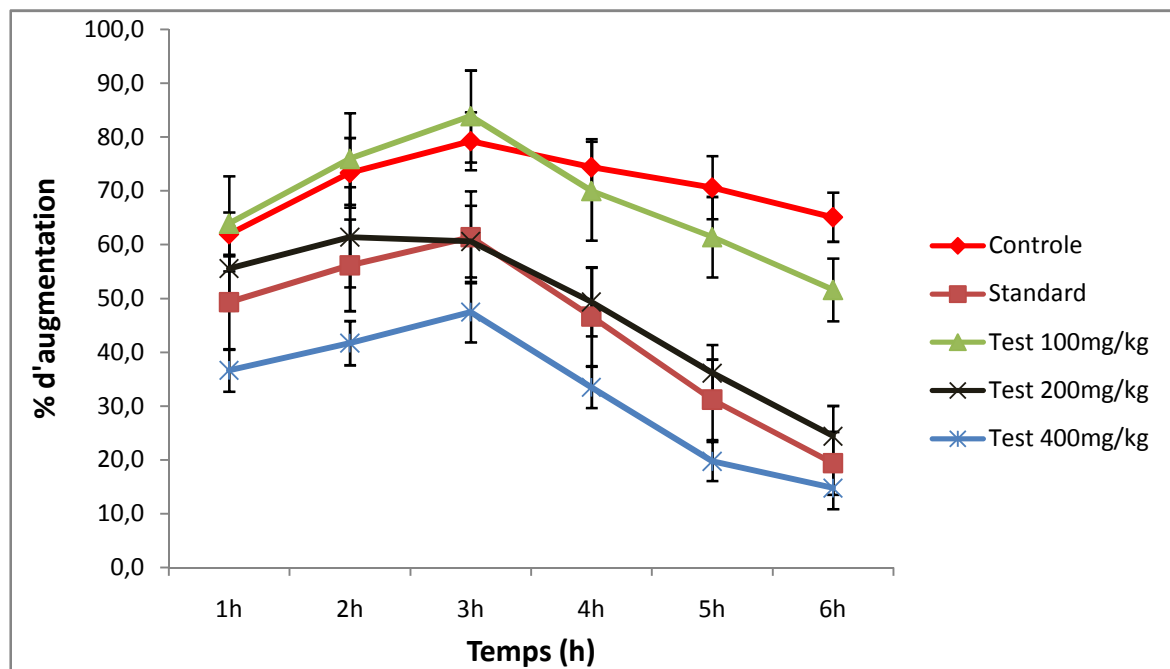


Figure 21 : Pourcentage d'augmentation de l'œdème chez les groupes, témoin, standard et les groupes traités par l'extrait éthanolique de *C. flammula*.

Ces pourcentages ont montré une augmentation très importante du volume de la patte chez le groupe contrôle avec un maximum de $79,2 \pm 5,4 \text{ mm}^3$ à la troisième heure (Figure 20) comparé à des maximums respectifs de $(61,4 \pm 8,54 \text{ mm}^3)$, $(83,8 \pm 10,10 \text{ mm}^3)$, $(60,6 \pm 6,66 \text{ mm}^3)$, $(47,5 \pm 5,62 \text{ mm}^3)$ à la troisième heure chez les autres groupes expérimentaux traités par le diclofénac ou l'extrait éthanolique de *C. flammula* à différentes concentrations (100, 200, 400 mg/kg). Ces résultats indiquent qu'il y a une atténuation de l'œdème chez tous les groupes expérimentaux à l'exception de celui qui est traité par l'extrait à 100mg/Kg.

L'administration préventive du diclofénac (50mg/Kg) a réduit l'œdème de façon progressive, cette réduction devenant plus significative ($p < 0,05$) après les 3 heures qui suivent l'injection de la carragénine, atteignant un pourcentage d'inhibition de 73% à 6h (Tableau V). Cependant, le maximum d'inhibition est enregistré à 24h après l'injection de l'agent pro-inflammatoire (79 %) (Tableau V).

Tableau V : les pourcentages d'inhibition de l'œdème chez les souris traitées par le diclofénac et par l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*.

Groupe	% d'inhibition						
	1h	2h	3h	4h	5h	6h	24h
Groupe 2	26±0,10	27±0,08	26±0,08	40±0,11	59±0,09	73±0,07	79±0,05
Groupe 3	05±0,11	03±0,11	02±0,08	13±0,09	19±0,08	28±0,08	35±0,11
Groupe 4	12±0,10	17±0,11	25±0,07	35±0,07	50±0,07	65±0,07	67±0,06
Groupe 5	40±0,06	41±0,07	40±0,06	54±0,06	72±0,06	78±0,06	84±0,04

Chaque valeur est exprimée en terme de moyenne \pm S.E.M. ; n = 8; p inférieur à 0,05 est considéré significatif par rapport au témoin.

Concernant l'extrait, son effet s'est avéré négligeable à 100mg /kg pendant les cinq premières heures d'observation, son potentiel anti-inflammatoire a été noté seulement à la sixième heure avec un pourcentage d'inhibition de 28%, considéré faible mais qui atteint un pourcentage d'inhibition de 35% à 24h (Tableau V). En effet, l'extrait à 100mg/kg agit à une phase tardive de l'inflammation, probablement la phase d'infiltration des neutrophiles qui produisent les radicaux libres (**Raymondjean, 2007**). On suppose alors que son potentiel antioxydant piégeant des radicaux libres (**Atmani et al., 2009**) est responsable de son activité anti-inflammatoire.

En outre, à 200 mg/kg, l'extrait a réduit l'œdème d'une manière significative 3h après l'induction de l'inflammation, comparable ($p > 0,05$) à celle du standard avec une efficacité maximale de 65% à la sixième heure qui n'a pas changé après 24h (67%) (Tableau V). Donc, on peut suggérer que l'extrait à 200mg/kg agit selon le même mécanisme que le diclofénac. Des études ont déjà rapporté (**Talwar et al., 2011; Ananthi et al., 2010**) que la molécule de référence utilisée (diclofénac) agit à la 2^{ème} phase, en inhibant la libération des prostaglandines. En effet, le diclofénac est connu comme un puissant inhibiteur de la COX₂, responsable de la synthèse des prostaglandines (**Alam et al., 2011**) et cela suggère que l'action inhibitrice des extraits de feuilles de *C. flammula* à 200mg/kg est similaire.

Cependant, l'activité anti-inflammatoire préventive de l'extrait a été la plus efficace à 400mg/Kg, dépassant celle du standard de façon significative ($p < 0,05$) dès la première heure après l'injection de l'agent pro-inflammatoire (40%) et atteignant son maximum à 24h (84% d'inhibition) (Tableau V). Ceci implique que l'extrait à 400 mg/kg agit sur la 1^{ère} phase de l'inflammation notamment sur les histamines, les sérotonines et les kinines expliquant la disparition de la rougeur observée chez les souris testées; l'œdème a continué de diminuer jusqu'à 5h, probablement dû à l'inhibition des prostaglandines dans la deuxième phase de l'inflammation. Par conséquent, on remarque que l'extrait agit à des phases différentes de l'inflammation suivant les différentes doses testées, suggérant qu'il contient des métabolites dont le mécanisme d'action est différent.

Comparés à d'autres plantes, telles que l'extrait éthanolique de *Thespesia populnea* à 400mg/kg qui a réduit l'œdème provoqué par l'injection de la carragénine de 36,2% au bout de la 5^{ème} heure (Amol et kallangouda, 2011) et celui de *Adiantum capillus* à 300 mg/Kg qui l'a réduit à 47% (Hiadera et al., 2011), l'extrait de *C. flammula* est considéré comme un puissant anti-inflammatoire.

V.2. Activité analgésique

V.2.1. Test de la torsion

L'acide acétique est l'agent chimique le plus utilisé pour évaluer l'activité analgésique périphérique des plantes médicinales. L'injection intrapéritonéale (IP) de l'acide acétique cause une douleur inflammatoire en induisant la perméabilité capillaire (Amico-Roxas et al., 1984 ; Kumar et al., 2010) et provoque un comportement stéréotypique chez les souris caractérisé par des contractions abdominales. Cependant, bien que le test de l'acide acétique soit largement utilisé pour tester l'effet analgésique des NSAID, son interprétation doit être faite avec soin car des agents non analgésiques comme les sympathomimétiques, stimulants du système nerveux central, les antagonistes de la sérotonine peuvent aussi diminuer la réponse douloureuse dans ce test (Reanmongkol et Itharat, 2007).

Cinq minutes après l'injection de l'acide acétique, les syndromes douloureux chez les souris testées apparaissent, caractérisés par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de

torsion de la musculature dorso-abdominale. Ces torsions sont comptabilisées pendant un laps de 30 minutes.

Le tableau VI représente les effets de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* et l'aspirine sur le nombre de torsions provoquées par l'injection de l'acide acétique (0,6 %) chez les souris.

Tableau VI : Nombre de torsions observé dans les différents groupes après l'injection de l'acide acétique (0,6%).

Groupe	Nombre de torsions
Groupe 1	87,00±8,18
Groupe 2	41,16±5,42
Groupe 3	52,16±5,10
Groupe 4	49,16±2,77
Groupe 5	43,50±1,52

Chaque valeur est exprimée en moyenne \pm S.E.M. ; n = 8; p inférieur à 0,05 est considéré significatif par rapport au témoin.

La figure 22 représente les pourcentages des torsions abdominales causées par la douleur après injection de l'acide acétique.

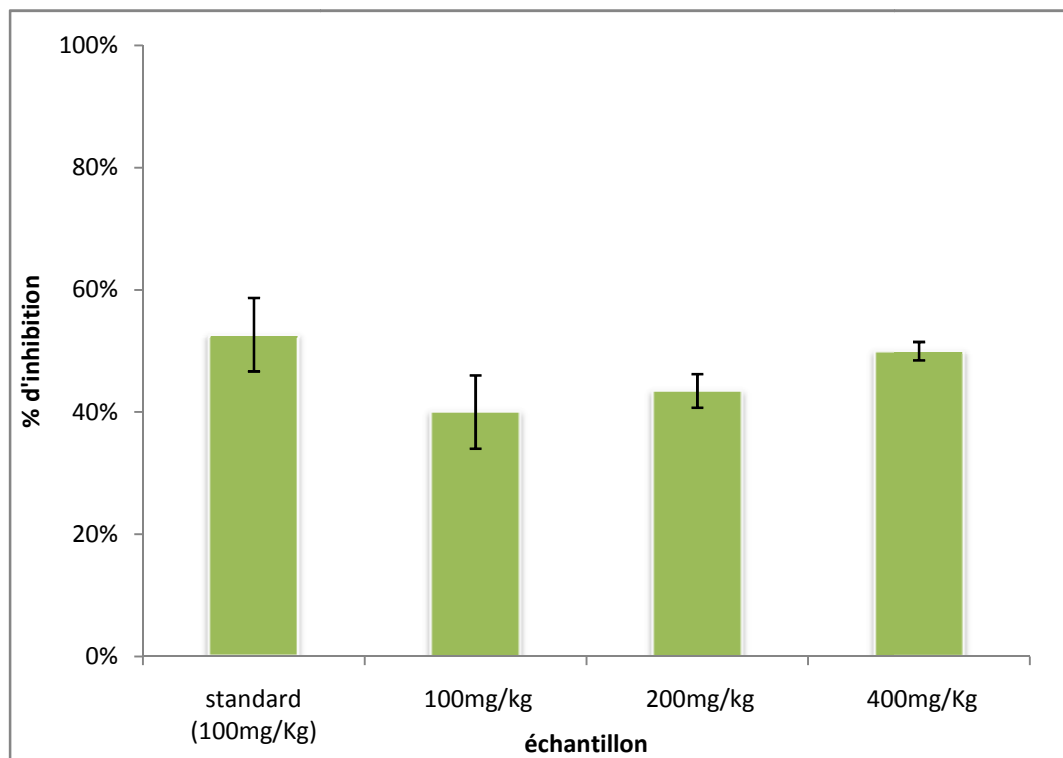


Figure 22 : Pourcentages d'inhibition de l'extrait éthanolique (100, 200 et 400mg/Kg) de *Clematis flammula* et l'aspirine (100mg/Kg) sur le nombre de torsions induites par l'acide acétique.

On a enregistré après l'injection de l'acide acétique au lot témoin 87 torsions au bout de 30 minutes tandis qu'après le gavage des souris par l'aspirine (100 mg/kg) ou l'extrait (100, 200 et 400 mg/kg) le nombre de torsions respectifs (41,16 ; 52,16 ; 49,16 et 43,5) avaient diminué d'une manière significative ($p < 0,05$) dans le même intervalle de temps. Ces résultats correspondent à des pourcentages d'inhibition respectifs de 52,68; 40,04; 43,49; et 50%, (Figure 22) par rapport aux animaux témoins qui n'ont reçu que de l'eau physiologique. Cependant, aucune différence significative n'a été détectée entre les différentes doses de l'extrait (100, 200, 400mg/Kg), indiquant que la dose de 100mg/Kg est une concentration optimale.

La douleur provoquée par l'injection de l'acide acétique est due à la libération de la sérotonine, l'histamine et la bradykinine et des prostaglandines inflammatoires principalement PGE 2α et PGF 2α qui stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Frederico et al., 2009 ; Wantana et al., 2009 ; Muhammad et al., 2013).

Les nocicepteurs sensibilisés vont libérer la substance P qui aggrave la douleur en provoquant la production de plus d'histamine. L'extrait et le standard ont inhibé les contractions abdominales de manière significative. Cet effet analgésique pourrait être lié à l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques (Miño et al., 2002), un effet prouvé dans le cas de l'aspirine (Mahmoudia et al., 2008). Donc, il est possible que l'extrait de *Clematis flammula* exerce un effet analgésique en empêchant la synthèse des prostaglandines périphériques (Bose et al., 2007). Aussi, comme il a été reporté pour certains extraits de plantes (*Clerodendrum phlomidis L.f*), la stabilisation des membranes lysosomiales peut être responsable de l'effet antalgique de *C. flammula* (Babu et al., 2011). L'inhibition de l'AMP-cyclique bloquant la sécrétion de l'histamine est un autre mécanisme par lequel les métabolites de *C. flammula* peuvent agir pour atténuer la douleur causée par l'acide acétique (Hall et al., 1980 ; Ghedira et al., 2012).

Les résultats de l'étude réalisée par Reanmongkol et Itharat (2007) ont révélé que l'extrait éthanolique de *Hibiscus sabdariffa calyces L* à 400mg/kg a inhibé le nombre de torsions de 7,8% ce qui est largement inférieur aux résultats obtenus avec notre étude avec la même dose de *C. flammula* (50%) (Figure 22).

V.2.2. Test de la plaque chauffante

L'essai de la plaque chauffante est l'un des essais de nociception les plus répandus basés sur un stimulus de haute intensité. La douleur induite par le stimulus thermique doit passer par le système nerveux central (SNC) (Chahar et al., 2012).

Les sauts observés dans ce test mettent en jeu un acte moteur volontaire et est considéré comme non appris et soutenu par l'activation de circuits nerveux sensoriels supraspinaux d'organisation très complexe (Calvino, 2001).

Les résultats sont présentés dans la Figure 23. L'aspirine (100 mg/kg), utilisée comme référence, a un effet analgésique significatif qui s'est produit dès les premières 15 minutes d'observation en comparaison avec le contrôle ($p < 0,05$). En revanche, l'activité analgésique de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* aux doses de 100, 200 et 400 mg/kg ne s'est sentie qu'à partir de la trentième minute mais qui n'est pas dose-dépendant ($p > 0,05$) suggérant une activité analgésique maximale à 100mg/Kg.

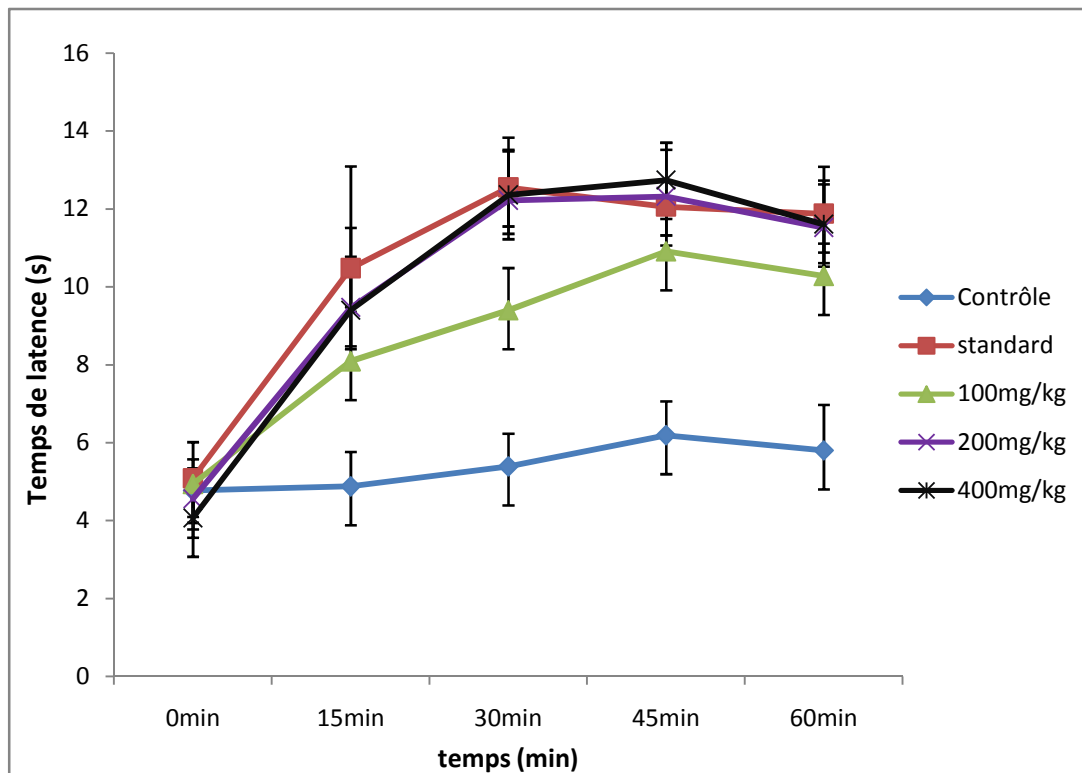


Figure 23 : Effet de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* (100, 200 et 400mg/Kg) et l'aspirine (100mg/Kg) sur l'essai de la plaque chauffante à 0, 15, 30, 45 et 60min.

Les essais de la plaque chauffante sont basés sur le fait que les substances analgésiques centrales telle que l'aspirine élèvent le seuil de douleur du fait de leur action inhibitrice sur la production des prostaglandines (Ibrahim et al., 2012). Cependant l'extrait aurait pu exercer son action par d'autres mécanismes d'anti-nociception. En effet, l'hyperalgie thermique peut être inhibée par l'ouverture des canaux K^+ -ATP qui permettent l'accumulation du Ca^{++} intracellulaire, qui, à son tour, initie une cascade de messagers secondaires (Chen et al., 2012). Ce dernier type d'activité anti-nociceptive passe par des récepteurs narcotiques ou opioïdes (Le Bars et Adam, 2002). Elle a été démontrée dans des extraits de plante telle que *Paederia sandens* (Chen et al., 2012).

Nos résultats ont prouvé que l'extrait éthanolique a prolongé de manière significative la période de latence dans l'essai de la plaque chauffante, suggérant que cet effet analgésique a été effectué principalement par l'intermédiaire de la participation du nerf central. En comparant avec d'autres études (Miño et al., 2002) où les animaux traités avec l'extrait

aqueux de *Balbisia calycina* à la dose de 400 mg/kg n'a pas modifié le temps de latence, l'effet analgésique observé dans cette étude est considéré significatif.

En revanche, **Mahmoudi et al., (2008)** ont trouvé que l'extrait de *Thymus pubescens* à 400 mg/kg a augmenté de manière plus significative le seuil de douleur comparé avec la plante utilisée dans notre expérimentation.

V.3. Activité antipyrétique

La fièvre est le syndrome primaire d'une maladie d'origine inflammatoire ou infectieuse. La réponse fébrile est coordonnée par le système nerveux central par des mécanismes endocriniens, neurologiques et immunologiques. Le déclenchement, les manifestations et le règlement de la réponse fébrile dépendent des propriétés pyrogènes et anti-pyrogènes de diverses substances exogènes et endogènes (**Muhammad et al., 2013**).

La fièvre induite par la levure de bière provoque une élévation de la fréquence cardiaque (8-12 min"/°C), de frissons, de palpitations, d'épisodes plus nombreux de sommeil (**Siblbernagl, 2000**), des syndromes observées chez les souris injectées par cette substance.

Le Tableau VII et la Figure 24 montrent les résultats de l'effet antipyrétique de l'extrait éthanolique de feuilles de *C. flammula* sur l'hyperthermie induite par l'injection d'une solution de levure de bière (20 %).

Tableau VII : Effet antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* sur l'hyperthermie induite chez la souris par l'injection de la levure de bière.

Traitement et la dose	Température rectale		Température rectale après administration des extraits et l'aspirine				Réduction totale de la T° à la quatrième heure
	Avant l'injection de la levure	0 heure (18h après)	1 heure	2 heures	3 heures	4 heures	
Groupe 1	37,31±0,18	37,9±0,05	38,17±0,09	38,24±0,13	38,11±0,09	37,82±0,08	0,08
Groupe 2	37,45±0,14	38,18±0,04	37,81±0,13	37,75±0,14	37,7±0,08	37,4±0,05	0,86
Groupe 3	37,31±0,06	38,01±0,10	38±0,03	37,93±0,03	37,9±0,07	37,62±0,09	0,39
Groupe 4	37,51±0,14	38,1±0,15	37,9±0,08	37,75±0,04	37,68±0,09	37,64±0,04	0,56
Groupe 5	37,42±0,10	38,03±0,10	37,81±0,15	37,65±0,16	37,58±0,14	37,32±0,09	0,6

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; p inférieur à 0,05 est considéré significatifs par rapport au contrôle.

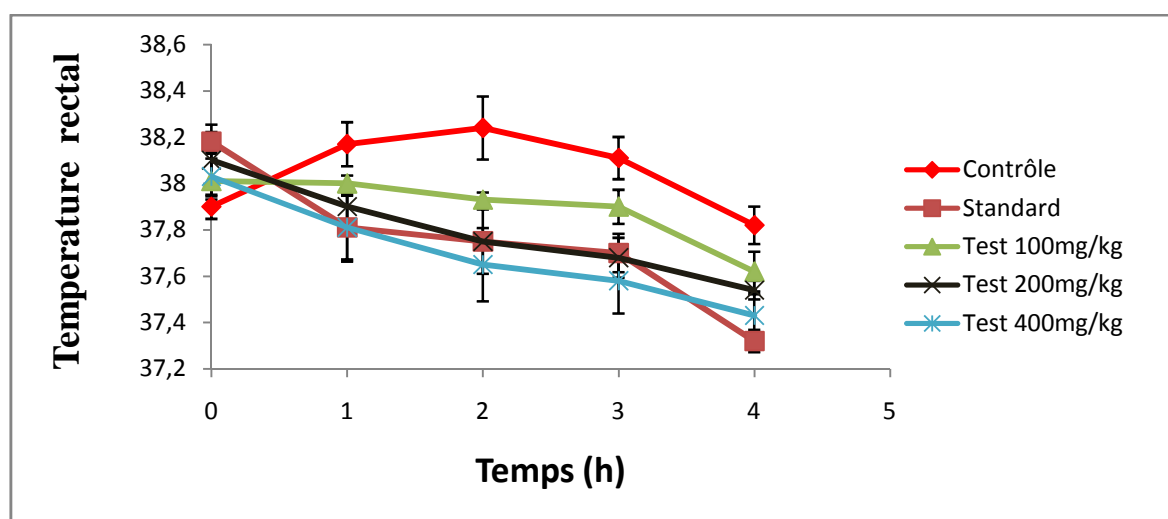


Figure 24 : Effet de l'extrait éthanolique de *C. flammula* (100, 200 et 400mg/Kg) et l'aspirine (100mg/Kg) sur l'hyperthermie.

La levure de bière contient un lipopolysaccharide qui se trouve dans la paroi cellulaire des bactéries gram négatives. C'est un pyrogène exogène qui se lie à une protéine immunologique appelée la protéine contraignante (LBP). Le complexe formé stimule la synthèse et le dégagement des divers facteurs endogènes tels que les cytokines TNF α , IL-1 β , IL-6 qui atteignent les vaisseaux sanguins, stimulent la biosynthèse des prostaglandines tels que le PGE2. Ce dernier, l'ultime médiateur de la réponse fébrile, agit au niveau du centre hypothalamique thermorégulateur en ralentissant la stimulation des neurones sensibles à la chaleur. Le résultat est une augmentation de la température corporelle (**Ribeiro, 2010 ; Sajeli, 2010 ; Ukwuani et al., 2012**).

Le traitement avec l'extrait de *C. flammula* aux doses de 200 et 400 mg/kg a réduit la température rectale des souris avec des effets antipyrétiques significatifs dès la deuxième heure et qui augmentent avec le temps jusqu'à 4h (figure 23). Une différence significative a été constatée entre la réduction de la fièvre chez les souris traitées par l'extrait à 200 et 400mg/Kg après 4 heures de traitement. Par contre, l'extrait à 100mg/Kg n'a donné aucun effet significatif. L'aspirine a provoqué une plus forte réduction de l'hyperthermie à la première heure mais dont l'effet se rapproche de ceux des extraits à 200 et 400 mg/kg dès la deuxième heure ($p > 0,05$).

Nos résultats confirment que l'aspirine contribue à baisser la température corporelle, probablement en inhibant la synthèse des prostaglandines (**Vergne et al., 2000**). Le mécanisme d'action de l'extrait éthanolique de *C. flammula* peut être similaire à celui de l'aspirine mais moins rapide dû au fait de la présence de plusieurs composés phénoliques qui peut provoquer un encombrement stérique ou la difficulté de leur absorption par rapport à une molécule pure.

Aussi, l'effet antipyrétique des extraits pourrait être dû au blocage de la libération des cytokines TNF α , IL-1 β , IL-6 (**Amol et Kallangouda, 2011; Mariappan, et al., 2011**) impliquées dans la régulation de la température corporelle qui est un équilibre sensible entre la production et la perte de la chaleur (**Adesokan et al., 2008 ; Valarmathi et al., 2010 ; Ukwuani et al., 2012**).

Les travaux réalisés par **Bose et ses collaborateurs (2007)** ont montré que l'extrait de *Rutidosperma de Cleome* à 400mg/kg a causé la diminution significative de la fièvre induite par la levure de bière. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans la présente étude.

V.4. Discussion générale

Les activités anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique d'une substance sont fortement associées du fait que le mécanisme de base peut être le même. Par exemple, des anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'aspirine sont de puissants anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques attribués à leur pouvoir d'inhibition de la synthèse des prostaglandines. Cependant, d'autres mécanismes peuvent être impliqués car des substances comme le paracétamol n'ont pas d'effet anti-inflammatoire, bien qu'ils soient analgésiques et antipyrétiques. Cette étude a démontré que l'extrait éthanolique de *C. flammula* agit comme un anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique. A la dose de 200mg/kg, son comportement est similaire au diclofénac et l'aspirine ce qui peut suggérer une inhibition des prostaglandines.

En effet, des études menées sur trois espèces de *Clematis* d'origine australienne ont prouvé l'effet inhibiteur des métabolites de ces plantes sur les cycloxygénases COX-1, COX-2 et la 5-LOX. Cette double inhibition de la COX-2 et la 5-LOX empêche le développement d'effets indésirables caractéristiques des AINS qui sont spécifiques à la COX-2 (**Li et al., 2003 ; Li et al., 2006**). D'autres études ont démontré que l'effet anti-inflammatoire de *Clematis mandshurica* est dû à l'inhibition de médiateurs inflammatoires comme le NO[•] et le PGE₂ dans des macrophages activés par LPS/IFN (lipopolysaccharides/interféron). Cette activité a un effet suppresseur sur la production des cytokines pro-inflammatoires comme IL-2 et IFN- α (**Park et al ., 2006**).

Une étude menée par **Lee et al., (2008)** a révélé que les effets anti-inflammatoires des extraits de *C. crassifolia* est basé sur la diminution de la synthèse de iNOS (NO synthase inductible) dans des macrophages activés par les lipopolysaccharides (LPS). Cet effet est dû à la présence de l'anémone une substance qui est présente chez toutes les espèces de *Clematis*.

La teneur en phénols totaux de *Clematis flammula* (**Atmani et al., 2009 ; Atmani et al., 2011**) a démontré la richesse de cette plante (80,14 mg/G de catéchine) en composés phénoliques, ces derniers pouvant être impliqués dans plusieurs types d'inhibition des voies

inflammatoires. Les saponines ont été identifiées dans les extraits de plusieurs espèces de Clematis. En effet, certains tels que les saponines triterpenoïdes identifiés dans *Clematis chinensis*, ont démontré un puissant potentiel anti-inflammatoire dans le modèle de la carragénine (Fu et al., 2008). La présence de ces polyphénols n'a pas été encore détectée dans les extraits de *C. flammula* mais on assume que les plantes du même genre doivent contenir les mêmes polyphénols.

Les flavonoïdes sont connus en tant que puissants inhibiteurs de COX et LOX (Habib et Waheed., 2013), ainsi ils peuvent être responsables de la réduction des prostaglandines et d'autre métabolites de l'acide arachidonique. D'autres études *in vitro* et *in vivo* ont confirmé que les flavonoïdes comme la quercétine (Comalada et al., 2005; Nair et al., 2006) et la lutéoline réduisent l'inflammation en inhibant l'expression de la phospholipase A2 et de la COX par l'inhibition de l'activité du Nf-KB, empêchant ainsi la synthèse et la libération de médiateurs inflammatoires (Comalada et al., 2005). En outre, la catéchine et ses dérivés inhibent l'expression de iNOS et COX-2 (Gonzalez-Gallego et al., 2010).

Aussi, les flavonoïdes à travers leur groupement hydroxyles (C3-OH) fortement réactifs, possèdent une activité antioxydant et une capacité de piéger les radicaux libres en particulier O_2^- , OH^\cdot et NO^\cdot . 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 été démontrée. Ces radicaux libres ont pour effet d'aggraver l'inflammation (Pasquier, 1995). Par conséquent, l'activité anti-inflammatoire enregistrée par les extraits testés peut en partie être due à la présence de composés actifs possédant des activités anti-radicalaires (Ghedira, 2005).

Conclusion

Les résultats expérimentaux de cette étude suggèrent que les métabolites de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* possèdent des activités analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires agissant probablement sur les mécanismes périphériques et centraux par l'inhibition du dégagement et/ou les actions des substances vasoactives (histamine, sérotonine et kinines) et des prostaglandines. Les résultats obtenus justifient l'utilisation de l'extrait de la plante dans la médecine traditionnelle pour le traitement des conditions douloureuses et inflammatoires. Cependant, ce travail doit être complété par d'autres expériences pour élucider les mécanismes moléculaires qui régissent l'activité anti-inflammatoire des extraits. De plus, l'isolement et l'identification de la structure des phytoconstituents responsables des activités pharmacologiques observées dans cette étude est nécessaire pour explorer les vertus médicinales de cette plante dans l'industrie pharmacologique. Aussi, il est souhaitable de s'assurer de l'absence d'effets secondaires indésirables qui limiteraient l'utilisation clinique de cette plante comme c'est le cas des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Références bibliographiques



- Adams, S.S., Hebborn, P., Nicholson, J.S. (1968). Some aspects of the pharmacology of ibufenac, a non-steroidal anti-inflammatory agent. *J. Pharm. Pharmac.* (20), 305-312.
- Adesokan, A. A., Yakubu, M. T., Owoyele, B. V., Akanji, M. A., Soladoye, A. O. and Lawal, O. K. (2008). Effect of administration of aqueous and ethanolic extracts of *Enantia chlorantha* stem bark on brewer's yeast-induced pyresis in rats. *African Journal of Biochemistry Research.* (2), 165-169.
- 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.
- Amino-Roxas, M., Causo, A., Thombodore, S., Scifo, R., Scapagnone, U. (1984). Gougliodides antinociceptive effects in rodants. *Archives of international pharmacodynamic & therapeutic.* (272), 103-117.
- Amol S, S., Kallangouda, A. (2011). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties of *Thespesia populnea* Soland ex. Correa seed extracts and its fractions in animal models. *Journal of Ethnopharmacology.* (137), 1504–1509.
- 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.
- Atmani D, Chaheer N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, Atmani D (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem.* (112), 303-309.
- Atmani, D., Ruiz-Larrea, M. B., Ruiz-Sanz, J.I., Leandro, J.L. , Lizcano, L. J., Bakkali, F., Atmani, D. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *clematis flammula* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5(4), 589-598.

B

- Baba-Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles d'Algérie et du maghreb substances végétale d'Afrique d'orient et d'occident. *Edition EDAS* : 338.
- Babu, N.P., Pandikumar, P., Ignacimuthu, S. (2011). Lysosomal membrane stabilization and anti-inflammatory activity of *Clerodendrum phlomidis L.f.*, a traditional medicinal plant. *135(3)*, 779-85.
- Bernad, B. (1997). *Dictionnaire : Plantes et champignons*. Edition *ESTEM*, P 190 ,345.
- Blain, H. (2002). Exploration in vitro et ex vivo du pouvoir inhibiteur des anti-inflammatoires non stéroïdiens vis-à-vis des iso-enzymes de la cyclooxygénase. *Thèse doctorat*. Nancy 1.P 63
- Blatteis, C.M., Shuxin, L., Zhonghua, L., Carlos, F., Perlik, V. (2005). Cytokines, PGE2 and endotoxic fever: are-assessment Prostaglandins & other Lipid Mediators. *Phytomedicine*. **(76)**, 1–18.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales* .édition TEC &DOC. P228.
- Bruneton, J., (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier. TEC & DOC. Paris. P 24.
- Bose. A., Mondal. S., Kumar .J, Ghosh. T., Dash. G. K., Sudam. S. (2007). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome Rutidosperma*. *Fitoterapia*. **(78)**, 515–520.

C

- Calvino, B. (2007). *Douleur Inflammation Et Interactions Système Nerveux/ Système Immunitaire*. Paris. Institut Ursa De La Douleur. P55.
- Chahar, M.K, Kumar, S. Lokesh, T. (2012). Antinociceptive and anti inflammatory activity of mesuol isolated from *MESUA FERREA L.* SEED OIL. *Int J Curr Pharm Res*. **(4)**, 51-54.

- Chen, Y.F., Li, N., Jiao, Y.L., Wei, P., Zhang, Q.Y., Rahman, K., Zheng, H.C., Qin, L.P. (2012). Antinociceptive activity of petroleum ether fraction from the MeOH extracts of *Paederia scandens* mice. *Phytomedicine*. **(15)**, 427–436.
- Cimpello, B.B., David, L., Goldman, M.D., Khine, H. (2000). *Fever Pathophysiology*. New –York. P 87, 88.
- 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)**, 84–592.
- Corrado, B., Marco, T., Colucci, R. (2009). Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. *Pharmacol Res*. **(59)**, 90–100.

D

- Dascombe, M. J. (1985). The pharmacology of fever. *Progress Neurobtology*. **(25)**, 327- 373.
- Devillier, P. (2001). Pharmacologie des anti-inflammatoires non-stéroïdiens et pathologies ORL. *La Presse Médicale*. **(30)**, 39-40.
- Djabou, N. (2006). Sambucus NigraL., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine. *These Magister*. Tlemcen. P48
- Du. X., Wang, C., Zhang, H.L. (2011).Activation of ATP-sensitive potassium channels and agonise nociceptive behavior and hyperexcitability of DRG neurons from rats. *Molecular pain*. **(7)**, 35.
- Dubois, R.N., Abramson, S. B., Crofford, L., Gupta, R .A., Simon, L., Putte, V., Lion, B.A., Lipsky, P. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease .*The faseb Journal*. **(12)**, 1063-1073.

E

- Elling, B., Rothenberg M.A., Elling K. M., Pollak A. N. (2006). *Pathophysiology: Paramedic Jones & Bartlett Learning*. USA. P181.

F

- Filipe, P., Lança, V., Joao, N.S., Morlière, P., Santus, R., Fernandes, A. (2001). Flavonoids and urate antioxidant interplay in plasma oxidative stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*. (221), 79-87.
- Fonteneau, P. (2005). *Immunologie*. De Boeck .Paris. 4^{ème} ed. P310.
- Fraga, C.G. (2010). *Plants phenolic and human health*. Canada. P350.
- Frederico, A.V., Higor, F.L., Elson, A.C. (2009). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L., Brazil. *J Pharmaceut Sci*. (45), 437–42.
- Fu, Q., Zan, K., Zho, M., Zhou, S., Slu, S., Jiang, Y. (2008). Triterpene saponins from *Clematis Chenensis* and their potential anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*. 321-326.

G

- Gatt, M.T. (2006). Pain perioperative in surgery of the hand. *Chirurgie de la main*. (25), 119–125.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Pharmacognosie*. (4), 162-169.
- Ghedira, K., Goetz, P., Jeune, R.L. (2012). *Arnica Montana* L. (Asteraceae) L: Arnica. *Phytothérapie*. (10), 38–43.
- Girotti-chanu, C. (2006). Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du 36P derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Micrtea debilis*. Thèse de doctorat en biochimie .Université de Lyon. P64.
- Goldman-Mottet, S. (2004). Utilisations, toxicité et effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Thèse de doctorat*. École nationale vétérinaire d'Alfort. P90.

- Gonzalez-Gallego, J., Garcia-Mediavilla, M.V., Sanchez-Campos, S., Tunon, M.J. (2007). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr.* (104), S15-S27.
- Gonzalez, R., I. Ballester, R. Lopez-Posadas, *et al.* (2010). Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* (51), 331-362.
- Goudable, J., Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénées et antioxydants. *Nutr.Clin. Métabol.* (11), 115 - 120.
- Grieve, M., (1994). *In: Leyel, C.F. (Ed.), A Modern Herbal.* Tiger Books International. London. P 207–208.
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2004). *PDR for Herbal Medicines.* Montvale. New Jersey. 2^{ème} ed. P 769.
- Guignard, J.L. (1979). *Biochimie végétate.* Masson. Paris. 2^{ème} ed. P199.
- Guirimand, F., Le Bars, D. (1996). Physiologie de la nociception. *Ann Fr Anesth Réanim.* (15), 1038-1079.

H

- Habib, M., Waheed, I. (2013). Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology.* (145), 18–24.
- Hall, I.H., Starnes, C.O.J., Lee, K.H., Waddell, T.G. (1980). Mode of action of sesquiterpene lactones as anti-inflammatory agents. *J Pharm Sci.* (69), 537–43.
- Haidera, S., Nazreena, S., Alam, M. M., Guptab, A., Hamida, H., Alam, M.S. (2011). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of ethanolic extract and its various fractions from *Adiantum capillus veneris* Linn. *Journal of Ethnopharmacology.* (138), 741– 747.
- Harborne, J. B. (1989). General procedures and measurement of total phenolics. In J. B. Harborne (Ed.). *Methods in plant biochemistry.* (P 1–28). London: *Academic Press.* In (Balasundram *et al.*, 2006).
- Heldt, H.W. (2005). *Plants biochemistry.* Elsevier Inc. London. 3^{ème} ed. P252.
- Hervé, A. (1999). *Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).* Laboratoire de Pharmacologie Expérimentale et Clinique. Léon .P34.

- Heim, K.L., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. (13), 572–584.
- Huanga, M.H., Wang, B.S., Chiu, C.S., Amagaya, S., Hsieh, W.T., Huang., S.S., Shie, P.H., Huang, G.J. (2011). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of Xanthii Fructus extract. *Journal of Ethnopharmacology*. (135), 545–552.
- Hopking, O. (2003). *Physiologie vegetal*. De Boeck University. Paris .1^{ere} Ed. P26, 514.

I

- Ibrahim, B., Sowemimo, A., Rooyen, A.V., Venter, M.V. (2012). Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume (Amaranthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. (141), 282– 289.

J

- Jin, Z.X., Ito, H., Yoshid, T. (1998). Dimeric and trimeric ellagitannins from *Corylus heterophylla*. *Phytochemistry*. (48), 333-338.
- Jouzeau, J., Daouphars, M., Benani, A., Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin Biol*. (28), 7-17.

K

- Kanaji, N., Sato, T., Nelson, A., Wang, X., Li, Y.J., Kim, M., Masanori, N., Hesham, B., Michalski, J., Maha, F., 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.
- Karlsen, A., L. Retterstol, P. Laake, *et al.* (2007). "Anthocyanins inhibit nuclear factor kappa B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro inflammatory mediators in healthy adults. *Journal Nutr*. (137), 1951-1954.
- Keys, D.J. (1985). *Chinese Herbs, The Botany, Chemistry and Pharmacodynamics*. Third Press, Charles E. Tuttle Company, Tokyo, Japan. P159, 160.
- Kim, H.P.K., Son, H.W., Chang, *et al.* (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal Pharmacologic Science*. (96), 229-245.

- Kumar, B.S.A., Lakshman, K., Jayaveera, K.N., Murgan, C.V., Kumar P.A.A. (2010). Pain management in mice using methanol extracts of three plants belongs to family Amaranthaceae. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 527-530.
- Koster, R., Anderson, M. and de Beer, E.J. 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* (18), 410-412.

L

- Larbier, M., Leclercq, B. (1992). *Nutrition alimentation volailles*. Inra. Paris. 3^{ème} ed. P53.
- Le Bars, D., Adam, F. (2002). Nocicepteurs et médiateurs dans la douleur aiguë inflammatoire. *Ann Fr Anesth Réanim.* (21), 315-35.
- Lee, T.H., Huang, N.K., Lai, T.C., Yang, A.T.Y., Wang, G.J. (2008). Anemonin, from *Clematis crassifolia* potent and selective inducible. nitric oxide synthase inhibitor. *Journal of ethnopharmacology.* (116), 518-527.
- Leimgruber, A. (2009). Allergo-immunologie 2. Les réactions allergiques aux anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Revue Médicale Suisse*. 21-43.
- Li, R.W., Myers, S. P., Leach, D.N., Lin, G.D., Leach, G. (2003). A cross-cultural study: anti inflammatory activity of Australian and Chinese plants. *Journal of Ethnopharmacology* (85), 25–32.
- Li, R.W., Lin, G.D., Leach, D.N., Waterman, P.G., Myers, S.P. (2006). Inhibition of COXs and 5-LOX and activation of PPARs by Australian *Clematis* species (Ranunculaceae). *Journal of Ethnopharmacology.* (104), 138–143.

M

- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Allemand, C.J. (2006). *les composés phénoliques des végétaux*. Romain. Presses Polytechnique. P8.
- Mackenzie, A. (2011). Endothelium-derived vasoactive agents, AT1 receptors and inflammation. *Pharmacology & Therapeutics.* (131), 187–203.
- Mahmoudia, M., Morteza-Semnanib, K., Mojraa, E. (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of *Thymus pubescens* extracts Fitoterapia. (79) 361–365.

- Marc, E., Nelly, A., Annick, D.D., Frederic, D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of ethnopharmacology*. 120(3), 315-334.
- Mariappan, G., Saha, B.P., Sutharson, L., Singh, A., Garg, S., Pandey, L., Kumar, D. (2011). Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and toxicological evaluation of some newer 3-methyl pyrazolone derivatives. *Saudi pharmaceutical journal*. (19), 115-122.
- 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.
- Minghetti, P.L. (2004). Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Inflammatory and Degenerative Brain Diseases. (63), 901-910.
- Mino, J., Acevedo, C., Moscatelli, V., Ferraro, G., Hnatyszyn, O. (2002). Antinociceptive effect of the aqueous extract of *Balbisia calycina*. *Journal of Ethnopharmacology*. (79), 179 – 182.
- Miossec, P. (2003). Physiopathologie de l'inflammation. *La revue du praticien*. 53-59.
- Monassier, L. (2006). *Les anti-inflammatoires non stéroïdiens*. Faculté de Médecine de Strasbourg. Pharmacologie Clinique. P3.
- Morteau, O. (2000). Prostaglandins and Inflammation: the Cyclooxygenase Controversy. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. (48), 473–480.
- Mota, M.L., Thomas, G., Barbosa, F. (1985). Anti-inflammatory action of tannins isolated from the bark of *anacardium occidentale* L. *Journal Ethnopharmacol. Jul*. (13), 289-300.
- Muhammad. N., Barkatullah, I.M., Khan., H. Saeed., M. Khan., A. Z. Kaleem., W.A. (2013). In vivo screening of essential oils of *Skimmia laureola* leaves for antinociceptive and antipyretic activity. *Asian Pac J Trop Biomed*. 3(3), 202-206.
- 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.

N

- 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.
- Ndiaye, M., Sy, G., Diéye, A.M., Touré, M.T., Faye, B. (2006). Evaluation de l'activité des feuilles de d'Annona Réticulata (Annonaceae) sur l'oedème aigue de la patte de rat induit par la carragenine. *Pharm.Med.Trad.afr.* (XIV), 179-186.

O

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

P

- Park, E. K., Ryu, M.H., Kim, Y.H., Lee, Y.A, Lee, S.H., Woo, D. H., Hong, S.J., Han, J.S., Yoo, M.C., Yang, H. I., Kim, K.S. (2006). Anti-inflammatory effects of an ethanolic extract from *Clematis mandshurica* Rupr. *Journal of Ethnopharmacology*. (108), 142–147.
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des Laboratoires*. (276), 87-92.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxydants. *Journal of Natural Products*. (63), 1035-1042.

R

- Raymondjean, M. (2007). Les Mecanismes De L'inflammation Peripherique. *Revue Francophone des Laboratoires*. 389- 395.
- Reanmongkol, W., et Itharat, A. (2007). Antipyretic activity of the extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces L. in experimental animals. Songklanakarin. *Journal Sci. Technol., March, 29 Suppl. (1)*, 29-38.
- Ribeiro, R.V., Matos, S. R., Corsino da Silva, J.L., Tabajara de Oliveira, M.D. (2010). Antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of hydroethanolic extract from *Macrosiphonia velame* (A. St-Hil.) M. Arg. in animal models, Brazil. *J Pharmaceut Sci. (46)*, 515–23.
- Rousselet, M., Vignaud, J.M. Hofman, P., Chatelet, F.P. (2005). *Inflammation et pathologie inflammatoire*. Copyright Afecap. Paris. P 3.

S

- Saini, N.K., Singha, M. (2012). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of methanolic *Tecomaria capensis* leaves extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 870-874.
- Sajeli, B., Bhagawati, S., Goyal, M. (2010). Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyos-cyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia. (81)*, 178–84.
- Salas, S.J., Ballart, F.J., Ros, E., *et al.* (2008). Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the predimed randomized trial. *Arch Intern Med. (168)*, 2449-2458.
- Samuelsson, B., Morgenstern, R., J. Akobsson, P.J. (2007). The prostaglandin E synthase-1 Membrane. *Pharmacol Rev. (59)*, 207-224.
- Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P., Vyas, S.P., Shukla, S., Bajpai, V.K. (2010). Studies on Anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Caesalpinia bonducella* F. seed oil in experimental animal models. *Food and chemical toxicology. (48)*, 61–64.
- Silbernagl, S., Lang, F. (2000). *Atlas de poche de la physiopathologie*. France. 1^{er} éd. P 20,53 ,83.

- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Journal of Food Chemistry*. (89),191-198.
- Soares, D., Veiga, S.F.H., Fabrício, A.S., Miñano, F.J., Souza, G. (2006). CCL3/Macrophage inflammatory protein-1 α induces fever and increases prostaglandin E2 in cerebrospinal fluid of rats: Effect of antipyretic drugs. *Brain research*. (11), 983 – 992.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S, Luximon-Ramma, A, Aruoma, O.I., Bahorn, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agent: Mechanism and actions. *Mutation Research*. (579) 200-213.
- Stewart, A.G., Mackay, G.A. (2008).The pharmacotherapy of inflammation. *Encyclopedia of life support systems*. (2), 21-58.

T

- 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.
- Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers J.E. (1981). *Pharmacognosy eith* .edition Lea and Ferbiger, Philadelphia. P67.

U

- Ukwuani A. N., Abubakar M. G., Warra S. H., Agaie B. M.(2012). Antipyretic Activity of Some Nigerian Medicinal Plants in Rats. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 4(4), 48-51.
- Umesalma, S., Sudhandiran, G. (2010). Differential inhibitory effects of the polyphenol ellagic acid on inflammatory mediators NF- κ B, iNOS, COX-2, TNF- α , and IL-6 in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. (107), 650-655.

V

- Valarmathi, R., Rajendran, A., Akilandeswari, S., Senthamarai, R. (2010). Study on Antipyretic Activity of a *Mollugo pentaphylla* Linn in Albino Mice. *International Journal of Pharm Tech Research*. (2), 2388-2390.
- Vergne, P., Bertin, P., Trèves, R. (2000). Aspirine, douleurs et inflammation. *Rev Med Interne*. (1), 89-96.

W

- Wang, Q., Kuang, H., Su, Y., Sun, Y., Feng, J., Guo, R., Chan, K. (2013). Naturally derived anti-inflammatory compounds from Chinese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. (146), 9–39.
- 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 réactions inflammatoires de Boeck. France. 312 p.
- William, G., Hopkins, C.M., Evrard, M. (2003). *Physiologie végétale*. Molécules et métabolisme. P 532,539.
- Winter, C.A., Risley, S.A., Nuss, G.W. (1962)^a. Carrageenan- induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs .*Proc soc Exp Biol Med*. (111), 544-547.
- Winter, C.A., Risley, S.A., Nuss, G.W. (1962)^b. Anti-inflammatory and antipyretic activities of ibdomethacin 1-(*p* -Chlorobenzoyl)-5-Methoxy-2-Méthyl-Indol-3-Acetic acid .*Journal pharmacologique*. (141), 369-376.
- Woolfe, G., Mac Donald, A.D. (1944). The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (80), 300-330.

Y

- Yang, J., Martinson, T.E et Lui,R.H. (2009) . Phytochemical and antioxidant activiteés of wine grapes food chemistry.(**119**), 332-339.
- Yang, Y., Shin, H., HoKim, S., Park, W., Lee, K., Choi, J. (2012). 6,6'-Bieckol, isolated from marine alga *Ecklonia cava*, suppressed LPS-induced nitric oxide and PGE2 production and inflammatory cytokine expression in macrophages: The inhibition of NFκB. *International Immunopharmacology*. (**12**), 510–517.
- Yesilada, E., upeli, E. *Clematis vitalba*L .aerial part exhibits potent anti-inflammatory antinociceptive and antipyretic effects. (2007). *Journal of Ethnopharmacology*. (**110**), 504–515.
- Yin, W., Wang, T.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.
- Yoon, C.H., Chung, S.J., Lee, S.W., Park, Y.B., Lee, S.K., Park, M.C. (2012). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. *Revue rhumatisme*.8-16.

Z

- Zeilhofer, H.U. (2007). Prostanoids in nociception and pain. *Bioch Pharmacol*. (**73**), 165–74.
- 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

Clematis flammula. (Renonculaceae) est une plante médicinale utilisée dans les maladies liées à l'inflammation. L'objectif du travail était d'étudier les effets anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle. Aux doses de 200 et 400 mg/kg l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante a réduit significativement l'œdème de la patte de la souris induit par la carragénine et l'hyperthermie induite par la levure de bière. Par contre, l'extrait à 100, 200 et 400 mg/kg a atténué la douleur produite par l'injection de l'acide acétique et retardé le temps de latence de la douleur produite par la plaque chauffante, Les résultats de cette étude contribuent à valider les vertus médicinales de cette plante surtout dans les traitements des états inflammatoires aigües. Les constituants phytochimiques de *C. flammula* sont probablement responsables de ses propriétés pharmacologiques et pourraient remplacer certains médicaments comme les AINS qui provoquent des effets secondaires indésirables.

Mots clés

Clematis flammula, inflammation, carragénine, diclofenac sodique, acide acétique, levure de bière, acide acétylsalicylique.

Abstract

Clematis flammula (Ranunculaceae) is a medicinal plant used locally in inflammatory-related pathologies. The objective of this work was to evaluate the anti-inflammatory, antalgic and antipyretic effects of the ethanolic extract of the leaves of *C. flammula* to valorize its use in traditional medicine. At doses of 200 and 400mg/Kg, the ethanolic extract of the leaves of this plant has reduced significantly the mouse right hind paw oedema induced by carrageenan and the hyperthermia induced by yeast. On the other hand, the same extract, at the concentrations of 100, 200 and 400mg/Kg has attenuated the peripheral pain caused by the injection of acetic acid and retarded the latence period of the pain caused by the hot plate. The results of this study contribute to the validation of the medicinal virtues of this plant especially in the treatment of acute inflammatory diseases. The phytochemical constituents of *C. flammula* are probably responsible of its pharmacological properties and could therefore replace certain drugs such as AINS that provoke adverse side effects.

Key words

Clematis flammula, inflammatory, carragenine, sodium diclofenac, acetic acid, yeast, acetylsalicylic acid.

