

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité/Option: Biologie moléculaire et cellulaire : immunologie approfondie

Département: Biologie

Etude phytochimique et évaluation *in vivo* et *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire de certains extraits de la plante médicinale *Inula viscosa*

Présenté par :

BOULAHFA Rahima

BOUROUBA Abire

BENZAIYOU Amina

Devant le jury composé de :

Président:	KAIDI. S	M.A.A	Université de Guelma
Examineur :	BOUSSENANE. H	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur :	BOUDEN. I	M.A.A	Université de Guelma
Membre :	MESSIED. R	M.A.A	Université de Guelma
Membre :	DJAMAA. F	Docteur	Université de Guelma
Membre:	MAAIRIF. S	Docteur	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

*Tout d'abord, nous rendons grâce à dieu tout puissant,
De nous avoir accordé l'opportunité, la bonne santé, l'énergie et la
volonté pour mener à terme notre formation de master et pouvoir réalisé
ce projet de fin d'étude.*

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury :

*Madame KAIDI.S, pour nous avoir honorai de sa présidence de ce
jury.*

*Madame BOUSSENANE.H, pour avoir accepté d'examiner ce
travail.*

*Madame MESSIED, Madame MAAIRIF et Madame DJAMAA
pour faire parti du membre de jury.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur
Mr BOUDEN Ismail pour son dévouement, sa disponibilité et surtout
ses précieux conseils et suggestions.*

*Enfin, on adresse nos sincères sentiments de gratitudes et de
reconnaisances à toutes les personnes qui ont participé de près ou de
loin a la réalisation de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste projet de fin d'étude à ceux que personne ne peut compenser les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bien être « Mes très chers parents »

A ma sœur et mes frères

A tout ma famille

A mes chères amies

A toute personne qui de près ou de loin a participé a ma formation et a la réalisation de ce travail.

RAHIMA

Dédicaces

*Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir.
La force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le
bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire.*

"Ya Karim ya Rahim"

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie
mon travail à mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui
m'ont soutenus tout au long de ma vie ainsi à mes frères Moufid,
Khaled et Mimou et mes sœurs Karima et Naima, et mes amis.*

A toute personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes étude.

ABIRE

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance ...

Aussi c'est tout simplement qui je dédie se projet de fin d'étude...

A mes chers parent : Ammar et Houria

Autant de phrases d'expressions aussi éloquents soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.

A mes adorables sœurs : Abir et Ferial

Mon cher frère : Ahmed chouaib

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence, par votre amour dévoué et votre tendresse, pour donner du goût et du sens à ma vie. En témoignage de mon amour et de ma grande affection, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon estime et mon sincère attachement. Je prie Dieu, le Tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

AMINA

Table des matières

Remerciements

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : L'inflammation

I. L'inflammation.....	3
I.1. L'inflammation aiguë.....	3
I.1.1. Phase vasculaire.....	4
I.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes).....	5
I.1.3. Phase de résolution.....	5
I.2. L'inflammation chronique.....	6
I.3. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation.....	7
I.3.1. Médiateurs solubles.....	7
I.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë.....	7
I.4. Pathologies inflammatoires.....	10
I.5. Anti-inflammatoires.....	11
I.5.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	11
I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	12
I.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	14

Chapitre II : Plantes médicinales et inflammation

1. Plantes médicinales et principes actifs.....	16
1. 1. Définition des plantes médicinales.....	16
1. 2. Définition des principes actifs.....	16
2. Métabolites secondaires.....	17
2.1. Les différentes classes de métabolites secondaires.....	17
2.1.1. Les composés phénoliques.....	18
2.1.1.1. Les Flavonoïdes.....	18

2.1.1.2. Les tannins.....	20
2.1.1.3. Les coumarines.....	21
2.1.1.4. Les quinones.....	22
2.1.2. Les alcaloïdes.....	22
2.1.3. Les Terpénoïdes.....	23
2.2. Leurs différents rôles défensifs.....	23

Chapitre III : Etude botanique d'*inula viscosa*

1. Description botanique de la famille des composées.....	24
2. Le genre <i>Inula</i>	24
2.1. Répartition géographique.....	25
2.2. Usages traditionnels.....	25
2.4. Métabolites secondaires du genre <i>Inula</i>	26
3. <i>Inula viscosa</i>	27
3.1. Description botanique de la plante.....	27
3.2. Classification dans la systématique botanique.....	28
3.3. Répartition géographique d' <i>inula viscosa</i>	28
3.4. Usage traditionnelle d' <i>inula viscosa</i>	28
3.5. Les travaux antérieurs.....	29

Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	30
2. Criblage phytochimique.....	31
2.1 Test des alcaloïdes.....	31
2.2. Test des saponosides.....	32
2.3. Test des flavonoïdes.....	32
2.4. Test des coumarines.....	32
2.5. Test des stérols et triterpènes.....	32
2.6. Test des Tanins.....	33
2.7. Test des glycosides.....	33
3. Préparation des extraits.....	33
3.1. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL).....	33
3.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques.....	34

3.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	34
3.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	35
4. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro.....	35
4. 1. Inhibition de la dénaturation des protéines.....	35
5. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vivo.....	36
5.1. Matériel animal.....	36
5.2. Réactifs.....	36
5.3. Prétraitement par les extraits.....	36
5.4. Induction de l'inflammation.....	37
5.4.1. Injection de la carragénine.....	38
5.4.2. Évaluation de l'activité antioedémateuse.....	38
5.4.3. Le taux des cellules immunitaire.....	39
5.5. Analyses statistique	39

Troisième partie : Résultats et discussion

1. Criblage phytochimique.....	40
2. Les rendements en extraits secs.....	41
3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible).....	42
3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques.....	42
3.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	42
3.1.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	45
4. Activité Anti-inflammatoire.....	46
4.1. Activité Anti-inflammatoire in vitro.....	46
4.1.1. L'inhibition de la dénaturation du BSA.....	46
4.2. Activité Anti-inflammatoire in vivo.....	48
4.2.1. Criblage de l'activité antioedémateuse.....	48
4.2.1.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte.....	48
4. 2.1.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte.....	50
4.2.2. L'effet de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i> sur le taux des cellules immunitaire....	51

Discussion

Conclusion

Résumé

Abstract

الملخص

Référence bibliographiques

Liste des abréviations

% INH : Pourcentage d'Inhibition

Ac₂O : Anhydride d'acétate

ACTH : Adéno Cortico Trophic Hormone

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BSA : Sérum Bovine Albumine

CHCl₃ : Trichlorométhane.

CINC-1 : Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant 1

% AUG : Pourcentage d'Augmentation

EOR : Espèces Oxygénées Réactives

ESL : Extraction Solide – Liquide

FeCl₃ : Chlorure de fer.

G-CSF : Granulocyte Colony Stimulating Factor

GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

HCl : Acide Chlorhydrique

HgCl₂ : Chlorure mercurique

HIV : Virus 'Immunodéficience Humaine

i.p : intra-péritonéale

ICAM-1 : Intercellular Adhesion Molecule

IL : Interleukine

IV-DF : Fraction Déchlorométhane d'*Inula viscosa*

IV-HE : Extrait Hexanique d'*Inula viscosa*

KI : Iodure de potassium

LT : Leucotriènes

MC : Maladie de Crohn

mg EAG/g MS : milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme de Matière Sèche

mg EC/g MS : milligramme Equivalent Catéchine par gramme de Matière Sèche

Mo₈O₂₃ : Molybdène

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NF- κ B: Nuclear Factor-kappa B

NH₃: Ammoniac

nm: nanomètre

NO: Monoxyde d'azote

NOS : Monoxyde d'azote Synthase

OD: Densité Optique

P : Poids

PAF : Facteur Activateur des Plaquettes

PAMPs: Pathogen-Associated Molecular Pattern

PC : Poids Corporelle

PG : Prostaglandines

PMNs : Polymorphonucléaires Neutrophiles

PRR : Pattern Recognition Receptors

Rdt : Rendements

SEM : Standard Erreur Moyenne

TNF: Tumor Necrosis Factor

UV: Ultra-Violet

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule

W₈O₂₃ : Oxydes bleus de tungstène

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Formation du transsudat et d'exsudat	4
Figure 2	Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins	6
Figure 3	Mécanisme d'action des AINS	12
Figure 4	Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	13
Figure 5	Structure de base des flavonoïdes	18
Figure 6	Exemple d'un tanin hydrolysable (pentagalloylglucose)	20
Figure 7	Exemple d'un tanin condensé (polymère de procyanidine)	21
Figure 8	Structure de base de coumarine.	21
Figure 9	Structure de base de quinones	22
Figure 10	Structure de base la molécule isoprène	23
Figure 11	Les inules.	25
Figure 12	Photographie d' <i>inula viscosa</i>	27
Figure 13	Carte géographique de la willaya de Jijel	30

Figure 14	Aspects morphologique de l'espèce <i>Inula viscosa</i>	31
Figure 15	L'administration de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i> par voie intrapéritonéale	37
Figure 16	Injection subplantaire de la carragénine dans la patte arrière droite	38
Figure 17	Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital	38
Figure 18	Rendements des extraits bruts obtenus à partir des feuilles de la plante.	42
Figure 19	Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	43
Figure 20	Teneurs en phénols totaux pour les différents extraits bruts de la plante étudiée.	44
Figure 21	Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	45
Figure 22	Teneurs en flavonoïdes totaux pour les trois extraits bruts de la plante étudiée	46
Figure 23	L'effet d' <i>Inula viscosa</i> (feuilles) : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA.	48
Figure 24	Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intrapéritonéale, après l'injection de la carragénine (0,1 ml; 1%)	50
Figure 25	Pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes droites des souris, induit après les traitements lors du test de l'activité antioedémateuse de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .	52

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire	8
Tableau 2	Exemples de maladies liées à l'inflammation	10
Tableau 3	Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires	15
Tableau 4	Quelques classes des flavonoïdes	19
Tableau 5	Usages traditionnels de quelques espèces du genre <i>inula</i>	25
Tableau 6	Les différentes maladies traitées par <i>Inula viscosa</i>	29
Tableau 7	Les paramètres géographiques et bioclimatiques de la région de Settara	30
Tableau 8	Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des feuilles de la plante <i>Inula viscosa</i> .	40
Tableau 9	Les rendements en extraits obtenus à partir des feuilles de la plante	42
Tableau 10	Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS), en flavonoïdes (mg EC/g MS), des différents extraits obtenus par ESL	43
Tableau 11	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .	46

Tableau 12	Le taux des cellules immunitaires chez les différents groupes testés.	52
-------------------	---	-----------

Introduction

Introduction

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires ou antioxydantes est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. Les tisanes, décoctions, emplâtres ont été utilisés avec succès. En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle.

Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle.

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro* des extraits bruts des feuilles d'*Inula viscosa* L, connu en Algérie sous le nom de Maghramène. A notre connaissance, il n'existe pas des précédents travaux sur l'activité anti-inflammatoire *in vivo* d'*Inula viscosa*,

Notre travail sera en trois parties ; nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne de l'inflammation. Le deuxième chapitre est consacré de La phytothérapie et les plantes médicinales. Nous donnerons dans le troisième chapitre une étude botanique détaillée de la plante étudiée.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- Les tests phytochimiques des feuilles de la plante.
- Préparation des extraits bruts par l'extraction Solide –Liquide (ESL).
- Dosage des phénols et des flavonoïdes totaux.
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de cette plante, par deux méthodes : L'inhibition de la dénaturation des protéines et la stabilisation de la membrane des globules rouges humains.
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits de cette plante par un modèle d'inflammation aiguë, œdème de la patte des souris induit par la carragénine.

Enfin dans la troisième partie nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions et en terminera par une conclusion générale.

Première partie :
Etude bibliographique

Chapitre I : L'inflammation

I. L'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou même un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète. Mal contrôlée, l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entraînant dans les cas les plus graves le décès **(Nathan, 2002; Barton, 2008)**.

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut être divisé en deux branches interconnectées. L'immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs PRR et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, les PAMPs, ou endogènes, les alarmines, va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative **(Barton, 2008; Medzhitov, 2008)**. La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé. En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique **(Barton, 2008)**.

I.1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante **(Charles *et al.*, 2010)**. L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

I.1.1. Phase vasculaire

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. Ces plaquettes vont alors s'activer. Très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. Le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines (diapédèse) (**Figure 1**). Ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème (**Kumar et al., 2007**).

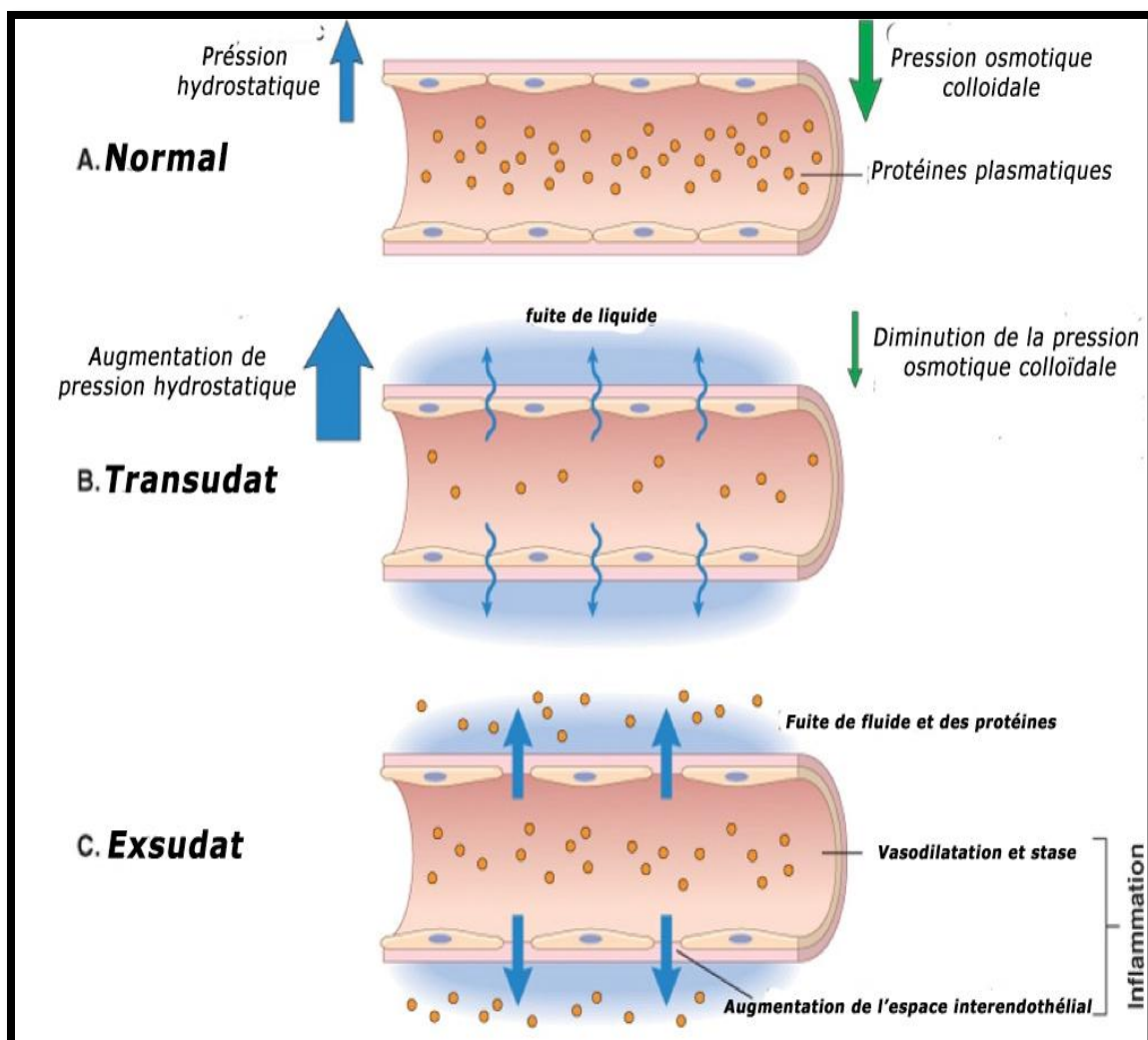


Figure. 1: Formation du transsudat et d'exsudat (**Kumar et al., 2007**).

I.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (**Nathan, 2002**).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4 (**Figure 2**). Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (**Charles et al., 2010**).

I.1.3. Phase de résolution

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaire sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines

matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).

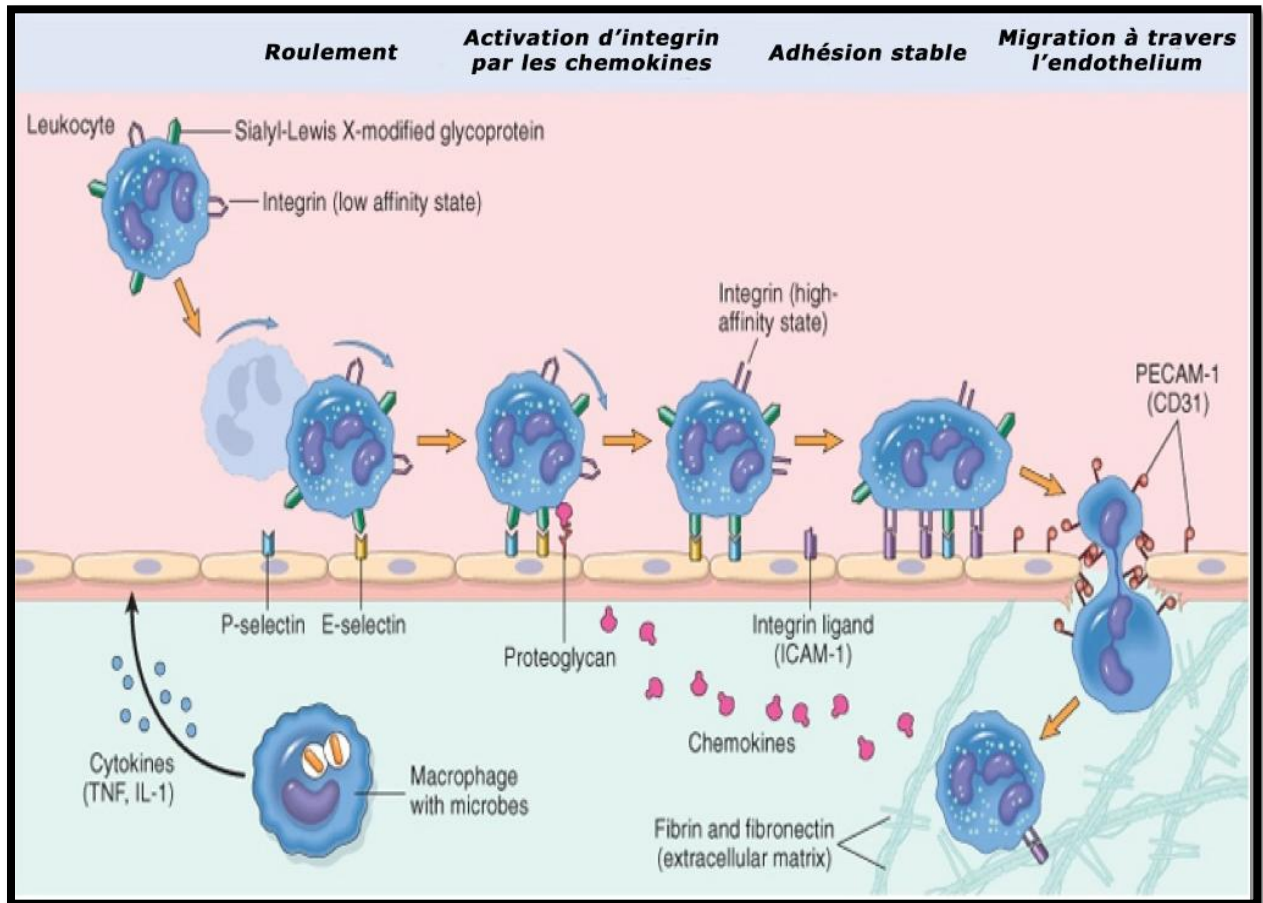


Figure. 2 : Processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

I.2. L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la bérylliose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires.

L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (**Charles *et al.*, 2010**). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (**Nourshargh *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2010**).

I.3. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation

I.3.1. Médiateurs solubles

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (**Kumar *et al.*, 2007; Charles *et al.*, 2010**).

Les protéases plasmatiques comprennent le complément (activation par la voie classique ou par la voie alterne en fonction des stimuli, produisant des fragments chémoattractants tels que le C3a et le C5a), les kinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires (**Charles *et al.*, 2010**). Le **tableau 1** résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

I.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les PMNs qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62 L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales (**Kumar *et***

al., 2007). Dans le site inflammatoire, ces polynucléaires neutrophiles s'activent et dégranulent, en réponse à différents médiateurs solubles déjà évoqués (C5a, leucotriènes, facteurs d'activation des plaquettes, histamine), augmentent leur production d'enzymes oxydatives et leur capacité à phagocytoser sous l'effet des leucotriènes, de facteurs de croissance hémopoïétiques tels que le G-CSF et le GM-CSF, du TNF et de l'Interleukine 8 (Charles *et al.*, 2010).

D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs proinflammatoires. Les éosinophiles sont également recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée. Les plaquettes contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine. Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines proinflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PMNs par la production d'immunoglobulines par les B-lymphocytes (Kumar *et al.*, 2007; Charles *et al.*, 2010).

Tableau. 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004 ; Male *et al.*, 2007).

Médiateurs	Origine	Actions
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur activateur des plaquettes (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la broncho constriction, l'aggregation des plaquettes et la

		libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des EOR et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroéine	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : LTC4, LTD4, LTE4	Essentiellement par les leucocytes	Augmentent la perméabilité des micro- vaisseaux.
LTB4	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hageman (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.

Fibrine	Présente dans le plasma, formé à partir du finbrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse

I.4. Pathologies inflammatoires

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires, à savoir les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Charles *et al.*, 2010). Quelques exemples sont rapportés dans le **tableau 2**.

Tableau 2. Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

Origine	Types de maladie
Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation.	Artériosclérose Arthrose Asthme Polyarthrite rhumatoïde Eczéma Maladie de Crohn (MC) Goutte

	<p style="text-align: center;">Thyroïdite d'Hashimoto Maladie d'Alzheimer Lupus érythémateux disséminé</p>
Maladies d'origine infectieux dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie.	<p style="text-align: center;">Hépatite C Tuberculose Tuberculose Dysenterie bactérienne</p>
Maladies d'origines divers dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie.	<p style="text-align: center;">Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique Fibrose pulmonaire idiopathique Bilharziose</p>

I.5. Anti-inflammatoires

I.5.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation (**Figure 3**). Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (**Nicolas *et al.*, 2001**). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS

semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (Blain *et al.*, 2000).

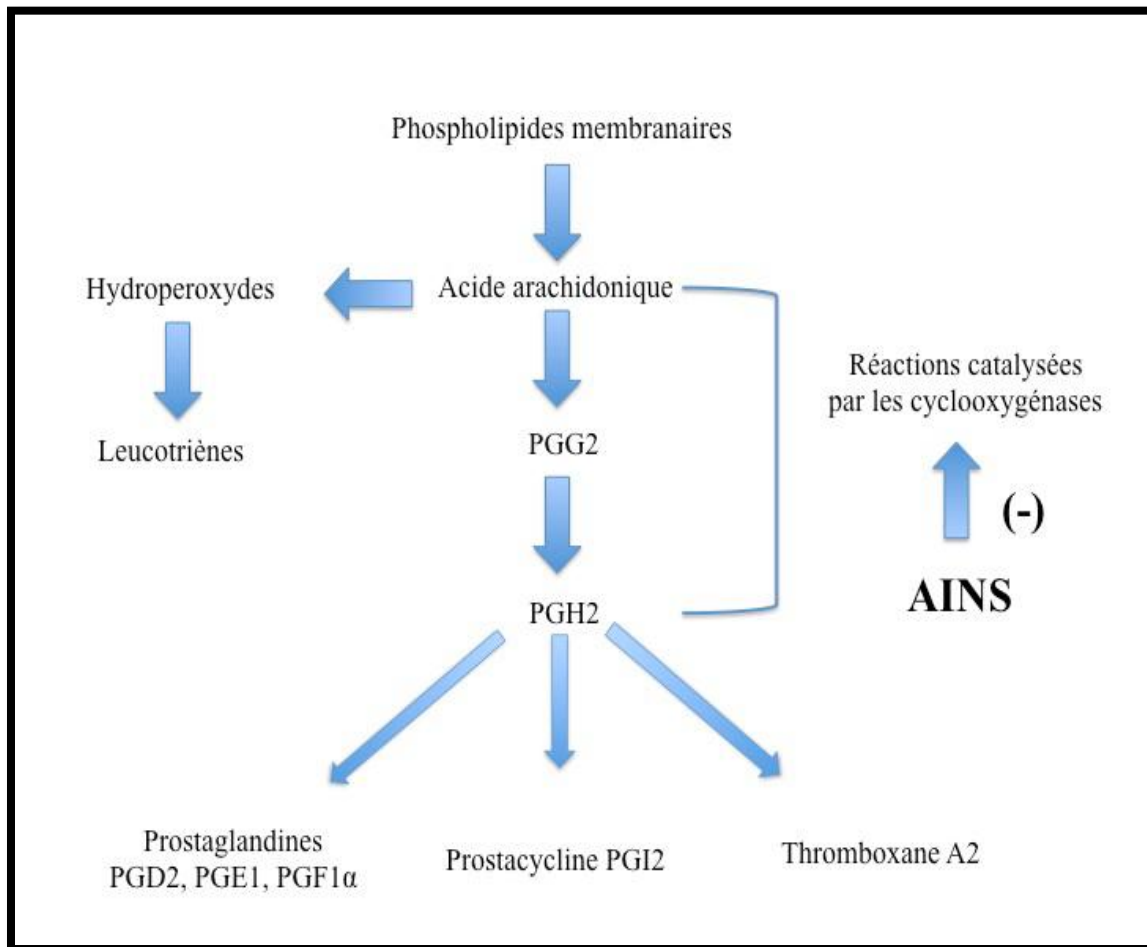


Figure. 3: Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien (Nicolas *et al.*, 2001). Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. Après quoi, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une

augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (**Figure. 4**).

Le mécanisme opposé est appelé transrépression. Le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (**Barnes, 1998**).

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire (**Henzen, 2003**).

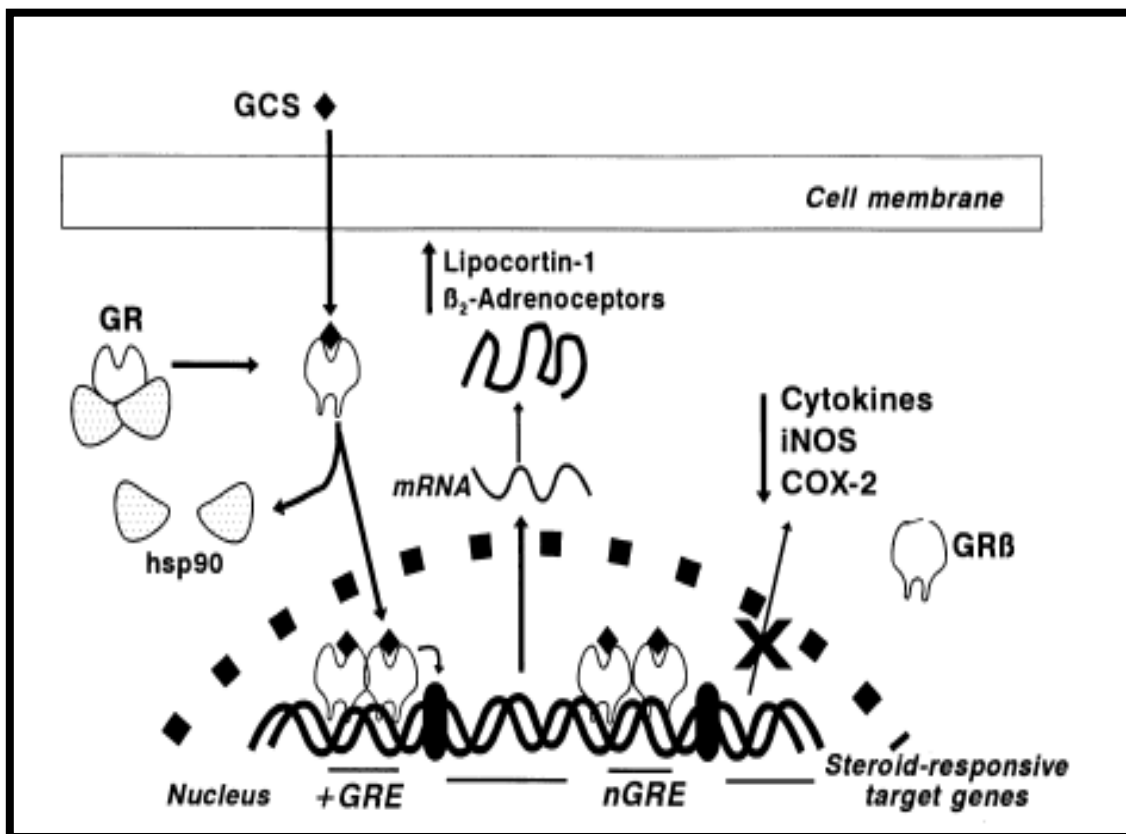


Figure. 4 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (**Barnes, 1998**).

I.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée. Dans ce contexte, plusieurs exemples de plantes peuvent être cités:

- *Curcuma longa* (curcuma) contient un pigment jaune appelé curcumine, un polyphénol qui inhibe la production de la prostaglandine E2 et l'expression de la cyclooxygénase 2. Le curcumine inhibe aussi l'expression des gènes de L'IL-6 et de L'IL-8 et diminue de manière dose dépendante la production de monoxyde d'azote (NO) et l'expression de l'enzyme NO Synthase (NOS) inductible (Jurenka, 2009). Le curcumine inhibe également le facteur nucléaire kappa-B (Aggarwal *et al.*, 2008).
- *Zingiber officinale* (gingembre) contient un grand nombre de constituants; gingerol, betacarotene capsaisin, acide caféique et curcumine, dont l'activité anti-inflammatoire est bien évidente. Les extraits du rhizome du gingembre sont de puissants inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines et des leucotrienes, comme ils inhibent la production du TNF- α en agissant sur l'expression des gènes (Setty et Sigal, 2005).
- *Baccharis trimera* (Guayapi Tropical), une plante médicinale utilisée pour le traitement du rhumatisme. Elle contient un diterpénoïde qui montre une inhibition importante de la phospholipase A2 (Januário *et al.*, 2004).
- *Arnica montana* (Arnica) est également très utilisée pour le traitement des œdèmes et des meurtrissures. Son effet anti-inflammatoire revient à ces sesquiterpènes lactones tel que le helenaline et le dihydrohelenaline qui inhibent l'activation du facteur de transcription du Facteur nucléaire kappa-B, impliqué dans la transcription de médiateurs pro-inflammatoires (Wiert, 2006).
- *Harpagophytum procumbens* est une plante issue de la médecine traditionnelle africaine. Son activité anti-inflammatoire a été largement investiguée *in vivo* et *in vitro*. Cette plante réduit significativement l'œdème de la patte induit par le carragénine (Catelan *et al.*, 2006). Elle inhibe la synthèse des eicosanoïdes, comme elle inhibe la production du TNF- α par les monocytes humains. Elle réduit également la production de la myelopéroxydase par les neutrophiles et bloque la synthèse de la prostaglandine E2 (Setty et Sigal, 2005).

De plus, d'autres exemples sont cités dans le **tableau 3** :

Tableau. 3. Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (**Barnes, 1998**).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, nevralgie, maux de tête, fièvre
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Oedèmes, états grippaux, mal de dents
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,

***Chapitre II : Plantes
médicinales et inflammation***

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction puis isolés des plantes. Ainsi de nombreuses formes galéniques peuvent être utilisées comme tisanes (infusées, décoctées, macérées), extraits, teintures, ou des huiles essentielles (**Catier et Roux, 2007**). Sont considérés comme plantes médicinales toutes plantes contenant une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**).

Toutes les données concernant les plantes médicinales sont regroupées dans un ouvrage officiel national ou international que l'on appelle pharmacopée. Y est décrit le mode de préparation, la composition, l'action des médicaments (**Marie-joséphe, 2011**).

Le règne végétal constitue une source inépuisable de nouvelles molécules utilisables directement comme principe actif ou pouvant servir comme molécule guide pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. L'intérêt pour les plantes médicinales comme nouvelles sources de médicaments pour de nombreuses pathologies est en hausse continue grâce à leurs métabolites secondaires (**Mansour, 2015**).

1. Plantes médicinales et principes actifs

1. 1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Farnsworth et al., 1986**). .

Environ 35000 espèces des plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Elqaj et al., 2007**).

1. 2. Définition des principes actifs

La plante est le siège d'une intense activité métabolique, processus dynamique subdivisé différemment, par exemple toutes les cellules renferment des glucides, des acides aminés et des lipides, ces molécules qui sont à la base moléculaire des cellules sont dénommées métabolites primaires. Egalement, les plantes synthétisent une foule

importante d'autres molécules organiques qui peuvent n'avoir aucun rôle manifeste dans la croissance et le développement (métabolites secondaires), qui sont lié aux conditions de vie de la plante.

Les substances les plus diverses face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit, prédateurs, microorganismes pathogènes (**Kansole, 2009**).

2. Métabolites secondaires

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du 19^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicaux, en particulier les flavonoïdes et les pro anthocyanidines (**Barnes,1998**).

2.1 Les différentes classes de métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en différents groupes (**Sandrine, 2004**) :

2.1.1. Les composés phénoliques

Ils interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). On a, par exemple, la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes et les tanins.

2.1.1.1. Les Flavonoïdes

Ce sont des métabolites secondaires ubiquitaires des plantes. Plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été identifiés à ce jour. Ce sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Milane, 2004 ; Lhuilier, 2007). Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets.

On distingue 5 groupes majeurs de flavonoïdes chez les plantes (Larkins et Wynn., 2004) :

- les flavones
- les flavonols (réputés les plus antioxydants) et les procyanidines
- les anthocyanines
- les hydroxycinnamates (abondants dans les fruits)
- les flavanones.

Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Yao *et al.*, 2004)

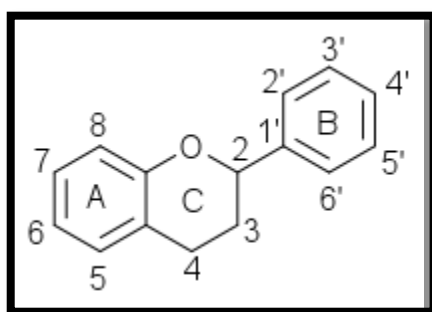
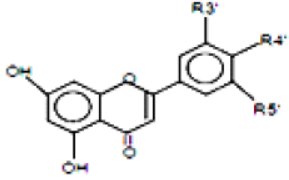
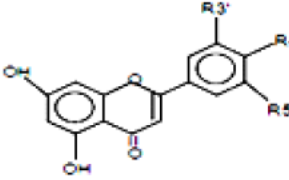
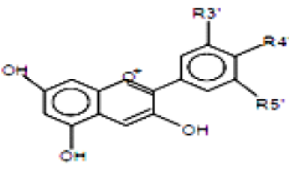
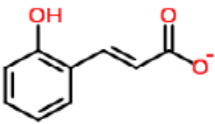
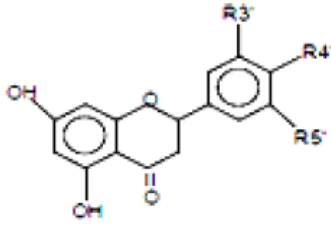


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (Lhuilier, 2007).

Tableau 4 : Quelques classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001; w-Erdman *et al.* , 2007)

Groupe de flavonoïde	Structure	Caractéristique
Les flavones		<p>Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.</p> <p>Ils se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3. Ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.</p>
Les flavonols		<p>Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.</p>
Les anthocyanines		<p>Représentent le groupe le plus important des substances colorées. Ces pigments hydrolysables contribuent à la coloration des angiospermes</p>
Les hydroxy-cinnamates		<p>Sont de puissants antioxydants, mais n'ont pas d'impact sensoriel sauf lorsque oxydés, ils peuvent former des pigments bruns qui ont finalement précipité.</p>
Les flavanones		<p>Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3.</p> <p>Le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.</p>

Ces composés sont connus pour être de puissants antioxydants, leurs mécanismes d'action peut être directe ou indirecte : piégeant les radicaux libres réactifs et les chélateurs d'ions métalliques, sont les effets directs les plus importants, réduction de la production des radicaux libres par inhibition d'enzymes et la régénération d' antioxydants liés a la membrane tel que l' α tocophérol sont des exemples des mécanismes indirects .

Ils ont un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la phospholipase etc...), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (**Anderson et al., 1996 ; Cowan, 1999 ; Yao et al., 2004**).

2.1.1.2. Les tannins

Ils sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau. Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines (**Stevanovic, 2005 ; Merghem, 2009**).

D'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués: les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- **Les tanins hydrolysables** : sont des dérivés de l'acide gallique ; ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (**Figure. 6**). Le sucre est généralement le D-glucose, l'acide phénol et soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999**).

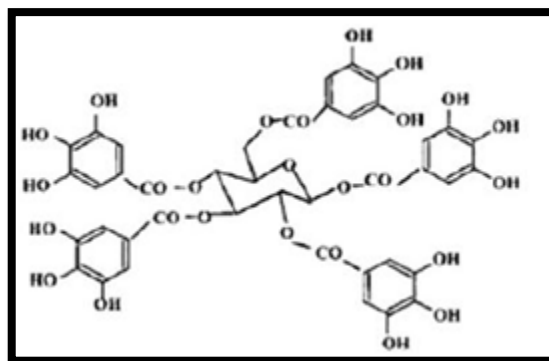


Figure 6 : Exemple d'un tannin hydrolysable (pentagalloylglucose) (**Ignat et al., 2011**).

- **Les tanins condensés** : sont distingués en procyanidine (dérivé de catéchine, épicatechine et leurs esters galliques) et en prodelphinidines (dérivés de gallocatéchine, épigallocatéchine et leurs esters galliques) (Valls *et al.*, 2009 ; Ignat *et al.*, 2011). Les tanins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes (Figure 7). Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole, 2009).

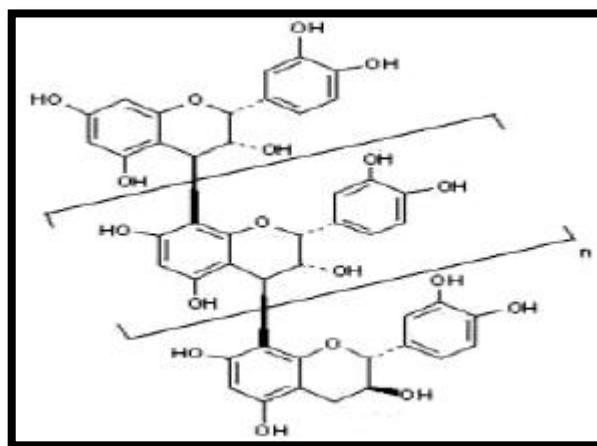


Figure 7 : Exemple d'un tanin condensé (polymère de procyanidine) (Ignat *et al.*, 2011).

2.1.1.3. Les coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2 (Figure 8). Certaines familles d'angiospermes élaborent des structures très variées : fabaceae, asteraceae et surtout apiaceae et rutaceae chez lesquelles sont rencontrées les plus complexes

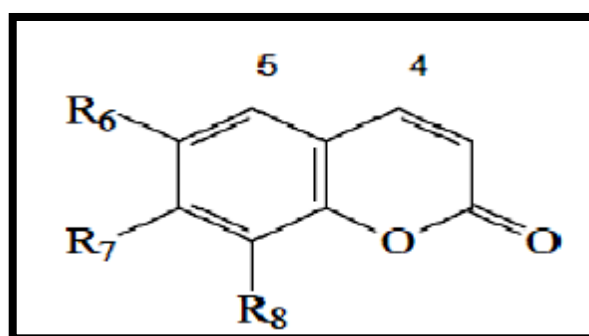


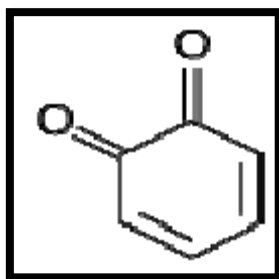
Figure 8: Structure de base de coumarine (Igor, 2002).

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus ; se trouve dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor, 2002). Ils sont connus par leur activité cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées, ce sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du cœur)

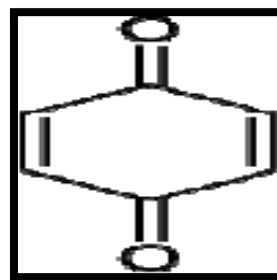
2.1.1.4. Les quinones : ou la benzoquinone($C_6H_4O_2$),

C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'orthobenzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone, est la 1,4-dione (Figure. 9).

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides, elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les êtres vivants, en particulier le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes.



1,2-Benzoquinone



1,4-Benzoquinone

Figure 9 : Structure de base de quinones (Peter *et al.*, 2003)

2.1.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs Réactifs (Kansole, 2009).

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine etc...). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne).

2.1.3. Les Terpénoïdes

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpénoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (**Figure 10**) (**Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998**).

Ils existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène C_5H_8 . Ils sont classés en fonction de leurs unités isoprène. En dénombre aujourd'hui 600 classes utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et cosmétique.

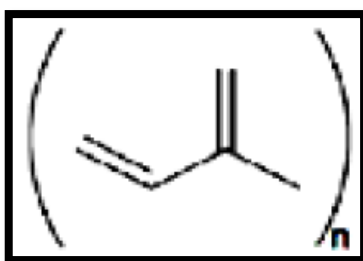


Figure 10 : Structure de base la molécule isoprène (**Malecky, 2006**)

2.2 Leurs différents rôles défensifs

Leurs rôles sont multiples (**Sandrine, 2004**):

- Ils ont une action anti-herbivore (menthe par exemple)
- ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons
- ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins)
- ils peuvent être antinutritifs.

Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole.

***Chapitre III : Etude
botanique d'inula viscosa***

La famille des composées est l'une des plus distribuée dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces (**Guignard, 1994 ; Gaussen et Leory, 1982**). En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces (**Quezel et Santa, 1963**) et en France, 111 genres et 638 espèces (**Guassen et Leory, 1982**). Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: Laitues (Lactuca), Endives, Chicorée (Cichorium), artichauts (Cynara), salsifis (Tragopogon). Le tournesol (*Heliantus annuus*) est cultivé pour son huile riche en acide gras.

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Le Semen-contrà (*Artemisia cina Berge*), l'Arnica (*Arnica montana L.*), la Chamomille (*Matricaria chamomilla L.* et *Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antenaria dioca gartn*) (**Guignard, 1994**). Une des propriétés typique de la famille des composées est sa richesse en composés naturels divers.

On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes (**Harborne et Swain, 1969**). C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille (**Harborne et Swain, 1969**).

1. Description botanique de la famille des composées

Les composées, représentées principalement dans les régions tempérées et froides du globe (**Paris et Moyse, 1971**), sont principalement des herbes vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, parfois des herbes rarement des plants aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales, simple exstipulées. Selon Gaussen, les composées sont répartie en fonction de leurs fleurs en deux type : l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées (**Gaussen et Leory, 1982**).

2. Le genre *Inula*

Le nom *Inula* est très ancien et vient du nom de l'espèce *Inula helenium* et généraliser pour tout le genre. Le nom Helenium découlerait du grec "helen". La légende antique raconte que la fleur serait née des larmes de la belle Hélène de troie.

Le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Ce sont des plantes herbacées vivaces, à feuilles alternes. Capitules jaunes, contenant à la fois des fleurs tubuleuses et des fleurs ligulées. Bractées en plusieurs séries. Fleurs périphériques pistillées, à ligules tridentées. Anthères sagittées à la base. Achaines munis de côtes. (**Benguerba, 2008**)

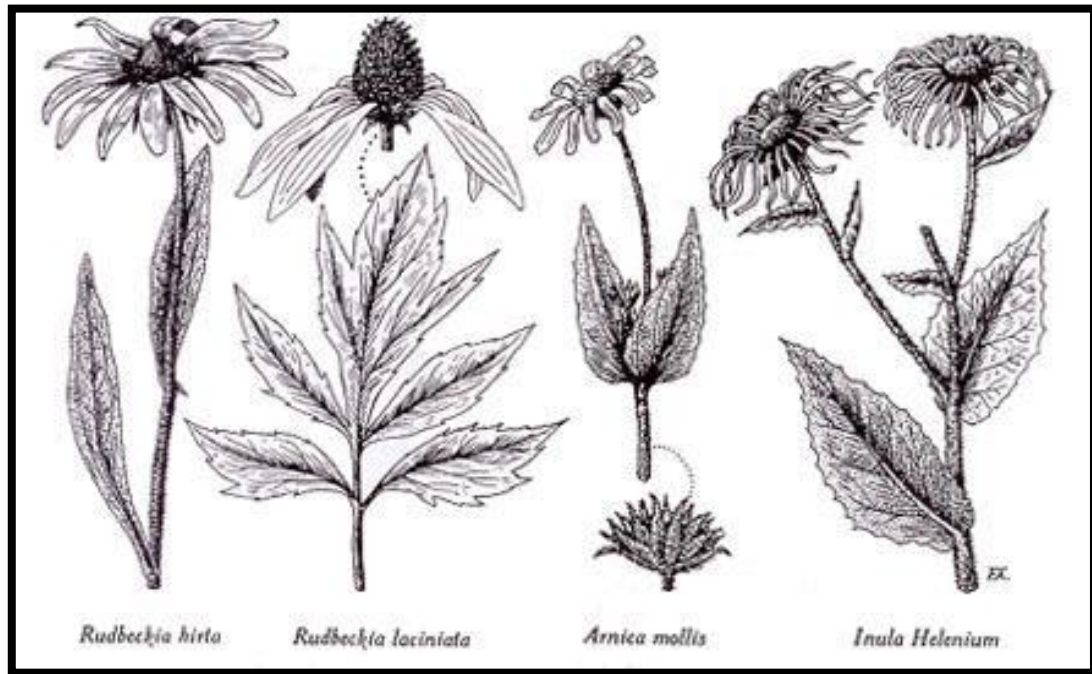


Figure11: Les inules (Benguerba, 2008)

2.1. Répartition géographique:

Le genre *Inula* est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe (Espagne, France...), Asie (Chine, Turquie, Japon, Korea...) et en Afrique (Egypte, Algérie, Maroc...) (Quezel et Santa, 1963).

2.2. Usages traditionnels:

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques aux espèces du genre *Inula*. On va présenter les multiples usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*.

Tableau. 5 : Usages traditionnels de quelques espèces du genre *inula* (Benguerba, 2008)

Espèces	Usages traditionnels
<i>Inula helenium L.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Comme un remède familial en japon. • Comme une diaphorèse en Europe, et en Taiwan et chine, comme un agent thérapeutique pour la tuberculose et l'entéro gastrique chronique. (Okuda, 1986) • Elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotiques, antispasmodiques, toniques et aromatiques.

<i>Inula britannica L.</i>	<ul style="list-style-type: none">• Les fleurs de ces plantes ont été utilisées pour le traitement des troubles digestifs, la bronchite, et l'inflammation. <i>Inula britannica</i> a aussi une activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antihepatique et antitumorale.
<i>Inula royleana L.</i>	<ul style="list-style-type: none">• Ces racines possèdent une activité anti inflammatoire antibiotique et une activité vermifuge (Blaschek et al., 1998 ; Konishi , 2002)
<i>Inula racemosa L.</i>	<ul style="list-style-type: none">• En médecine traditionnelle chinoise, les racines d'herbe d'<i>Inula racemosa</i> ont été habituellement employées pour fortifier la rate, réguler la fonction de l'estomac, soulager la dépression du qi de foie, alléger la douleur rhumatismales particulièrement entre le cou et les épaules et pour empêcher l'avortement (Tsarong, 1994).
<i>Inula montana L.</i>	<ul style="list-style-type: none">• Possède une activité sur le système digestif (Tardio et al ., 2002)
<i>Inula salicina L.</i>	<ul style="list-style-type: none">• Digestif, antidiarrhéique (Tardio et al., 2002).
<i>Inula conyza DC.</i>	<ul style="list-style-type: none">• Laxative, vulnéraire (Villar et al., 1987).
<i>Inula viscosa</i>	<ul style="list-style-type: none">• Possède une activité curative de blessure avec l'extrait du <i>Inula viscosa</i> (Khalil et al., 2007)

2.3. Métabolites secondaires du genre *Inula*

Le genre *Inula* est très riche en métabolites secondaire; ce qui explique les diverses utilisations de ce genre dans la médecine traditionnelle et les diverses activités biologiques.

La composition chimique de ce genre de plantes est représentée par:

- Les flavonoïdes : comme la quercetine, isorhamnetine, lutéoline, spinacetine (**Zhang et al., 2009**)
- Les terpénoïdes : sesquiterpène lactones, diterpènes et triterpènes (**Mamoci et al., 2011; Khan et al., 2010b**).
- Les dérivés d'acide anthranilique (**Qin et al., 2008**).
- Les huiles essentielles: avec les différents composants chimiques (**Haoui et al., 2011**).

3. *Inula viscosa*

3.1. Description botanique de la plante

Inula viscosa (L.) Ait. (**Figure. 12**) est une plante vivace fréquente en région méditerranéenne, elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne. Elle affectionne les anciennes cultures (friches), les décombres, les bords des routes et des chemins, formant d'abondantes touffes vertes à capitules jaunes.

La plante est visqueuse et très odoriférante, à odeur de camphre. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante.

La racine est pivotante, ligneuse à sa base (pouvant atteindre 30 cm de long). Les tiges sont frutescentes à la base de 40-100 cm, à rameaux rougeâtres. Les feuilles sont entières ou dentées, aiguës, sinuées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires. Elles sont glanduleuses sur les deux faces. Les caulinaires amplexicaules, plus largement lancéolées. Les fleurs sont rayonnantes, regroupées en inflorescences (capitules) formant de longues grappes de capitules, pyramidales. Les fruits sont des akènes de un à 2 mm de long. Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure. 12: Photographie d'*Inula viscosa* (L.) (**Benayache et al., 1991**).

3.2. Classification dans la systématique botanique

Synonymes : *Dittrichia graveolens*, *Magramen*.

Règne	→	Plantae
Division	→	Magnoliophyta
Classe	→	Magnoliopsida
Ordre	→	Asterales
Famille	→	Asteraceae (composée)
Genre	→	<i>Inula</i>
Espèce	→	<i>Inula viscosa</i> (L.)

3.3. Répartition géographique d'*Inula viscosa*

Répandue dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols sales, les prairies humides et le bord de cours d'eau (**Quezel et Santa, 1963**), largement répandue en Algérie dans les rocailles et les terrains argileux (**Benayache et al., 1991**)

3.4. Usage traditionnelle d'*Inula viscosa*

Considère comme << la reine des plantes médicinales >>, les villageois arabes en Palestine et la Jordanie ont utilisé *Inula viscosa* pour soulager ou traiter de divers maux, le médecin arabe El Tamimi, qui a pratiqué Jérusalem au cours du 10ème siècle, a écrit que la boisson 'raesen', fabriquée à partir d'*Inula viscosa* et ajoutée au miel, a été la 'boisson des rois'. Il a été efficace dans la lutte contre les rhumatismes, les rhumes, et même agi comme un aphrodisiaque.

Les pratiques de la médecine traditionnelle sont documentées dans 'herbes pouch' (**krispil, 1982**), un livre écrit en hébreu, qui comprend des entrevues et la main-première preuve d'un grand nombre utilise *Inula viscosa*.

Depuis les temps anciens, *Inula viscosa* a été largement utilisé comme traitement pour ce qui suit (**krispil, 1982**) tableau 6 :

Tableau. 6 : Les différentes maladies traitées par *Inula viscosa* (krispil, 1982)

Plaies	L'application de feuilles fraîches, ou une poudre de feuilles sèches ou de saignement sur des plaies ouvertes ou les résultats des brûlures a l'arrêt de l'hémorragie, et sert comme antiseptique et anti-inflammatoires agent efficace. Traitement <i>Inula viscosa</i> aide est préféré par les villageois sur des médicaments modernes car il favorise la cicatrisation plus rapide.
Les peaux sèches et rugueuses	La poudre de la famille <i>Inula viscosa</i> sèches est mélangée avec de l'huile et applique a l'extérieur des parties touchées du corps
Hémorroïdes	Une pate est également préparée à partir de feuilles broyées, mélangée avec l'huile d'olive et appliquée comme une pommade.
L'hypertension artérielle et le diabète	Feuilles <i>Inula viscosa</i> sont cuites a l'eau et la tonique est consommée.
Bronchite et les infections respiratoire	L'extrait est ajouté à l'eau bouillante et la tonique consommée.

3.5. Les travaux antérieurs

Inula viscosa est utilisée pour soulager les entorses, contre le ballonnement et le mal de ventre et pour traiter les abcès ; elle est engraisseante, reconstituante, digestive, cholérétique diurétique antitussive, vermifuge, insecticide végétale, antiseptique hémostatique (arrêt de petites Hémorragies), cicatrisante antalgique et antirhumatismale (Tahri et al., 2012).

L' extrait exhanique (IV-HE) et la fraction déchlorométhane (IV-DF) de *I.viscosa* révèle une activité cytotoxique vis-à-vis des cellules cancéreuses du col de l' utérus (Merghoub, 2011) et ses huiles essentielles présentent une activité anti- oxydante et antibactérienne (Kheyar, 2009) cette plante possède ,en plus , des effets antibactériens et antifongiques qui seraient dus à l'action des flavonoides et sesquiterpènes existant au niveau de ses partie aériennes (Benseguini, 2001 ; Remli, 2013)

De plus, l'extrait aqueux d'*I. viscosa* peut jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidique, lipidique et protéinique et il peut être utilisé comme un antioxydant (Djedioui, 2010) et antihypertenseur (Kattouf et al., 2009)

Deuxième partie :
Matériel et méthodes

Matériel végétal, criblage phytochimique et extraction

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte les feuilles de la plante récoltée (**Figure. 14**). L'espèce *Inula viscosa* a été récoltée de la daïra de Settara située à 68 km au sud-est de Jijel et à 72 km au sud-ouest de Skikda., (**Figure. 13 ; Tableau. 7**). Pour la période d'échantillonnage, janvier (2017).

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation de notre plante, on procède à un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant deux semaines. Elle est, ensuite, broyée par un broyeur électrique et conservée dans des enveloppes en papier.

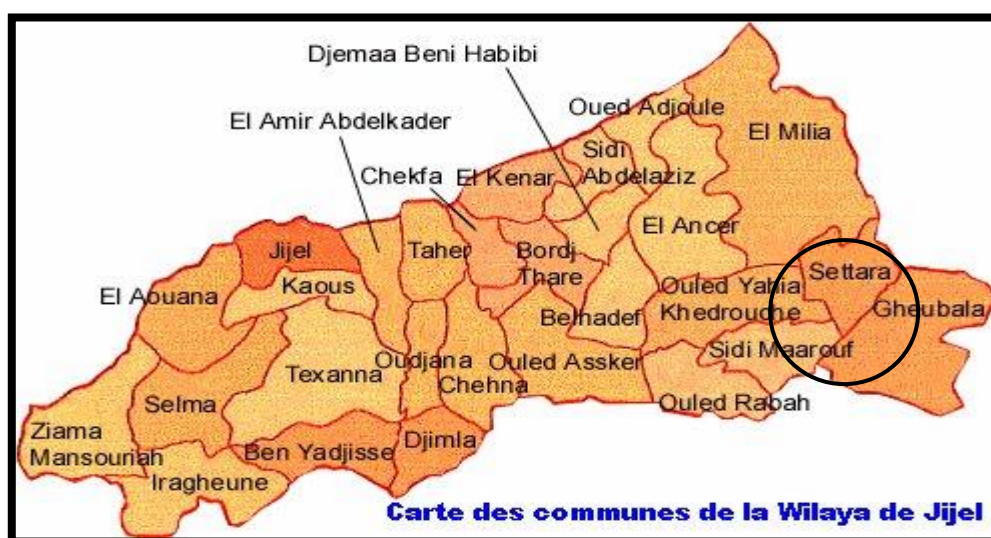


Figure. 13 : Carte géographique de la wilaya de Jijel [1].

Tableau. 7 : Les paramètres géographiques et bioclimatiques de la région de Settara [1].

Plante étudiée	Stations	Période de récolte	Partie étudiée	Latitude	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>Inula viscosa</i>	Settara (W.Jijel)	Janvier 2017	Feuilles	36° 43' 10" N 6° 20' 08" E	500	Méditerranée (hivers humides, étés chauds et secs).

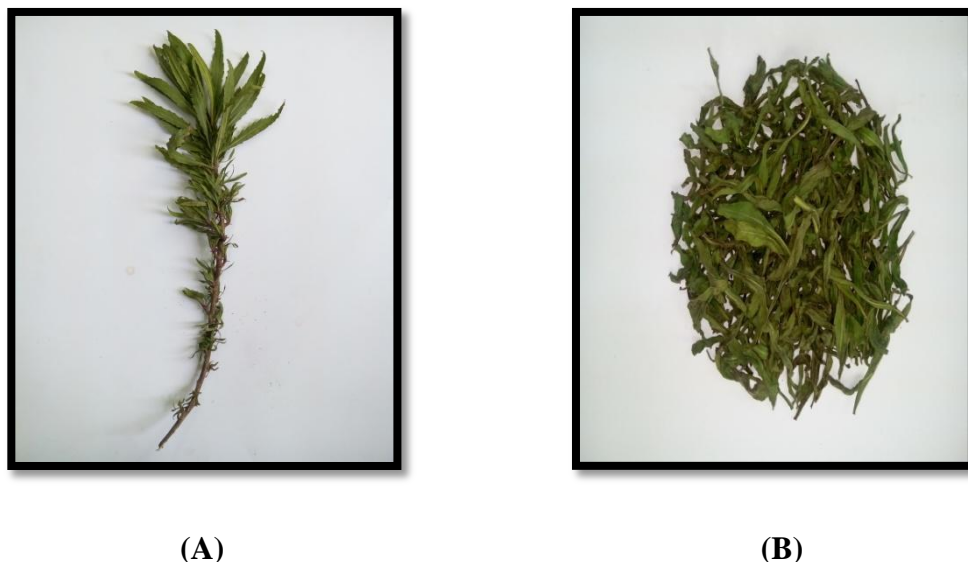


Figure. 14 : Aspects morphologique de l'espèce *Inula viscosa*. (A) ; Partie aérienne, (B) ; Feuilles (photos originales, 2017)

2. Criblage phytochimique

Des tests en tube sont réalisés sur les poudres végétales afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

2.1 Test des alcaloïdes

Le réactif de Mayer

- Réactif de Mayer composition:

Iodure de potassium (KI) 25 g, chlorure mercurique (HgCl_2) 6,8 g, eau distillée (1000 ml).

10g de plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé à 50 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est ensuite filtré puis on y ajoute NH_3 jusqu'à un pH: 8 à 9, on fait ensuite l'extraction par CHCl_3 (3 fois), on évapore CHCl_3 , on ajoute à l'extrait sec 2 ml HCl (1%),

puis on ajoute 3 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc ou une phase trouble indique la présence des alcaloïdes (**Benzahi et al., 2001**)

2.2. Test des saponosides

2 g de poudre de la plante est mélangé à 80 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre, l'extrait est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (**Benzahi et al., 2001**).

2.3. Test des flavonoïdes

10g de plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé à 100 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est macéré durant 24 h, après filtration on ajoute NH_4OH au filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune claire implique la présence des flavonoïdes (**Benzahi et al., 2001**).

2.4. Test des coumarines

On évapore 10 ml de l'extrait Ether di éthylique, l'extrait sec est repris dans 2 ml d'eau. Le mélange obtenu est ensuite partagé dans deux tubes à essais (l'un servira de référence). Au contenu de l'autre, nous avons ajouté 0.5 ml de NH_4OH (10 %). Nous avons bien mélangé et observé la fluorescence sous UV. La présence des coumarines est indiquée par une fluorescence dans le tube (**Benzahi et al., 2001**).

2.5. Test des stérols et triterpènes

5g de plante, mise en poudre, a été mis dans 20 ml de chloroforme. Après filtration la solution obtenue est répartie entre deux tubes à essais (l'un servira de référence). On ajoute d'abord anhydride d'acétate (Ac_2O); ensuite nous avons ajouté 1ml d' H_2SO_4 au fond du tube sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence des stérols et des triterpènes. C'est la réaction de Liebermann-Buchard (**Benzahi et al., 2001**).

2.6. Test des Tanins

10g de plante, mise en poudre, on extrait par l'alcool éthylique 50%, puis on filtre, on ajoute au filtrat quelques gouttes FeCl₃ (1%). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre (**Benzahi et al., 2001**).

2.7. Test des glycosides

5g de plante, mise en poudre, on y ajoute 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2 % dans l'éthanol, on chauffe à reflux durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, on met le filtrat dans l'eau chaude. Dans un tube à essai, on ajoute à 2 ml du filtrat 2 gouttes de la liqueur de Fehling, on chauffe, la réduction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (**Chaouch, 2001**).

La présence des principales classes phytochimiques est classée comme suit :

+ : présence certaine

- : absence

3. Préparation des extraits

3.1. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL)

Dans cette partie de travail, nous avons tenté d'extraire les composés phénoliques totaux. Une quantité de poudre végétale est mise en contact avec le solvant d'extraction qui a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés. Deux extraits hydro-alcooliques ont ainsi été testés : le méthanol aqueux, l'acétone aqueux avec des proportions de 70% (v/v) et un extrait de l'eau chaude (Infusé) pour se rapprocher des préparations traditionnelles.

Le volume de solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la totalité de l'extraction. Les ratios optimums solides : liquides, les plus souvent trouvés dans la littérature, sont généralement situés entre 1/10 et 1/50 (mg/ml) (**Michel, 2011**). On a choisi le ratio 1/10 (mg/ml) dans la présente étude.

10 g de poudre végétal ont été repris avec 50 ml de méthanol et de l'acétone à 70% dans un bécher de 1000 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 72 heures à la température du laboratoire Cette opération a été répétée trois fois chaque 24h successivement.

Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur. Le rendement d'extraction a été calculé par rapport au poids total de la poudre végétale.

➤ **Calcul des rendements en extraits secs**

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{P3}} \times 100$$

P1 : Poids de la boîte pétri avec extrais après évaporation.

P2 : Poids de la boîte pétri vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

3.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués.

3.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts a été déterminée au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu suivant la méthode décrite par **Awah** et ses collaborateurs (**2012**). Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**). L'intensité de cette couleur renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Une prise de 125 μl de l'extrait dilué (selon le solvant) est mélangée avec 500 μl d'eau distillée et 125 μl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 μl de $\text{CO}_3(\text{Na})_2$ à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 10, 20, 30, 60, 130, 250 µg/ml. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

3.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts et leurs différentes fractions a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par **Barros et al., (2011)**. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la soude, entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm.

Une prise de 500 µl d'extrait convenablement dilué est mise dans un tube en présence de 2 ml d'eau distillée, puis on additionne 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂, 5%). Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 10%) sont ajoutés au mélange. On apporte à ce dernier 2 ml d'une solution de soude (NaOH, 4%) après 6 mn de repos puis on ajuste le volume final à 5 ml avec de l'eau distillée. L'intensité de la couleur rose est mesurée à 510 nm après 15 min d'incubation. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée dans les mêmes conditions.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est alors exprimée en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

4. Evaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*

4. 1. Inhibition de la dénaturation des protéines

L'activité anti inflammatoire *in vitro* de différents l'extraits de *inula viscosa* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines la méthode consiste a préparé quatre solution (**Ghosh et al., 2015**):

- **Solution d'essai (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations varier (250,500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).
- **Solution contrôle (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé
- **Solution contrôle produit (0,5 ml)** composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).

- **Solution standard (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard diclofénac sodium avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).

Les échantillons ont été incubées à 37 ° c pendant 20 min, ensuite la température était augmenté jusqu'à 57 ° c pendant 3 min. après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajouté aux solutions (**Ghosh et al., 2015**).

L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - (\text{DO Solution d'essai} - \text{DO Controle produit} / \text{DO Solution controle})] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

Pour étudier l'activité anti inflammatoire de la plante après une inflammation aigue, un œdème local est provoquée par le carragénine dans la patte de souris (**Winter et al., 1962**)

5.1. Matériel animal

Les expériences ont été réalisées chez des souris de souche Swiss albinos, de poids compris entre 25 g et 30 g. Les souris ont été réparties au hasard en 5 lots homogènes de 6 souris.

5.2. Réactifs

Solution de carragénine à 1% dans du sérum physiologique (NaCl 0.9 %), extrait aqueux des feuilles de *Inula viscosa*, diclofenac soduim comme anti-inflammatoire de référence.

5.3. Prétraitement par l'extrait

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 30 souris pesant 25±5 g est divisé en 5 groupes, chaque groupe reçoit par voie intra-péritonéale (i.p) les solutions expérimentales comme suit :

- **Groupe témoin sain** (n=6): une solution de NaCl (0,9%). (Sans injection de la carragénine)
- **Groupe contrôle** (n=6) : une solution de NaCl (0,9%).
- **Groupe standard** (n=6): l'anti-inflammatoire diclofénac (50 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%.
- **Groupe essai** (n=6): l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* à la dose de 250 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.
- **Groupe essai** (n=6): l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* à la dose de 500 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.

5.4. Induction de l'inflammation

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'une plante médicinale, un modèle expérimental d'inflammation aigüe de la patte de la souris induit par la carragénine a été sélectionné.

Des œdèmes au niveau des pattes de souris sont induits après injection sub-plantaire (intra articulaire) d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière droite des souris, une heure après l'administration de l'extrait par voie intra-péritonéale (i.p), (**Figure 15**). L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire (**Winter et al., 1962**). Les souris utilisées ont été mises à jeun, 12 heures avant l'essai.



Figure. 15: L'administration de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* par voie intra-péritonéale

5.4.1. Injection de la carragénine

Une heure après l'administration de traitement, chaque animal reçoit par injection subplantaire dans la patte arrière droite, 0,1 ml d'une suspension de carragénine à 1% dissous dans du NaCl 0,9% (**Figure 16**).



Figure 16 : Injection subplantaire de la carragénine dans la patte arrière droite

5.4.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

➤ **Mesure de l'œdème**

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un micromètre digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant quatre heures (**Figure 17**).

L'évolution de l'œdème de la patte a été déterminée chaque heure jusqu'à 4 heures.



Figure. 17 : Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital

➤ **Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)**

Le pourcentage d'augmentation (% AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris. Il est donné par la formule suivante (**Ossipov *et al.*, 1995**):

$$\%AUG = (D_n - D_0) / D_0 \times 100$$

D_n : diamètre de la patte la $i^{\text{ème}}$ heure après l'injection de la carragénine.

D_0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

➤ **Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH)**

Le pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traitées par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante (**Ossipov *et al.*, 1995**):

$$\%INH = (\%AUG_{\text{témoin}} - \%AUG_{\text{traité}}) / \%AUG_{\text{témoin}} \times 100$$

5.4.3. Le taux des cellules immunitaire (leucocytes, lymphocytes, granulocytes)

Taux de globules blancs est calculé par la technique d' FNS (**Formule Numération Sanguine**). FNS est l'analyse des composants du sang. Elle est demandée couramment comme un outil permettant le diagnostic ou l'orientation de celui-ci.

5.5. Analyses statistique

Les résultats des tests effectués *in vivo* sont exprimés en Moyenne \pm SEM par un logiciel (Graph Pad. Prism. V 7.03). La différence entre le contrôle et les différentes doses est déterminée par le test one way ANOVA pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).

Troisième partie :
Résultats et discussion

Le processus général de caractérisation de nouvelles molécules bioactives à partir de matrices complexes, telles que les plantes, fait intervenir différentes étapes, dont les trois principales sont l'extraction, le fractionnement et l'identification des composés d'intérêt, toutes guidées par des analyses phytochimiques et des tests biologiques (Hostettmann et Wolfender, 2004).

1. Criblage phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des feuilles de la plante sélectionnée pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des feuilles de la plante *Inula viscosa*.

Recherche de		Flavonoïdes	Saponosides	Tanins	Alcaloïdes	Stérols et terpènes	Glycosides	Coumarine
<i>Inula viscosa</i>	Feuilles	+++	+++	+++	-	+	+	+

+ Réaction fortement positive : +++
 + Réaction moyennement positive : ++
 Réaction faiblement positive : +
 Réaction négative : -

L'étude phytochimique sur la poudre des feuilles d'*Inula viscosa* a montré que cette plante contient: des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des stérols et terpènes et des glycosides, et absence des alcaloïdes. Ce qui confirme les travaux de (Atik-Bekkara *et al.*, 2008) qui a été révélé la présence des esquiterpenicacids, 1,3-dicaffeoylquinic acid, Saponosides, Tanins et Coumarines chez *Inula viscosa*. La richesse de cet extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle comme un agent anti-inflammatoire.

La nature des principes chimiques mis en évidence par le criblage phytochimique laisse prévoir des activités pharmacologiques intéressantes des plantes étudiées. Il s'agit essentiellement :

- ✓ Des flavonoïdes : souvent présentés comme anti-inflammatoires, anti-allergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux *in vitro*... (Bruneton, 2009).
- ✓ Des tanins : les applications des drogues à tanins sont assez restreintes et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; elles ont aussi un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. Par voie interne, ils exercent un effet anti diarrhéique certain. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique, antibactérien et antifongique clairement démontré de ces molécules est intéressant (diarrhée infectieuses, dermatites) (Bruneton, 2009).
- ✓ Des saponosides : sont habituellement hémolytiques. Cette propriété est attribuée à leur interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire. Il est également assez fréquent que ces molécules aient une très forte activité spermicide, logiquement corrélée avec l'activité hémolytique. *In vivo*, bon nombre de saponosides assurent la défense du végétal contre l'attaque microbienne ou fongique. Quasiment dépourvus d'activité antibactérienne, les saponosides sont parfois actifs, *in vitro*, sur des virus (Bruneton, 2009).

2. Rendement en extrait sec

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondant dans notre extrait (infusé, acétone 70% et méthanol 70%). Le rendement qui a été déterminé par rapport à 150 g de matériel végétal sec et broyé des feuilles d'*Inula viscosa* pour l'infusé et 100 g de pour l'extrait brut méthanol 70 % et acétone 70 % est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau. 9** :

Tableau. 9 : Les rendements en extraits obtenus à partir des feuilles de la plante

Extraits	Solvants utilisés	Rendements %
Extrait brut	Infusé	29.38
	Méthanol 70 %	13.23
	Acétone 70 %	16.72

Les résultats obtenus pour les extraits bruts des feuilles, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux (29.38 %) suivi par l'extrait acetonique (16.72 %) et par (13.23 %) pour l'extrait méthanolique (**Figure 18**).

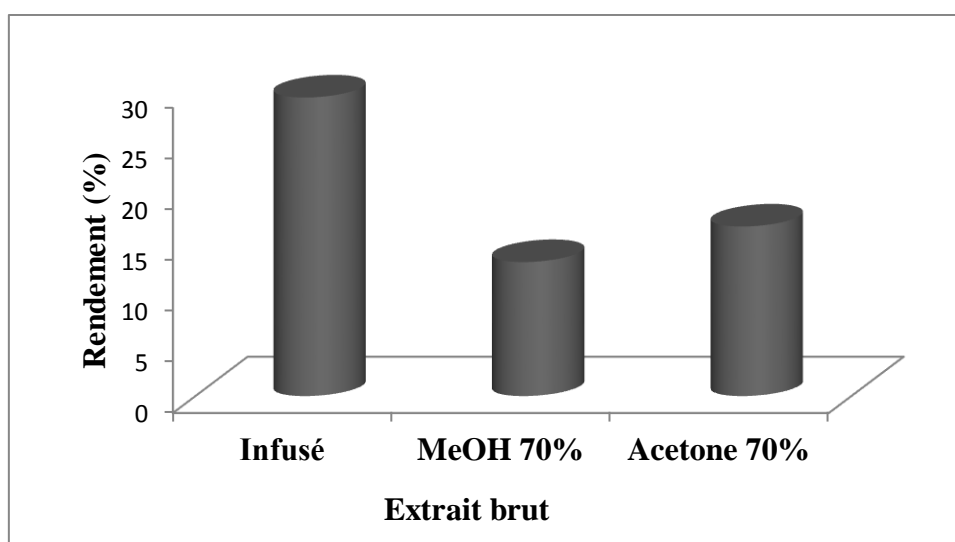


Figure 18: Rendements des extraits bruts obtenus à partir des feuilles de la plante.

3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques

3.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les différents extraits bruts, obtenus par extraction solide-liquide, ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour leur contenu en polyphénols. Les résultats sont exprimés en terme d'équivalents acide gallique à l'aide d'une courbe étalon (**Figure 19**).

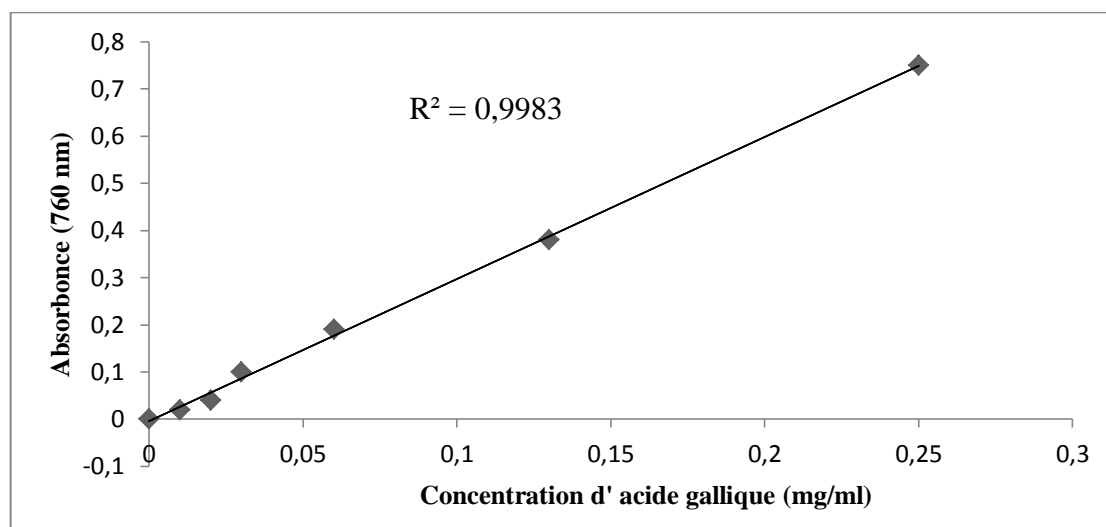


Figure 19 : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

En se basant sur les valeurs d'absorbance des diverses solutions d'extraits, ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et comparées à la solution étalon en équivalence d'acide gallique, les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux sont résumés dans le **tableau 10** et sont représentés sur la **figure 20**.

Tableau 10 : Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS), en flavonoïdes (mg EC/g MS), des différents extraits obtenus par ESL

Organe	Extraits bruts	Polyphénols Totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EC/g MS)
<i>Inula viscosa</i> (Feuilles)	Infusé	149.2 ± 1.66	28.99 ± 1.82
	MeOH 70%	123 ± 1.57	33.43 ± 2.25
	Acétone 70%	98.43 ± 2.32	18.78 ± 2.07

Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique.

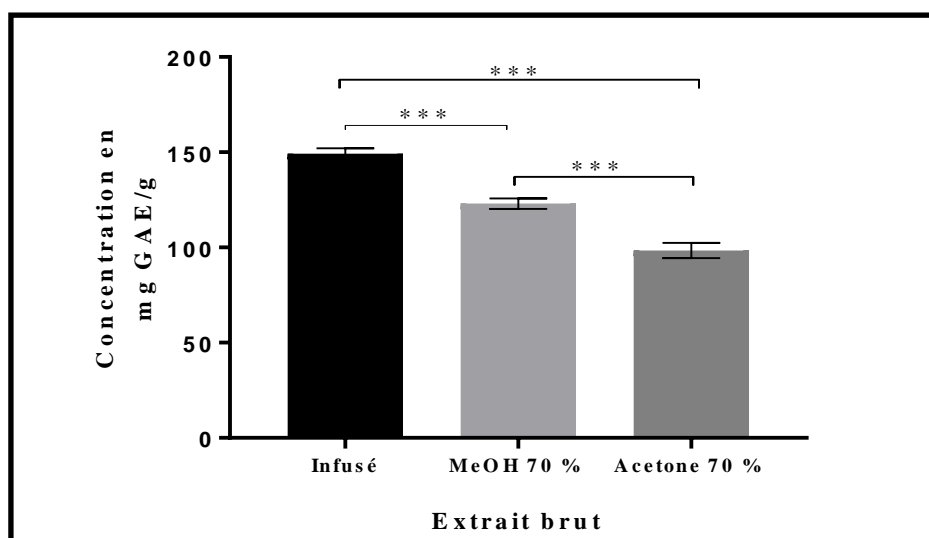


Figure 20 : Teneurs en polyphénols totaux pour les différents extraits bruts de la plante étudiée. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique. $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3)

D'après la **figure 20** une différence hautement significatif ($P < 0.001$) a été enregistré de la teneur des polyphénols totaux entre les trois extraits brut étudiées.

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les différents extraits étudiés *d'I. viscosa*. L'extrait aqueux possède la teneur la plus élevée, avec une valeur de 149.2 ± 1.66 mg EAG/g de matière végétale sèche. Suivi par l'extrait méthanolique avec une teneur de 123 ± 1.57 mg GAE/g, puis extrait acétonique avec une teneur de 98.43 ± 2.32 mg GAE/g.

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (**Djeridane et al., 2006**). Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (**Tawaha et al., 2007**).

Ce test, basé sur une réaction d'oxydo-réduction, peut être également considéré comme une méthode permettant d'évaluer l'activité antioxydante (**Prior et al., 2005**). De ce fait, les extraits les plus riches en composés phénoliques peuvent être également considérés comme les plus antioxydants.

3.1.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium. Les résultats sont exprimés en termes d'équivalents catéchine à l'aide d'une courbe étalon (**Figure 21**).

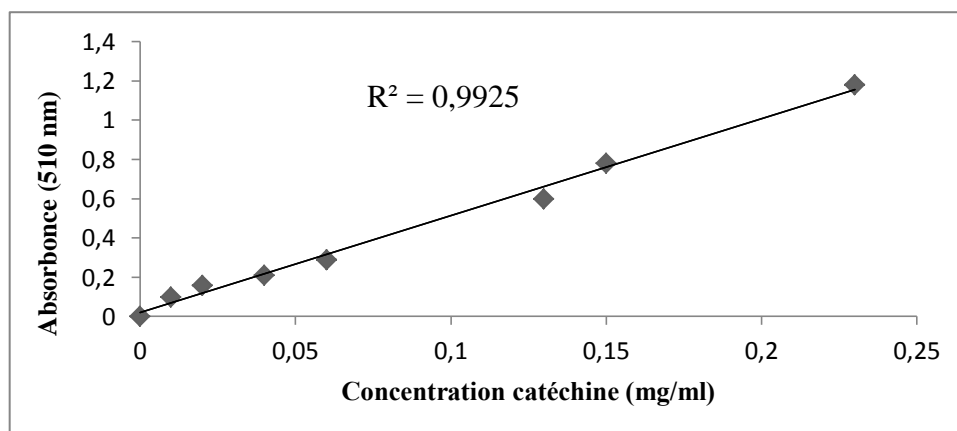


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Une variabilité des teneurs en flavonoïdes totaux elle est existée dans notre étude (**Figure 22**). Une différence significatif ($P < 0.05$) de la teneur des flavonoïdes totaux entre infusé et le méthanol 70 %. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait methanolique des feuilles, elle est de l'ordre de 33.43 ± 2.25 mg EC/g suivi par l'extrait aqueux avec une teneur de 28.99 ± 1.82 mg EC/g, puis extrait acétonique avec une teneur de 18.78 ± 2.07 mg EC/g.

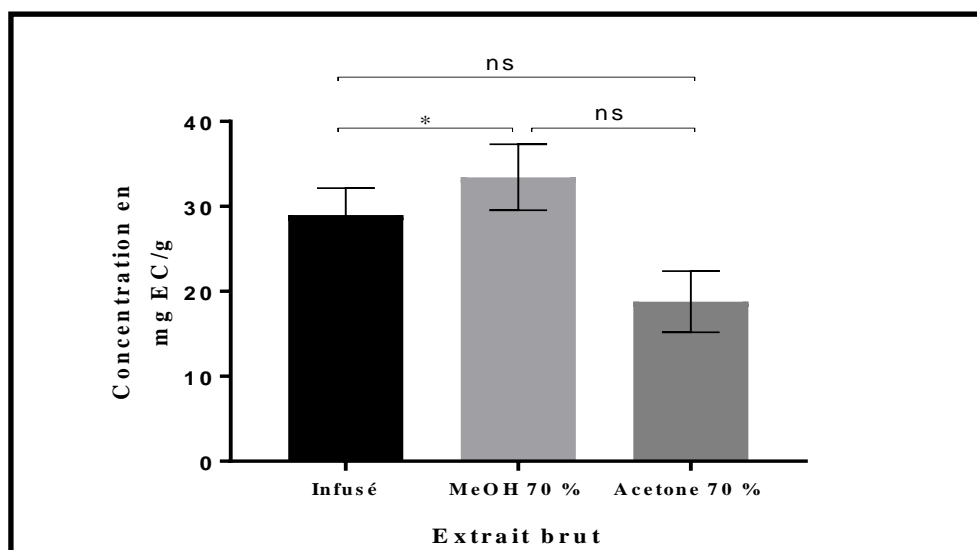


Figure 22 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les trois extraits bruts de la plante étudiée. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique. $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3)

4. Activité Anti-inflammatoire

4.1. Activité Anti-inflammatoire *in vitro*

4.1.1. Inhibition de la dénaturation du BSA

Le **tableau 11** montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts d'*Inula viscosa* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA).

Tableau 11: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts des feuilles d'*Inula viscosa*.

Organe végétale	Extrais bruts	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	Pourcentage d'inhibition (%)
	Infusé	250	25.79 ± 2.22 ^{ns}
		500	34.11 ± 1.46 ^{ns}
		800	43.37 ± 1.34 *
		1000	60.75 ± 2.28 **
		1500	69.26 ± 2.45 **

Feuilles	MeOH 70 %	2000	79.97 ± 3.71 ^{ns}
		250	24.74 ± 2.32 ^{ns}
		500	31.71 ± 2.01 ^{ns}
		800	42.29 ± 3.49 *
		1000	53.43 ± 3.05 *
		1500	61.35 ± 0.79 **
		2000	71.23 ± 1.37 **
	Acétone 70 %	250	17.52 ± 1.31 ^{ns}
		500	25.39 ± 1.87 ^{ns}
		800	32.65 ± 2.2 ^{ns}
		1000	41.92 ± 1.81 *
		1500	50.18 ± 1.72 *
		2000	61.38 ± 1.20 *
Diclofénac sodium	250	20.32 ± 0.7 ^{ns}	
	500	26.15 ± 1.58 ^{ns}	
	800	34.5 ± 1.14 ^{ns}	
	1000	45.57 ± 1.65 *	
	1500	75.4 ± 2.21 **	
	2000	88.37 ± 1.60 ***	

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns ; non significatif : p<0,05*significatif, p<0,01** très significatif, p<0,001*** hautement significatif, (n=3).

D'après les résultats, un rapprochement de taux d'inhibition de la dénaturation du BSA entre l'anti inflammatoire standard (Diclofénac sodium) et les différents extraits étudiée des feuilles de la plante avec les différentes doses testé (**Figure 23**).

Une inhibition très significative (p<0,01) a été enregistré avec tout l'extraits testés a la concentration de 2000 µg/ml qui estimé par 79.97 % avec infusé, suivi par le méthanol 70 % avec un taux de 71.23 % puis l'extrait acétonique par 61.38 %. Cependant la diclofénac sodium inhibe hautement significativement (p<0,001) la dénaturation du BSA par un pourcentage de 88, 37 % à la même concentration (2000 µg/ml) (**Tableau 11**).

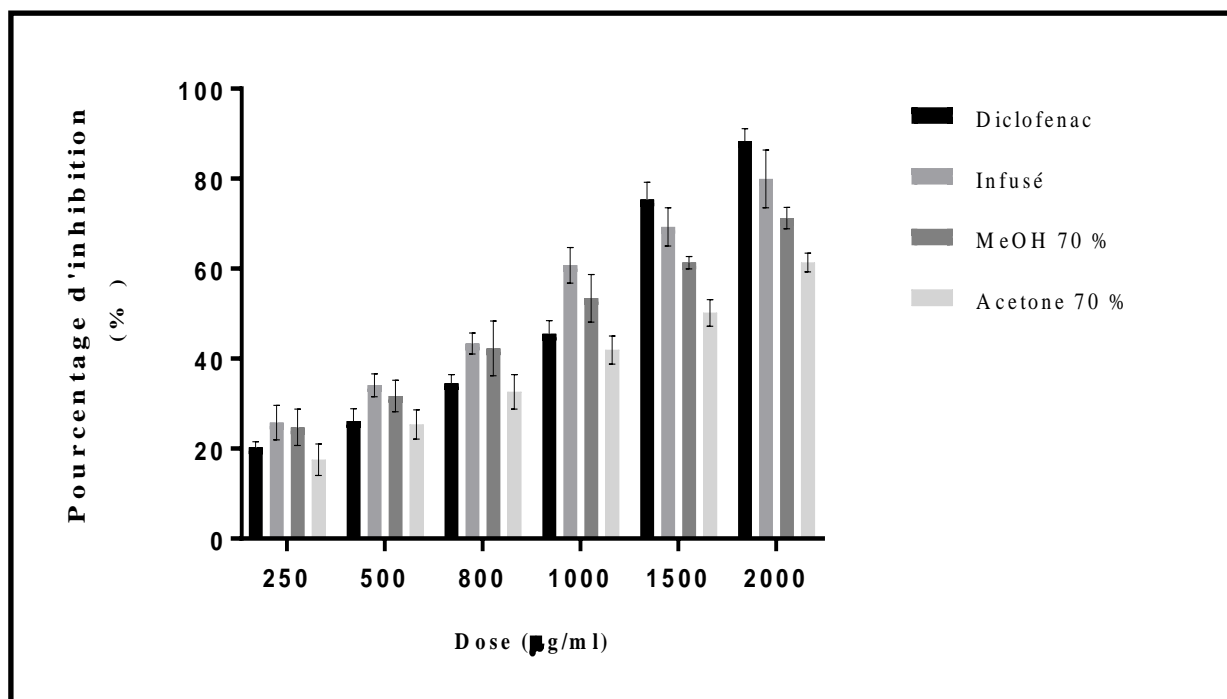


Figure 23: l'effet d'*Inula viscosa* (Feuilles) : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70 % : extrait hydro-méthanolique, (n=3).

4.2. Activité Anti-inflammatoire *in vivo*

4.2.1. Criblage de l'activité antioedémateuse

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des feuilles de la plante *Inula viscosa*, Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine à 1%. Il est testé sur ce modèle les extraits aqueux, à la dose de 250 et 500 mg/kg en administration par intra-péritonéale. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament la diclofénac qui est un anti-inflammatoires non stéroïdiens et à ceux du contrôle physiologique. Après l'injection de l'eau physiologique, la carragénine entraîne une augmentation significative du volume de la patte de souris de $3.04 \pm 0,07$ de $3.18 \pm 0,04$ et de $3.52 \pm 0,08$ et de $3.30 \pm 0,06$ mm respectivement à 1h, 2h, 3h et 4 heures.

4.2.1.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

➤ Groupes contrôle

L'administration de la carragénine entraîne une augmentation très significative ($p < 0,01$) du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris de groupe

contrôle (35.11 %) à la comparaison avec le groupe témoin sain à partir de la première heure de l'expérimentation.

De plus, une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) du volume de la patte des souris est observée à la troisième heure comparée à toutes les heures de l'expérimentation (41,33 ; 56.44 et 46.66 %) à la deuxième, troisième et quatrième heure, respectivement.

➤ **Groupes standards**

Pour le groupe standard, les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire du diclofénac à (50 mg/kg) provoque une diminution significative ($p < 0,05$) du volume de la patte des souris pendant la première et la deuxième heure qui est estimé par 17.85 et de 26.33 % respectivement. Cependant, une réduction hautement significative a été enregistrée à partir de la troisième heure et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation à la comparaison avec le groupe contrôle (**Figure 24**). Il est estimé par 17.85 ; 26.33 ; 20.08 et 9.37 % à la première, deuxième, troisième et quatrième heure, respectivement.

➤ **Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* (250 et 500 mg /kg de p.c)**

Dès la deuxième heure du traitement par l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* à la dose 250 et 500 mg/kg de p.c) une diminution très significative ($p < 0,01$) du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées par les deux doses testées à la comparaison avec le groupe contrôle (**Figure 24**), qui est estimé par 35.55 ; 27.11 ; 21.77 et 15.54 % pour la dose 250 mg/kg et de 32.73 ; 27.8 ; 14.34 et 4.93% pour la dose 500 mg/kg à la première, deuxième, troisième et quatrième heure, respectivement (**Figure 24**).

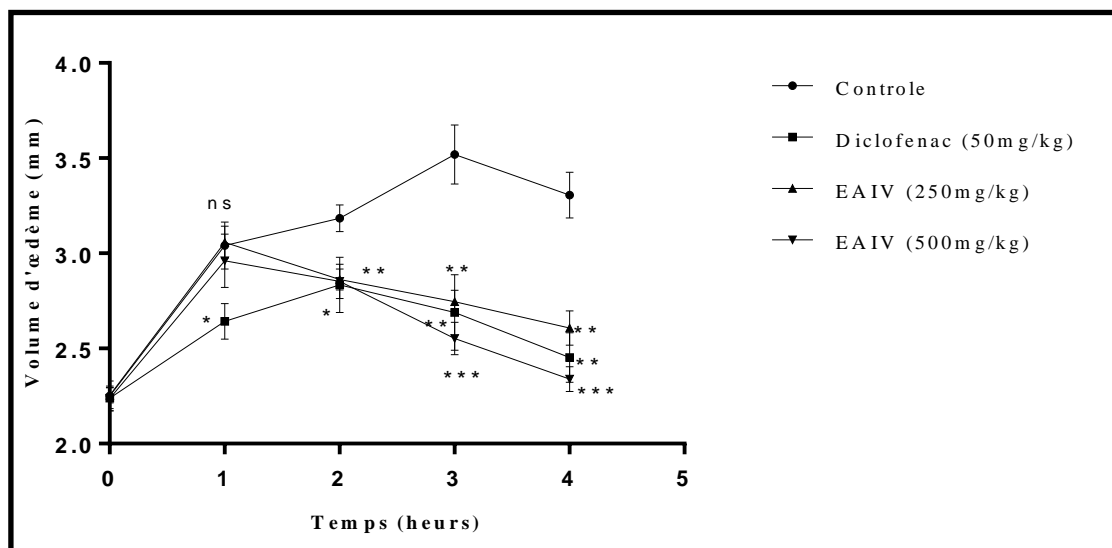


Figure 24 : Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra-péritonéale, après l'injection de la carraginine (0,1 ml; 1%), Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. EAIV ; Extrait aqueux d'*Inula viscosa*. ns ; non significatif : $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=6)

4.2.1.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH):

➤ Groupes standards

Pour le groupe standard, l'administration du diclofénac à une dose de 50 mg/kg de p.c. présente une inhibition significative ($p < 0,05$) de l'œdème de la patte de souris à la première heure à la deuxième heure et une inhibition hautement significative ($p < 0,001$) à partir de troisième heure jusqu'à la fin (quatrième heure), cette activité atteint 79.91 % à la quatrième heure de l'expérimentation (**Figure 25**).

➤ Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* (250 mg /kg)

L'administration intra-péritonéale de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* à la dose de 250 mg/kg présente une activité inhibitrice de l'œdème de la patte des souris, cette activité augmente progressivement jusqu'à la quatrième heure de l'expérimentation, une inhibition très significative ($p < 0,01$) à la troisième et quatrième heure. Sa valeur est 66 fois plus élevée que celle notée à la première heure (**Figure 25**). De plus, aucune différence significative ($p > 0,05$) est notée entre les valeurs du pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume des pattes pendant la première et la deuxième heure respectivement.

➤ Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* (500 mg /kg)

A la dose de 500 mg/kg l'effet inhibiteur de l'extrait d'*Inula viscosa* administré par intra-péritonéale se manifeste dès la première heure qui suit l'injection de la carragénine

avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 6,77 % cette activité augmente progressivement jusqu'à la quatrième heure (89,43%) (**Figure 25**). L'analyse statistique de ce résultat a révélé une différence hautement significative ($p < 0,001$) à la quatrième heure comparée respectivement à la première et deuxième heure de l'expérimentation. De plus, cette inhibition est significative ($p < 0,05$) à la troisième heure de l'expérimentation.

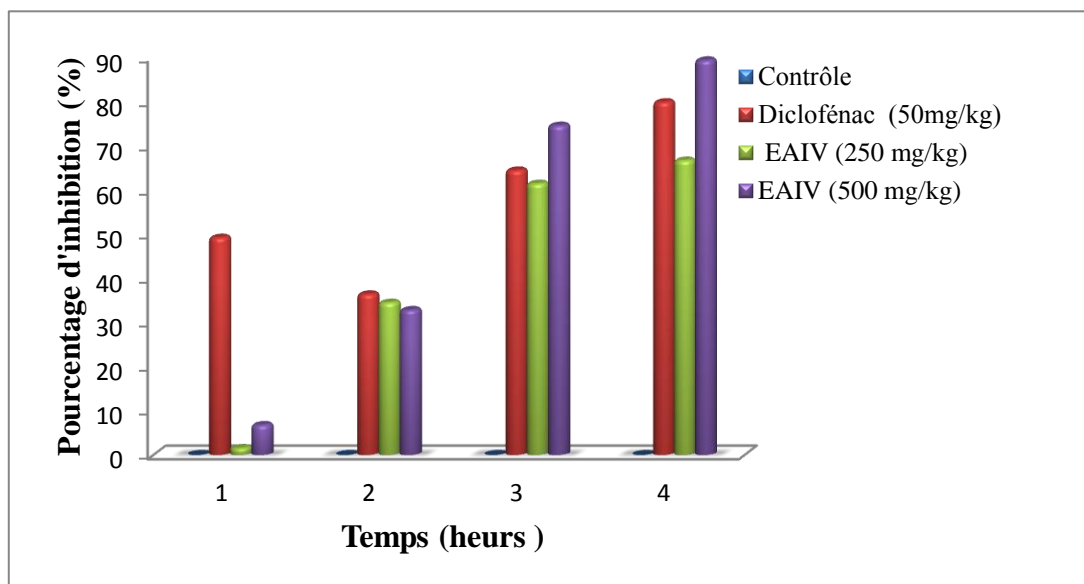


Figure 25 : Pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes droites des souris, induit après les traitements lors du test de l'activité antioedémateuse de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. EAIV ; Extrait aqueux d'*Inula viscosa*. (n=6)

4.2.2. L'effet de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* sur le taux des cellules immunitaire (leucocyte, lymphocyte et granulocyte)

Selon les résultats de la FNS une augmentation très significative ($p < 0.01$) de nombre des leucocytes chez le groupe contrôle ($12,5 \pm 0.51 \times 10^9$ cell/L) par rapport aux témoins sains ($4.86 \pm 0.23 \times 10^9$ cell/L) (**Tableau 12**). Cette augmentation est due à une forte inflammation dans le corps.

Après le tableau une diminution significative ($p < 0.05$) de nombre des leucocytes chez les souris traité par la diclofénac (50mg/kg) est de $7.2 \pm 0.05 \times 10^9$ cell /L. Tandis que la dose 250 mg/kg diminuent très significativement ($p < 0.01$) le taux des leucocytes ($8.1 \pm 0.62 \times 10^9$ cell/L). Une diminution hautement significative ($p < 0.001$) a été observé chez les

souris traité par la dose 500 mg/kg de nombre des leucocytes ($5.8 \pm 0.23 \times 10^9$ cell /L) a la comparaison avec le groupe contrôle.

Tableau 12: Le taux des cellules immunitaires chez les différents groupes testés.

Groupe testé	Nombre des cellules immunitaire		
	Leucocytes totaux (10^9 cell /L)	Lymphocytes (10^9 cell /L)	Granulocytes (10^9 cell /L)
Témoin sain	4.86 ± 0.23	2.65 ± 0.36	1.46 ± 0.14
Contrôle	$12,5 \pm 0.51$	3.9 ± 0.26	4.83 ± 0.37
Diclofénac (50mg/kg)	$7.2 \pm 0.05^*$	5.5 ± 0.24^{ns}	$1.73 \pm 0.27^*$
EAIV (250 mg/kg)	$8.1 \pm 0.62^{**}$	5.03 ± 0.32^{ns}	2.13 ± 0.13^{ns}
EAIV (500 mg/kg)	$5.8 \pm 0.23^{***}$	4.43 ± 0.18^{ns}	$0.93 \pm 0.08^{**}$

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=6)

Concernent le taux des lymphocytes, un rapprochement a été enregistré dans les différents groupe testé qui estimé par 3.9 ± 0.26 ; 5.5 ± 0.24 ; 5.03 ± 0.32 et $4.43 \pm 0.18 \times 10^9$ cell/ L avec le groupe contrôle, diclofénac (50mg/kg), EAIV (250 mg/kg) et EAIV (500 mg/kg) respectivement (**Tableau 12**).

Une augmentation très significative ($p < 0,01$) des granulocytes a été remarqué dans le groupe contrôle ($4.83 \pm 0.37 \times 10^9$ cell/L) a la comparaison avec le groupe témoin. Une diminution significative ($p < 0,05$) a été observé avec le groupe traité par la diclofénac (50mg/kg) ($1.73 \pm 0.27 \times 10^9$ cell/L) a la comparaison avec le groupe contrôle (. Par contre une diminution très significative ($p < 0,01$) est enregistrée avec le groupe traité par l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* a la dose 500 mg/kg (**Tableau 12**). Il est de l'ordre de $0.93 \pm 0.08 \times 10^9$ cell/L.

Discussion

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Barros et al., 2008 ; Bagad et al., 2011**) . La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (**Mizushima et Kobayashi , 1968**) .

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phenylbutazone et l'indomethazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011**). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique (pH: 6.2 à 6.5).D'après les résultats, on constate que les extraits bruts de *Inula viscosa* sont capables de contrôlé la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins dans les l'extrait trouvés lors des criblages phytochimiques. De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines. on peut conclure que les extraits bruts utilisé dans cette étude possède un effet anti-inflammatoire marqué *in vitro* contre la dénaturation des protéines, et que D'autres études définitives sont nécessaires pour déterminer les mécanismes et les électeurs derrière ses actions anti-inflammatoires.

L'inflammation aiguë induite chez la souris par l'injection de la carragénine est un modèle standard et pratique, largement utilisé pour l'évaluation des propriétés anti-inflammatoires de différents agents (**Cuzzocrea et al., 1998 ; Jilroy et al., 1999**).

Le mécanisme cellulaire et moléculaire par lequel la carragénine induit le processus inflammatoire est connu. Elle stimule la libération de l'histamine et de la sérotonine par les mastocytes, débutant par cela une cascade d'évènements qui produisent d'autres médiateurs qui contribuent à l'établissement de la réaction inflammatoire aiguë (**Cuzzocrea et al., 1998**).

En effet, la carragénine induit au cours de la phase précoce (1-2h) de la réaction inflammatoire, la production de facteurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, les leucotriènes, le PAF et les prostanoïdes. Ces facteurs provoquent des modifications vasculaires qui conduisent à l'exsudation plasmatique. Durant la phase

tardive de ce processus inflammatoire (4-12h), ces facteurs chimioattractants induisent le recrutement des neutrophiles par chimiotactisme envers le site inflammatoire, où ils libèrent leur arsenal cytotoxique et d'autres médiateurs inflammatoires (**Dawson et al., 1991 ; Cuzzocrea et al., 2000a, b**).

Deux populations de cellules inflammatoires interviennent au cours de l'inflammation induite par la carragénine. Les neutrophiles prédominent durant les 12 premières heures. Ils sont ensuite remplacés par les monocytes qui se différencient en macrophages tissulaires. Ces mononucléaires dominent alors la réaction inflammatoire jusqu'à sa résolution après 48 heures (**Jilroy et al., 1999**). L'infiltration des PMNs vers le site de l'inflammation des souris durant les 4 premières heures qui suivent l'injection de la carragénine a été exploitée dans la présente étude pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*. Nous avons observé que l'administration intra-péritonéale de l'extrait aux souris, atténue significativement le nombre de PMNs ayant migré vers le site de l'inflammation de ces souris ont été significativement réduits.

En plus de leurs inhibitions de la production des médiateurs pro-inflammatoires, les métabolites secondaires des feuilles de *Inula viscosa* inhibent le recrutement des neutrophiles vers le site de l'inflammation par l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésions sur la paroi des cellules endothéliales des veines (**Anné et al., 1994**).

Les anthocyanines bloquent la migration des leucocytes au site inflammatoire par l'inhibition des molécules d'adhésion ICAM-1 et VCAM-1, et ceci par la régulation du TNF- α . Tsuda et ses collaborateurs (2002) rapportent que l'administration du cyanidine 3-O- β -glucoside inhibe l'inflammation induite par le zymosan. Aussi, le traitement par la cyanidine 3-O- β -glucoside réduit l'augmentation des concentrations de NO, TNF- α , IL-1 β , et CINC-1 (cytokine-induce neutrophil chemoattractant 1). De plus, la cyanidine 3-O- β -glucoside normalise les niveaux de plusieurs protéines de la phase aiguë, incluant α 2-macroglobuline, albumine, et transferrine (**Calixto et al., 2004**).

Les flavonoïdes inhibent la migration des leucocytes en bloquant leur adhésion à la paroi vasculaire (**Manthey, 2000 ; Middleton et al., 2000**). Cet effet serait dû à l'inhibition de la synthèse de l'IL-1 et le TNF- α , principaux inducteurs de l'expression des

molécules adhésives sur la paroi vasculaire (**Cho et al., 2000**). Il a été rapporté en effet, que la quercétine bloque l'adhésion des leucocytes à la paroi endothéliale des veines ombilicales par l'inhibition de l'expression des ICAM-1 (**Anné et al., 1994**).

L'acide gallique à son tour inhibe la migration des leucocytes en inhibant les molécules d'adhésion VCAM-1, ICAM-1, et E-selectin dans les cellules endothéliales vasculaires, cette inhibition est dû à l'inhibition l'IL-1, TNF- α , et le NF- κ B (**Takatoshi et al., 1999**).

Prenant ces données ensemble, les extraits aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* exerceraient leur effet anti-inflammatoire par la réduction de la production des médiateurs inflammatoires impliqués dans le déroulement des étapes de la réaction inflammatoire aiguë induite par la carragénine, ainsi que par l'inhibition du recrutement des leucocytes vers le site d'inflammation en exerçant des effets antichimioattractants sur ces derniers.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pendant plusieurs années. Ils sont toujours des sources essentielles de médicaments, et ce sont la source de la majorité des anti-inflammatoires naturels et elles restent encore sous-exploitées dans le domaine médical et l'industrie pharmaceutique, sachant que les anti-inflammatoires sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'anti-inflammatoire d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour. Cette efficacité est due à des métabolites secondaires ou ses principes actifs comme: les composés phénoliques, les alcaloïdes, et les huiles essentielles... Notre pays est riche de ce type de plantes qui sont utilisées souvent en médecine traditionnelle.

Ce travail a porté sur la détermination de l'activité anti-inflammatoire de la plante médicinale *Inula viscosa*. Dans un premier temps, Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, des saponosides, coumarines et des glycosides dans les deux parties de la plante ainsi que l'absence totale des alcaloïdes.

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits bruts (Infusé, acétone 70% et méthanol 70%), dont le rendement le plus remarquable est celui de l'extrait aqueux (29,38%).

La teneur des phénols totaux et des flavonoïdes est variable entre les différents extraits bruts d'*Inula viscosa* L. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans l'extrait infusé avec une teneur de 149.2 ± 1.66 mg GAE/g MS suivi par l'extrait de méthanol 70 %, elle est de l'ordre de 123 ± 1.57 mg GAE/g MS puis l'extrait acétone 70 % par 98.43 ± 2.32 GAE/g MS. Concernant les flavonoïdes, nous avons enregistré des teneurs variables pour les extraits bruts étudiés, elles représentent une teneur de 28.99 ± 1.82 mg EC/g; 33.43 ± 2.25 et 18.78 ± 2.07 mg EC/g pour l'infusé, le méthanol 70 % et acétone 70 % respectivement.

L'effet anti-inflammatoire des extraits bruts d'*Inula viscosa* a été évalué dans ce travail. Les résultats obtenus montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire.

Cependant, cette activité est différente selon le degré de solubilité des composés secondaires d'*Inula viscosa*.

In vitro l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts étudiés a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. D'après les résultats : l'extrait aqueux d'*I. viscosa* est présent que un grand pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA avec un taux de 79.97 %.

In vivo, l'extrait aqueux des feuilles montrent une activité anti-inflammatoire importante. En effet, lors du test d'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par carragénine chez la souris permet de conclure que l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* appliqués localement possèdent un effet anti-inflammatoire significativement supérieur à celui de la diclofénac, aux doses utilisées.

Ces résultats sont confirmés lors des tests de perméabilité chez les souris, ce dernier test suggère aussi que notre extrait inhibe le recrutement des cellules immunitaires dans le site inflammatoire.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits d'*Inula viscosa* montre que cette plante possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs dans les extraits d'*Inula viscosa* et l'évaluation leurs l'effet sur les de signalisations impliqués dans le processus inflammatoire.

Références bibliographique

- Adrie, A., Pinsky, M.R.** (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med*; **26**: p 364 -375.
- Aggarwal, B.B., Shishodia, S.** (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol*; **71**: p 1397 -1421.
- Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T.** (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*; **28**: p 65-180.
- Anné, S., Agarwal, M., Nair, M.P., Schwartz, S.A., Ballow, M., Kandaswami, C., Middleton, E.Jr.** (1994). Inhibition of endotoxin-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte adhesion to endothelial cells by plants flavonoids quercetin. *J Allergy Clin Immunol*; **93**: p 276.
- Atik-Bekkara, F., Benhammou, N., Tatjana, K., Panovska, T.K.** (2008). Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *inula viscosa* from the tlemcen region of Algeria, *Food science*: p 30.
- Bagad, Y. M., Umalkar, A. R., Tatia, A. U., Surana, S, J.** (2011). Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *brideliaairyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*; **4**(5): p 1326-1332
- Barnes-Peter, J.** (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*; **94**: p 557-572
- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.** (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem*; **111**: p 61–66.
- Barton, G.M.**(2002). Points of control in inflammation. *Nature*; **420**: p 846-852
- Benayache, S., Benayache, F., Dendoughi, H., Jay, M.,** (1991). Les flavonoides *d'Inula viscosa* L. plantes médicinale et phytothérapie; **25**(4): p170-176. In Ramli, B. (2013). Extraction des flavonoides de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de magister. *Université d'Oran*: p 86.
- Benguerba, A.** (2008). Etude Phytochimique et de la Phase Butanolique de l'Espece *Inula Crithmoides l.* Mémoire de magistère. *Université Mentouri Constantine* : P 90.

Références bibliographiques

- Benseguini-tounsi, L.** (2001). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongiques de : *Inula viscosa*, *lawsonia inermis*, *asphodelus microcarpus*, *aloe vera* et *juniperus oxycedrus*. Mémoire de magistère. *Université de Constantine* : p 110.
- Benzahi, K.** (2001). Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon-L* « Chiendent ». Mémoire de magister. *Université d'Ouargla- Algérie*.
- Blain ;Jouzeau ; Netter ; Jeandel.** (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inh.
- Blaschek, W., Hainsel, R., Keller, K., Reichling, J., Rimpler, H., Schneider, G.H.** (2008). *Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Drogen A-K. New York: Springer Publishing; 1998; 2*: p 526. In Benguerba, A. Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides L*. Mémoire de magister. *Université Mentouri Constantine* : p 110
- Botting, R.M., Botting, J.H.** (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clin Drug Investing; 19*: p 1-7. In Mansour, S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales: *Artemisia absinthium L*, *Artemisia herba Alba Asso* et *Hypericum scarboïdes*-Etude in vivo-. These de doctorat. *Université d'Oran Mohamed Boudiaf*: p 121.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc La Voisier- Paris*: p 278-279. In Zeghouane, H. (2014). Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est-Algerien. Mémoire de master academique. *Université Kasdi Merbah- Ouargla* : p 82.
- Bruneton, J.** (1999). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition, *Tec et Doc Lavoisier- Paris*: p 1120. In Zeghouane, H. (2014). Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est-Algerien. Mémoire de master academique. *Université Kasdi Merbah- Ouargla* : p 82.
- Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition médicales internationales. *Tec et Doc Lavoisier- Paris*: p 1288.
- Calixto, J.B., Campos, M.M., Otuki, M.F., Santos, A.R.** (2004). Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med; 70*(2): p 93-103.

Références bibliographiques

- Catelan, S.C., Belentani, R.M., Marques, L.C., Silva, E.R., Silva, M.A., Caparroz-Assef, S.M., Cuman, R.K.N., Bersani-Amado, C.A.** (2006). The role of adrenal corticosteroids in the anti-inflammatory effect of the whole extract of *Harpagophytum procumbens* in rats *Phytomedicine*; **13**: p 446-451.
- Catier, O., Roux, D.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. *Wolthers Kluner* : P 85- 112.
- Chaouch, N.** (2001). Étude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. *Université d'Ouargla- Algérie*
- Cho, K.j., Yun, C.H., Yoon, D.Y., Cho, Y.S., Rimbach, G., Packer, L., Chung, A.S.** (2000). Effect of bioflavonoids extracts from the bark of *Pinus maritime* on proinflammatory cytokine interleukin-1 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7. *Toxicol Appl Pharmacol*; **168**: 64-71.
- Charles, N.S., Peter, A.W., Derek, W.G.** (2010). Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press* : p 2-3.
- Cowan, M.M.** (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin.Microbiol Re* ; **12** (4): p 564-582.
- Cuzzocrea, S., Mazzon, E., Calabro, G., Dugo, L., De Sabro, A., Van De Loo, F., Caputi, A.p.** (2000a). Inducible nitric oxide synthase-knockout mice exhibit resistance to pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *Am Respir Crit Care Med*; **162**: p 1859-1866.
- Cuzzocrea, S., Santagati, S., Sautebin, L., Mazzon, E., Calabro, G., Serraino, I., Caputi, A.p., Maggi, A.** (2000b). 17 β -Estradiol anti-inflammatory activity in carrageenan-induced pleurisy. *Endocrinol*; **141**(4): p 1455-1463.
- Cuzzocrea, S., Zingarelli, B., Hake, P., Salzman, A., Szabo, C.** (1998). Anti-inflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radic Biol Med*; **24**(3): p 450-459.
- Dawson, J., Sedgwick, A.d., Edwards, J.c.w., Lees, P.** (1991). A comparative study of the cellular, exudative and histological responses to carrageenan, dextran and zymosan in the mouse. *Int J Tissue React*; **13**(4): p 171-185.

Références bibliographiques

- Djedioui, A.** (2010). Évaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa*, une plante de l'est algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire du magistère. *Université badji mokhtar – Annaba* : p 111.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.** (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem*; **97**: p 654–660.
- Dombrowicz, D., Capron, D.** (2001). "Eosinophils, allergy and parasites." *Curr Opin Immunol*; **13**(6): p 716-20.
- Elqaj, M., Ahami, A., Belghyti, D.** (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques"-Maroc*: p 22.
- Eming, S.A., Krieg, T., Davidson, J.M.** (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*; **127**: p 514–525.
- Farnsworth, N.R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z.** (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé* ; **64**(2): p 159-164.
- Gaussen, H., Leory H.F.** (1982). Précis de Botanique (végétaux supérieurs). 2^{ème} Ed : p 426, In Remli, B. (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire du magistère, *Université Constantine I* : p 86.
- Ghosh, S., Saha, K., Dasgupta, S.C., Gomes, A.** (2015). In vitro and In vivo Anti-Arthritic and Anti-Inflammatory Activity of Bungarus Fasciatus Venom. *J Toxins*; **2**(1): p 5
- Goetz, P.** (2011). Phytothérapie de l'inflammation (partie II). *Phytothérapie* ; **9**: p 310-317.
- Guignard, J.L.** (1994). Abrégé Botanique. 9^{ème} Ed: p 203-204.
- Henzen, C.** (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse* ; **19** : p 442-446.
- Haoui, I.E., Derriche, R., Madani, L., Oukali, Z.** (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arab. J. Chem*; **8**(4): p 587–590. **Harbone, J.B.** (1993). Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed. *Academic Press -London*: p 323.

- Harborne, J.B., Swain, T.** (1969). Perspectives in Phytochemistry. *Academic Press- London, New York*
- Hogan, S.P., Rosenberg, H.F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P.S., Lacy, P., Kay, A. B., Rothenberg, M.E.** (2008). Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy*; **38**: p 709–750.
- Hostettmann, K., and Wolfender, J.L.** (2004) Applications of liquid chromatography/UV/MS and liquid chromatography/NMR for the on-line identification of plant metabolites. In Bioactive compounds in natural sources. *Taylor and Francis, Londres* : p 31-68
- Ignat I., Volf I., Popa I.V.** (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry* ; **126**: p 1821-1835.
- Igor Passi L.B.** (2002). Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie. *Bamako* : p 133
- Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M.** (2001). An introduction to immunobiology and innate immunity, 5th edition. In *Immunology- New York*: p 347-380.
- Januário, A.H., Santos, S.L., Marcussi, S., Mazzi, M.V., Pietro, R., Sato, D.N., Ellena, J., Sampaio, S.V., França, S.C., Soares, A.M.** (2004). Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): antiproteolytic and anti-hemorrhagic properties. *Chemico-Biological Interactions* ; **150** : p 243-251.
- Jilroy, D., Colvillr-Nash, P.R., Willis, D., Chivers, J., Paul-Clark, M.J., Willoughby, D.A.** (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*; **5**(6): p 698-701.
- Kansole, M.M.R.** (2009). Etude ethnobotanique, phytocuinique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposstavahl* et *Orthosiphon Pallidus royle ex benth*. Mémoire d'EtudesApprofondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées-*BurkinaFaso*: p 34-42.

Références bibliographiques

- Kattouf, J., Belmoukhtar, M., Harnafi, H., Mekhfi, H., Ziyat, A., Azziz, M., Bnouham, M., Legsseyer, A.** (2009). Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. Springer-verlag additional links. *Journal phytothérapie*; **7**(6) : p 309-312.
- Khalil, F., Enam, A., Afifi, U., Al-hussaini, M.** (2007). Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*; **109**: p 104–112.
- Khan, A.L., Hussain, J., Hamayun, M., Gilani, S.A., Ahmad, S., Rehman, G., Kim, Y.H., Kang, S.M., Lee, I.G.** (2010). Secondary metabolites from *Inula britannica* L. and their biological activities. *Molécules*; **15**: p 1562-1577.
- Kheyar, H.** (2009). Contribution a l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa l*, *salvia officinalis l*, *laurus nobilis l*, Mémoire de Magistère. *Université Abderrahmane Mira- Bejaia* : p 99.
- Konishi.T, Shimada.Y, Nagao.T, Okabe.H, Konoshima.T.**(2002). Anti proliférative sesquiterpène lactones from the roots of *inula helenium*. *Biol Pharm Bull*; **25**: p 1370- 1372.
- Krispil, N.** (1982). Herbs pouch. *Cana publishing house*; **5**: p 1955. In Ramli, B. (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magister. *Université d'Oran* : p 86.
- Kumar, V., Abul, K. A., Nelson, F., Richard, M.** (2007). Robbins Basic Pathology, 8th Edition: p 20-60.
- Larkins, N., Wynn, S.** (2004). Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*; **34** : p 291-327.
- Lhuillier, A.** (2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *agauria polyphylla* Baker (*ericaceae*), *tambourissa trichophylla* Baker (*monimiaceae*) et *embelia concinna* Baker (*myrsinaceae*). Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : p 214
- Male, D., Roitt, Y., Brostoff, J., Roth, D.B.** (2007). Mécanisme de l'immunité innée. In: *Immunologie. Eds, Masson- France* : p 155.

Références bibliographiques

- Malecky M. (2006).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat de l'institut des sciences et des industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech) *France*.
- Mamoci, E., Cavoski, I., Simeone, V., Mondelli, D., Al-Bitar, L., Caboni, P. (2011).** Chemical Composition and *In vitro* activity of plant extracts from *Ferula communis* and *Dittrichia viscosa* against *Postharvest Fungi*. *Molecules*; **16**: p 2609-2625.
- Manthey, J.M. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*; **7**: p 28-34.
- Marie-Josèphe, D. J. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, *Université Bordeaux 2 - Victor Segalen*: p 33.
- Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* ; 454 : p 428-435
- Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: p 107-133.
- Merghoub, N. (2011).** Recherche de substances naturelles issues des plantes médicinales marocaines capables d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses du col de l'utérus et étude de leur mécanisme d'action. Thèse de doctorat. *Université Mohammed V AGDAL- Maroc* : p 179.
- Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) .Thèse de doctorat .*Université d'Orléans* : p 288.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., Heoradies, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*; **52**: p 673-751.
- Milane , H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. *L'Université Louis Pasteur*: p 268

Références bibliographiques

- Mizushima, Y., Kobayashi, M.** (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; **20**(1): p 169-173.
- Murase, T., Kume, N., Hase, T., Shibuya, Y., Nishizawa, Y., Tokimitsu, I., Kita, T.** (1999). Gallates inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF- κ B and expression of leukocyte adhesion molecules in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; **19**: p 1412-1420.
- Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., Krishna D. R.** (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology* ; **33** : 2-16
- Nathan, C.** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*; **420** : p 846-852.
- Nicolas, J.F., Florence, C., Jean, T.** (2001). Immunologie clinique et allergologie. Asprine et AINS :intolérance et allergie. *John libbey eurotext ;2001* : p 55-58
- Nourshargh, S., Fritz, K., et Elisabetta, D.** (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*; **80**: p 714-718.
- Okuda, T.** (2008). Encyclopedia of Natural Medicine. *Hirokawa, Tokyo, 1986*; **1**: p 64. In Benguerba, A. Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L. Mémoire de Magister. *Universite Mentouri Constantine* : p 110
- O'Neill, P.M., Barton, V.E., Ward, S.A.** (2010). The molecular mechanism of action of artemisinin: the debate continues. *Molécules*; **15** (3): p 1705–1721.
- Ossipov, M.H., Kovelowski, C.J., Porreca, F.** (1995). The increase in morphine antinoceptive potency produced by carrageenan-induced hindpaw inflammation is blocked by nalttrindole, a selective delta-opiod antagonist. *Neuroscience Letter*; **184**: p 173-176.
- Paris, R.R., Moyses H.** (1971)., Précis de Matière Médicale. *Ed. Masson et cie- Paris*; **3**: p 397.
- Peter, H., Raven R., Franklin, E., Susan, E.E.** (2003). Biologie végétale, *De Boeck Université* : p 968.

Références bibliographiques

- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K.** (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem* ; **53** : p 4290–4303.
- Qin, J.J., Jin, H.Z., Fu, J.J., Hu, X.J., Zhu, Y., Shen, Y.H.** (2008). Anthranilic acid derivatives from *Inula japonica*. *Chin Chem Lett*; **19**: p 556-558.
- Quezel, P., Santa, S.** (1962-1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed. CNRS- Paris France*; **1-2**.
- Rankin, J.A.** (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues*; 15: p 3-17.
- Remli, B.** (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa*, de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magistère. *Université d'Oran* : p 77.
- Ribereau-Gayon, J., Ribereau-Gayon, P., Peynaud, E., Sudraud, P.** (1972). Traité d'œnologie - Sciences et techniques du Vin, Analyse et contrôle des Vins. *Dunod- Paris* ; **1** : p 671
- Rousselet, M.C., Vignaud, J.M., Hofman, P., Chatelet, F.P.** (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *AFECAP* : p 1-57.
- Sandrine, L.** (2004). Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat. *Lyon*
- In Belloum, Z. (2007). Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, cas de l'espèce *Inula crithmoides* L. Mémoire de Magister. *Université Mentouri Constantine* : p 113.
- Sangeetha, M., Kousalya, K., Lavanya, R., Cherukuru, S., Chamundeeswari, D., Uma Maheswara, R.** (2011). *In-vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS*; **2** (1): p 822-827.
- Setty, A.R., Sigal, L.H.** (2005). Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*; **34**: p 773-784.
- Silbemagi, S., Lang, F.** (2000). Atlas de poche de physiopathologie 1^{er} Éd. *Flammarion Médecine-Sciences- France* : p 48.

Références bibliographiques

- Sofowora, A.** (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Eds, Karthala*: p 22.
- Steinhubl, S.R.** (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*; **21**: p 115-121.
- Stevanovic, T.** (2005). Chimie du bois. CHM-22170. Université Laval. *Québec*.
- Tahri, N., Basti, A., Zidane, L., Rochidi, A., Douira, A.** (2012). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de settat (maroc). *université ibn tofail kastamonu univ ,journal of forestry faculty* ; **12** (2) : p 192-208.
- Tardio, J., Pascual, H., Morales, R.** (2002). Alimentos silvestres de Madrid, *La Libreria, Madrid*.
- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T.** (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem* ; **104**: p 1372-1378
- Tsarong, T.J.** (1994). Tibetan Medicinal Plants. *Tibetan Medical Publications- India*.
- Valls, J., Millan, S., Marti, M.P., Borrás, E., Arola, L.** (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of chromatography A* ; **1216**: p 7143-7172.
- Villar, L., Palacin, J.M., Calvo, C., Gomez, D., Monserrat, G.** (1987). Plantas medicinales del Pirineo aragonesy demas tierras oscenses. *CSIC, Diputacion de Huesca-Huesca*.
- Wagner, D.D.** (2005). New links between inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; **25**: p 1321-4.
- Wagner, J.G., Roth, R.A.** (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev*; **52**: p 349-374.
- Weill, B., Batteux, F., Dhainaut, J.** (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. *Eds, De Boeck Université Paris* : p 12-23.
- W –Erdman, J., Balentine, J. D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly., Hollman ; J.P., L–Keen, C., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G.,Burrowes, J.** (2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI

Références bibliographiques

- North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, **137** (3 supp 1): p 718 s-737 s
- Wiert, C.** (2006). Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific. *Eds, Humana Press* (Totowa): p 1-20.
- Williams, C.M.M ., Galli, S.J.** (2000). The diverse potential effectors and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*; **105**: p 847-59.
- Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W.** (1962). Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rats as an assay of anti-inflammatory drug. *Proc Soc Exp Biol Med* ; **111**: p 544–547
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S.** (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant.Food Human.Nutrition*; 59: p 113-122.
- Zhang, H.B., Wen, J.K., Wang, Y.Y., Zheng, B., Han, M.** (2009). Flavonoids from *Inula britannica* L. inhibit injury-induced neointimal formation by suppressing oxidativestress generation. *J Ethnopharmacol* ; **126**(1): p 176-183
- (1) **Google, Carte géographique de la wilaya de jijel.** (*Image en ligne*) https://i.skyrock.net/8817/56018817/pics/2259266415_1.jpg (consulté le 11/4/2017)

Résumé

Ce mémoire comporte une étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* des extraits bruts des feuilles de l'*Inula viscosa*.

La première technique consiste à faire des tests qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétale. L'étude phytochimique de la poudre des feuilles d'*Inula viscosa* montré que cette plante contient: des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des stérols et terpènes et des glycosides, et absence des alcaloïdes.

La deuxième technique consiste à évaluer la teneur en polyphénols totaux par la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu et celle des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium. La détermination quantitative des polyphénols totaux révèle que l'extrait aqueux sont riches en polyphénols avec une teneur plus élevée de : 149.2 ± 1.66 mg GAE/g MS exprimée en équivalent acide gallique par g et une teneur plus élevée en flavonoïdes avec 33.43 ± 2.25 EC/g MS pour l'extraits méthanolique exprimée en équivalent acide catéchine.

La troisième technique consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. D'après les résultats : l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* inhibe très significativement ($p < 0.01$) la dénaturation du BSA avec un taux de 79.97 %.

La quatrième technique consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire *in vivo*. L'inflammation aiguë induite chez la souris par l'injection de la carragénine est un modèle standard et pratique. L'extrait aqueux des feuilles montrent une activité anti-inflammatoire importante. Il inhibe très significativement ($p < 0.01$) le développement de l'œdème de la patte induit par carragénine et diminue significativement ($p < 0.01$) le recrutement des cellules immunitaires dans le site inflammatoire.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits d'*Inula viscosa* montre que cette plante possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Mots clés : *Inula viscosa*, activité anti inflammatoire *in vivo*, carragénine, activité anti inflammatoire *in vitro*.

Abstract

This memory includes a phytochemical study and evaluation of the anti-inflammatory activity in vitro and in vivo of the crude extracts of the leaves of the *Inula viscosa*.

The first technique consists of tests that are used to determine the different chemical groups contained in a plant organ. The phytochemical study on the powder of the leaves of *Inula viscosa* showed that this plant contains: flavonoids, saponins, tannins, coumarins, sterols and terpenes and glycosides, and absence of alkaloids.

The second technique consists in evaluating the content of total polyphenols by the Folin Ciocalteu reagent method and that of the flavonoids by the aluminum trichloride method. Quantitative determination of the total polyphenols reveals that the aqueous extract is rich in polyphenols with a highest content of: 149.2 ± 1.66 mg GAE / g MS expressed in gallic acid equivalent by g and a higher content of flavonoids with 33.43 ± 2.25 EC / g MS for the methanolic extracts expressed in catechin acid equivalent.

The third technique consists in studying the anti-inflammatory activity in vitro according to the method of inhibiting the denaturation of proteins and according to the results: the aqueous extract of *Inula viscosa* inhibits very significantly ($p < 0.01$) the denaturation of the BSA with a rate of 79.97.

The fourth technique is to study the anti-inflammatory activity in vivo. The acute inflammation induced in mice by the injection of carrageenan is a standard and practical model. The aqueous extract of the leaves showed an important anti-inflammatory activity. It inhibits very significantly ($p < 0.01$) the development of the edema of the leg induced by carrageenan and decreases significantly ($p < 0.01$) the recruitment of immune cells in the inflammatory site.

The evaluation of the anti-inflammatory activity of the extracts of *Inula viscosa* shows that this plant possesses a pharmacological power, which supports its traditional use for the relief of various inflammatory affections.

Key words: *Inula viscosa*, activity anti-inflammatory in vivo, carrageenan, activity anti-inflammatory in vitro.

الملخص

تحتوي هذه المذكرة على دراسة فيتو كيميائية و تقييم للنشاط المضاد للالتهاب مختبريا و في الجسم الحي للمستخلصات الخام لاوراق *Inula viscosa* (المقرمان)

التقنية الاولى تتكون من اختبارات تضمن تحديد المجموعات الكيميائية المختلفة الموجودة في النبتة . الدراسة الفيتو كيميائية على مسحوق اوراق *Inula viscosa* اظهرت ان هذه النبتة تحتوي على الفلافونويدات و السابونوزيدات و التانا و الستيروولات و التربينات و الكومارينات و الغلوسيدات و تفتقر من القلويدات

التقنية الثانية تتمثل في تقييم نسبة البوليفينولات الكلية من خلال طريقة Folin-Ciocalteu اما الفلافونويدات فمن خلال طريقة ثلاثي كلوريد الالمينوم . التحديد الكمي للبوليفينولات الكلية يكشف ان المستخلص المائي غني بأعلى نسبة من البوليفينولات $149.2 \pm 1.66 \text{ mg GAE/g MS}$ وكذلك اعلى محتوى من الفلافونويدات بالنسبة للمستخلص الميثانولي $33.43 \pm 2.25 \text{ EC/g MS}$

التقنية الثالثة تتمثل في دراسة النشاط المضاد للالتهاب مختبريا حسب طريقة تثبيط تخريب البروتينات و من خلال النتائج نجد ان المستخلص المائي *Inula viscosa* يثبط بشكل معنوي جدا ($p < 0.01$) تخريب ال BSA بمعدل 79.97%

التقنية الرابعة هي دراسة للنشاط المضاد للالتهاب في الجسم الحي الالتهاب الحاد المحرض عند الفاران عن طريق حقن carragénine هو نموذج معياري وعملي. المستخلص المائي للأوراق يظهر نشاطا مضاد للالتهاب مهم فهو يثبط بشكل معنوي جدا ($p < 0.01$) تطور الوذمة الناجمة عن carragénine و يخفض بشكل ملحوظ تجنيد الخلايا المناعية في موقع الالتهاب.

تقييم النشاط المضاد للالتهاب لمستخلصات *Inula viscosa* يظهر ان هذه النبتة لديها قدرة دوائية و هذا الذي يدعم الاستخدام التقليدي لها للتخفيف من حالات الالتهاب المختلفة

الكلمات المفتاحية: *Inula viscosa* , carragénine , النشاط المضاد للالتهاب في الجسم الحي ,النشاط المضاد للالتهاب مختبريا