



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale. قسم : بيولوجيا الحيوان.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* L

Présenté et soutenu par : Benamira Imene

Le : 19 /09/2021

Benhafed Dounia

Benabderrahmane Khalil

Président du jury : ZAMA Djamila

Pr- UFM Constantine1.

Rapporteur : BOULDADJ Redouane

MAA- UFM Constantine1.

**Examineurs : BELMAHI Mohamed-Habib
DEHILI Nedjouda**

MCA- USB Constantine3.
MAA- UFM Constantine1.

*Année universitaire
2020 - 2021*



Remerciements

Nous tenons à remercier, tout d'abord, Dieu qui nous a donné la force, la volonte et le courage pour réaliser ce modeste travail ainsi pour pouvoir suivre nos études avec succès.

*On exprime d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Monsieur **BOULDJADJ Redouane**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ses encouragements et surtout sa gentillesse.*

*Nous tenons à remercier le président Madame **Zama Djamila** et les examinateurs Monsieur **Belmahi.Mohamed-Habib** et Madame **Dehili Nedjoua** de nous avoir fait honneur de jury la soutenance.*

*Un remerciement particulier à Monsieur **Bahri Laid** à son aide lorsqu'on est besoin*

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire ou nous avons fait notre travail pratique

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes et nos amies qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de Biologie animale.



Dédicaces

Je Dédie Ce Modeste Travail

A tous ce qui me sont chers

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la Flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : **Maman** que j'adore.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien Moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours Sacrifié pour me voir réussir, à toi **mon père***

*A ma très chère et adorable sœur **Zineb***

*A mon petit frère **Abdou***

*A ma cousine **Zizi***

*Je ne peux clôturer cette dédicace sans adresser à ma meilleure amie et ma binôme **Dounia** un grand remerciement pour sa patience et sa ténacité durant les bons et parfois durs Moments qu'on a passés ensemble*

Mes dédicaces sont également adressées à toute la famille

*A tous mes amis plus particulièrement : **Rayene, Marwa, Djihene, Raihana, Lina, Chichi, Meriem***

*A mon trinôme **Khalil** sans oublier sans oublier l'équipe de **Monsieur Bahri***

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Merci d'être toujours là pour moi.

Imene



Dédicaces

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :

Avant toute chose je remercie Allah le tout puissant de m'avoir Donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail

À toutes les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles :

*Ma très **chère mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son Soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son Assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste Soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon **cher Père**, Merci pour les valeurs nobles, L'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*À mes chers frères : **Moncef, Raouf***

*À ma chère sœur : **Imene***

*A ma chère nièce : **Nourhane***

*À la fille la plus douce et la plus mignonne mon binôme et ma moitié
Imene benamira*

*À mes chers cousins et cousines : **Manar, Malak, Biba, Chaima, Aya, Charaf, Tej Eddine, Wafa,***

*À mes chères amies : **Djihane, Raihana, Lina, Chaima, Rawia, Maiissa, Yasmine, Marwa** qui a partagé toutes les bons et les Mauvais moments avec moi.*

*À Mon trinôme de Ce travail **Benabderrahmane Khalil***

À toutes mes familles et mes amies et à toute personne qui m'a aidé ou encouragé Tout au long de mes études.

Dounia



Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail

À ma très chère Maman

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de

M'encourager et de prier pour moi.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon cher papa

Qui a ma toujours soutenus et encourager tous au long de mon parcours d'étude,

Rien au monde ne vaut ces efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À ma belle et merveilleuse sœur Imene

À qui je souhaite la réussite et tout le bonheur du monde, que Dieu la protège.

À tous mes amis plus particulièrement : Ayoub, Louay, Youcef, Rayane, Nesrine, Zahra.

À tous les membres de ma famille, petits et grands

À mes chers collègues Dounia et Imene.

Sans oublier la deuxième équipe de monsieur Bouldjadj : Djihene, Raihana, Keltoum.

Et l'équipe de monsieur Bahri : Aymen, Meissa, Raouia.

Merci beaucoup.

Khalil.

Résumé

Le présent travail a pour objectif d'étudier et de comparer l'activité anti-inflammatoire et anti-œdémateux des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et d'*Ajuga iva*.

Dans un premier temps, notre étude a montré que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* est plus riche en polyphénols ($94,50 \pm 0,33$ contre $42,69 \pm 0,99$ mg EAG/g EXT et $105,36 \pm 0,44$ contre $35,62 \pm 1,33$ mg EAT/g EXT) et en flavonoïdes ($31,14 \pm 1,90$ contre $23,74 \pm 1,21$ mg EQU/g EXT) que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*. Ces valeurs sont des bons indices du potentiel thérapeutique de l'extraites, car beaucoup d'activités biologiques sont intimement liées à l'aspect quantitatif mais aussi qualitatif de ces biomolécules.

La deuxième étape consiste en l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba Alba* possède une excellente capacité de protéger la BSA contre la dénaturation thermique ($IC_{50} = 136,31 \pm 5,14$ μ g/ml) par rapport l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* ($IC_{50} = 630,14 \pm 5,19$ μ g/ml). De même, l'analyse de la protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique a montré que l'efficacité de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* est supérieure à celle de l'*Ajuga iva* ($46,33 \pm 0,31$ contre $34,32 \pm 0,84\%$).

Dans la dernière étape, l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* a révélé une bonne activité anti-œdémateuse des deux plantes. Chez les témoins négatifs, l'injection du formol 1% dans la patte postérieur droite des rats témoins œdémateux provoque un œdème maximal 3 heures après son injection. Le prétraitement des rats par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* à la dose de 200mg/kg a provoqué un effet inhibiteur maximal de l'œdème de la patte (79,48%) 2 heures après l'administration du formol. L'effet inhibiteur maximal de l'extrait d'*Artemisia herba alba Asso* à la même dose (70,56%) a été enregistré à la troisième heure.

Ces résultats confirment la validité de l'indication traditionnelle des deux plantes dans le traitement de plusieurs maladies. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Les mots clés : Anti-inflammatoire, Anti-œdémateux, Plantes médicinales, *Artemisia herba alba Asso*, *Ajuga iva*.

Abstract:

The purpose of this work is to study and compare the anti-inflammatory and anti-oedematous activity of the aqueous extracts of *Artemisia herba alba Asso* and *Ajuga iva*.

Initially, our study showed that the aqueous extract of *Artemisia herba alba Asso* is richer in polyphenols (94.50 ± 0.33 versus 42.69 ± 0.99 mg EAG/g EXT and 105.36 ± 0.44 versus 35.62 ± 1.33 mg EAT/g EXT) and flavonoids ($31,14 \pm 1,90$ vs $23,74 \pm 1,21$ mg EQU/g EXT) than the aqueous extract of *Ajuga iva*. These values are good indicators of the therapeutic potential of the extract, because many biological activities are intimately linked to the quantitative but also qualitative aspect of these bio molecules.

The second step consists in the evaluation of the anti-inflammatory activity in vitro by the method of inhibition of thermal denaturation of albumin and the test of protection of the red blood cell membrane against osmotic and thermal stress. This study showed that the aqueous extract of *Artemisia herba Alba* has an excellent ability to protect BSA against thermal denaturing ($IC_{50} = 136,31 \pm 5,14$ μ g/ml) compared to the aqueous extract of *Ajuga iva* ($IC_{50} = 630.14 \pm 5.19$ μ g/ml). Similarly, the analysis of the protection of the red blood cell membrane against osmotic and thermal stress showed that the efficiency of the aqueous extract of *Artemisia herba alba Asso* is higher than that of *Ajuga iva* (46.33 ± 0.31 against $34.32 \pm 0.84\%$).

In the final step, the study of anti-inflammatory activity in vivo revealed good anti-oedematous activity of both plants. In negative controls, injection of 1% formalin into the right hind leg of oedematous control rats causes maximum oedema 3 hours after injection. Pre-treatment of rats with the aqueous extract of *Ajuga iva* at a dose of 200 mg/kg resulted in a maximum inhibitory effect of leg oedema (79.48%) 2 hours after formalin administration. The maximum inhibitory effect of *Artemisia herba alba Asso* extract at the same dose (70.56%) was recorded at the third hour.

These results confirm the validity of the traditional indication of the two plants in the treatment of several diseases. However, further studies are needed to identify biologically active molecules to accurately identify the molecular mechanism(s) responsible for these effects.

Keywords: Anti-inflammatory, Anti-oedematous, Medicinal plants, *Artemisia herba alba Asso*, *Ajuga iva*.

الملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة ومقارنة النشاط المضاد للالتهابات والمستخلصات المائية المضادة للتورم لنبات الشيح *Artemisia herba alba Asso* و الشندقورة *Ajuga iva*.

أولاً، أظهرت دراستنا أن المستخلص المائي لعشب الشيح *Artemisia herba alba Asso* أغنى في كمية البوليفينولات (0,33±94,50 مقابل 0,99±42,69 مغ EAG/غرام EXT و 0,44±105,36 مقابل 1,33±35,62 مغ EAT/غرام EXT) والفلافونويدات (1.90 ± 31.14 مقابل 1.21 ± 23.74 مغ EXT/EQUE) من المستخلص المائي لعشبة الشندقورة *Ajuga iva*. هذه القيم جيدة بالنسبة لمؤشرات القدرة العلاجية للمستخلصات، لأن العديد من الأنشطة البيولوجية ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالجانب الكمي ولكن أيضاً بالجانب النوعي لهذه الجزيئات الحيوية.

تتركز الخطوة الثانية على تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر عن طريق تثبيط التمسخ الحراري للألبومين واختبار الحماية لغشاء خلايا الدم الحمراء ضد الإجهاد التناضحي والحراري. هذه الدراسة أظهرت أن المستخلص المائي من نبات الشيح *Artemisia herba alba Asso* له قدرة ممتازة على حماية BSA من التمسخ الحراري (IC50= 136, 31±5, 14 µg /ml) *Ajuga iva* بالنسبة إلى المستخلص المائي لنبات *Ajuga iva* (IC50 = 630,14± 5,19 µg /ml). وبالمثل، فإن تحليل حماية غشاء خلايا الدم الحمراء من الإجهاد التناضحي والحراري أظهر أن فعالية المستخلص المائي للشيح أكبر من ذلك في *Ajuga iva* (0,31± 46,33 مقابل 34,32±0,84%).

في الخطوة الأخيرة، كشفت دراسة النشاط المضاد للالتهابات على الجرذان عن وجود نشاط جيد مضاد للتورم لكلا النباتين. في الشواهد السلبية، يتم حقن 1 ٪ من الفورمول في الرجل اليمنى للجرذان الشاهدة وهذا يسبب تورم بحد أقصى يصل لـ 3 ساعات بعد الحقن. المعالجة المسبقة للفئران بمستخلص الشندقورة المائي أنتجت بجرعة 200 مغ / كغ بسبب تأثير مثبط أقصى على تورم الرجل (79.48٪) بعد ساعتين من تناول الفورمول. التأثير المثبط الأقصى لمستخلص الشيح تم تسجيله بنفس الجرعة (70.56٪) في الساعة الثالثة.

تؤكد هذه النتائج صحة المؤشر التقليدي للنباتين في علاج العديد من الأمراض. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتحديد الجزيئات النشطة البيولوجية وذلك لإعطاء بدقة الآلية أو الآليات الجزيئية المسؤولة عن هذه التأثيرات.

الكلمات المفتاحية: مضاد للالتهابات، مضاد التورم، نباتات طبية، *Artemisia herba alba Asso* ، *Ajuga iva*

SOMMAIRE

	<i>Page</i>
Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION	1
SECTION I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : L'inflammation	
I. L'INFLAMMATION :.....	3
I.1. Définition :	3
I.2. Type d'inflammation :	3
I.2.1. Inflammation aiguë :	3
I.2.1.1. La phase vasculaire :	4
I.2.1.2. La phase cellulaire :	5
A. Les cellules du sang :	5
B. Les cellules provenant du tissu :	5
I.2.1.3. La phase de résolution et réparation :	5
I.2.2. Inflammation chronique :	6
I.3. Les médiateurs d'inflammation :	7
I.3.1. Le système d'activation plasmatique :	7
I.3.1.1. La coagulation/fibrinolyse :	7

I.3.1.2. Le système du complément :	7
I.3.1.3. Le système kinines/kallicrénine :	8
I.3.2. Les médiateurs cellulaires :	8
I.3.2.1. Les amines vasoactives :	8
I.3.2.2. Les prostaglandines et les leucotriènes :	8
I.3.2.2. Les cytokines :	9
I.5. Les Pathologies d'inflammation :	9

Chapitre II : Les anti-inflammatoires

II. LES ANTI-INFLAMMATOIRE :	11
II.1. Généralités :	11
II.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiennes (AIS) :	11
II.2.1. Définition :	11
II.2.2. Mécanisme d'action :	11
II.2.3. Effet secondaire :	13
II.3. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens AINS :	13
II.3.1. Définition :	13
II.3.2. Mécanisme d'action :	13
II.3.3. Effet secondaire :	14
II.4. Les anti-inflammatoires d'origine végétales :	15

Chapitre III : Place de la phytothérapie dans le traitement des inflammations

III. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LE TRAITEMENT DES INFLAMMATIONS :	16
III.1. Historique des plantes médicinales :	16
III.2. Les formes de préparations des plantes Médicinales :	16
III.2.1. Infusion :	16
III.2.2. Décoction :	17
III.2.3. Macération :	17
III.2.4. Cataplasme :	17

III.3. Composition chimique des plantes Médicinales :	17
III.3.1. Métabolites primaires :	17
III.3.2. Métabolites secondaires :	18
III.3.2.1. Les composés phénoliques :	19
III.3.2.2. Terpenoïdes :	21
III.3.2.3. Alcaloïdes :	21
III.2. Utilisation de la médecine traditionnelle et alternative en thérapie des maladies inflammatoires :	22

Chapitre VI : Présentation des plantes étudiées

VI. PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES :	25
VI.1. Présentation de la plante <i>Ajuga iva</i> (L) Schreb:	25
VI.1.1. Description de la plante :	25
VI.1.2. Systématique de la plante :	26
VI.1.3. Répartition géographique :	26
VI.1.4. Composition chimique de la plante :	26
VI.1.5. Utilisations traditionnelle et propriétés pharmaceutiques :	27
VI.2. Présentation de la plante <i>Artemisia herba alba</i> Asso :	27
VI.2.1. Description de la plante :	27
VI.2.2. Systématique de la plante :	28
VI.2.3. Répartition géographique de la plante :	28
VI.2.4. Composition chimique de la plante :	28
VI.2.4. Utilisations traditionnelle et propriétés pharmaceutiques :	29

SECTION II : ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES :

I. Matériel :	30
I.1. Matériel végétal :	30
I.2. Matériel animal :	30
I.3. Réactifs :	30

I.4. Appareils :	31
II. Méthodes :	31
II.1. Préparation de l'extrait aqueux infusé :	31
II.2. Rendement de l'extraction :	32
II.3. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes :	33
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux :	33
II.3.1.1. Principe :	33
II.3.1.2. Mode opératoire :	33
II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :	34
II.3.2.1. Principe :	34
II.3.2.2. Mode opératoire :	34
II.4. Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :	34
II.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) :	34
II.4.1.1. Principe :	34
II.4.1.2. Mode opératoire :	34
II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :	35
II.4.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges :	35
II.4.2.2. Test de l'innocuité des extraits vis-à-vis des globules rouges :	36
II.4.2.3. Evaluation de l'effet des extraits aqueux de plantes sur la stabilisation de la membrane des globules rouges :	37
II.5. Méthode de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo :	37
II.5.1. Induction de l'œdème inflammatoire aigu de la patte de rat par le formol :	37
II.5.2. Traitement des animaux :	38
II.6. Evaluation statistique :	39
Résultats et discussion	
I. Rendement de l'extraction :	40
II. Caractérisation quantitative des extraits de plantes :	40

II.1. Teneur des extraits en polyphénols :	40
II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes :	43
III. Activité anti-inflammatoire in vitro :	45
III.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :	45
III.2. Activité anti-hémolytique :	47
III.2.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire :	47
III.2.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :	48
VI. Effet anti-œdémateux des extraits (Activité anti-inflammatoire in vivo) :	50
Conclusion et perspectives.....	53
Références bibliographiques.....	54

Liste des figures

Page

Figure 1: Phase d'initiation.....	4
Figure 2: Evolution de l'inflammation aiguë.....	5
Figure 3 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.....	12
Figure 4 : Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	14
Figure 5 : Squelette de base des polyphénols.....	19
Figure 6 : La plante médicinale <i>Ajuga iva</i> L.....	25
Figure 7 : La plante médicinale <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	28
Figure 8 : Protocole de préparation d'extrait aqueux de la partie aérienne d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso et d' <i>Ajuga iva</i>	32
Figure 9(a) : Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique.....	41
Figure 9(b) : Droite d'étalonnage de l'Acide Tannique.....	41
Figure 10(a) : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide gallique.....	42
Figure 10(b) : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide Tannique.....	42
Figure11: Droite d'étalonnage de la quercétine.....	44
Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux équivalant quercétine..	44
Figure 13 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA.....	46
Figure 14 : Pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration des extraits aqueux des plantes.....	47
Figure 15 : Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux des deux plantes.....	49
Figure 16 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol (Pourcentage d'inhibition de l'œdème).	51

Liste des tableaux

	<i>Page</i>
Tableau 1: les factures déclenchant de la réaction inflammatoire.....	3
Tableau 2: les effets biologiques des principaux médiateurs de l'inflammation.....	9
Tableau3 : Exemples de maladies liées à l'inflammation.....	10
Tableau4 : Classification des composés phénoliques.....	20
Tableau5 (a) : Plantes possédant une activité anti-inflammatoire et leurs modes d'action..	23
Tableau5 (b) : Plantes possédant une activité anti-inflammatoire et leurs modes d'action..	24
Tableau6 : Composés isolés à partir d' <i>Ajuga iva</i>	26
Tableau7 : Le rendement des extraits aqueux d d' <i>Artemisia herba alba Asso</i> et d' <i>Ajuga iva</i>	40
Tableau8 : le pouvoir anti-inflammatoire in vitro d'un anti-inflammatoire de références et des extraits testés.....	46
Tableau9 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol.	50

Liste des abréviations :

°C : Degré Celsius

% : Pourcentage

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiennes

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AUG : Augmentation

BSA : Bovine Sérum Albumine

C2-kinine : Complément 2 kinine

C3a, C4a, C5a : Complément d'anaphylatoxines 3, 4, 5

CD80 : Cluster de différenciation80

Cm : Centimètre

COX : Cyclo-Oxygénase

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EAT : Equivalent d'Acide Tannique

EXS : Equivalentde l'Extrait

EQ : Equivalent de Quercétine

EXT AQ : Extrait aqueux

FCR : Folin-Ciocalteu

g: Gramme

GC : Glucocorticoïde

GRE : Glucocorticoïde réponse élément

GRr : Globules rouges des rats

h : Heure

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane

IL : Interleukine

INH : Inhibition

Kg : Kilogramme

M: Poids en g

MC : Maladie de Crohn

MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Mg : Milligramme

Min : Minutes

ml : Millilitre

mm : Millimètre

MS : Métabolites secondaires

nm : Nanomètre

NO : Monoxyde d'Azote

OH: fonction hydroxyle

PAF:Platelet Activating Factor

PBS: Phosphate Buffered Saline

PGE2 : Prostaglandine E2

PGI2: Prostaglandine I2

Ph : potentiel hydrogène

PLP A2: Phospholipase A2

PR:Polyarthrite Rhumatoïde

R : Rendement

RBC: Red Blood Cell

RC: Récepteur

T0 : Temps primaire

TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha

TxA2 : Thromboxane A2

μ l : Microlitre

μg : Microgramme

UV : Ultra-violet

v/v : Volume/ Volume

VCAM-1 : Circulating Vascular Cell adhesion Molecule-1

Introduction

INTRODUCTION

L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse (Ndiaye *et al.*, 2006). Cette réponse immunitaire protectrice peut être parfois néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, des anomalies de régulation et de production des cellules intervenant dans l'inflammation. Ces processus inflammatoires sont impliqués dans l'apparition d'un grand nombre de pathologies humaines tel que l'arthrite, le diabète, l'asthme, les allergies et le cancer (Sene, 2016 ; Kouadio Kouakou *et al.*, 2021).

La thérapeutique anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Muster, 2005). Ce traitement est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires, non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes. Ces molécules bien qu'étant efficaces sont associées à des effets iatrogènes tels des dommages digestifs (ulcères gastroduodénaux, sténose, perforation) et des toxicités rénales (insuffisance rénale aiguë, rétention hydrosodée) (Youghbaré-Ziébrou *et al.*, 2016).

En raison de ces problèmes iatrogènes, il est impérieux d'orienter la recherche de nouveaux agents thérapeutiques anti-inflammatoires vers les plantes médicinales qui constituent une source potentielle de molécules naturelles anti-inflammatoires (Kouadio Kouakou *et al.*, 2021).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de l'origine de sa flore, constitue un véritable réservoir phytogénétique, ce qui lui permet d'occuper une place privilégiée parmi les pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale et un savoir-faire traditionnel à base de plantes médicinales dans diverses pathologies, malgré que rares études s'y sont intéressées (Miara *et al.*, 2013).

L'existence de recettes de la médecine traditionnelle qui se sont révélées positives pour le traitement des pathologies inflammatoires nous amène à nous intéresser à deux espèces végétales d'origines Algériennes.

L'*Ajuga iva* et l'*Artemisia herba alba* Asso sont des plantes médicinales très abondantes au Maghreb et au bassin méditerranéen. Leur utilisation en médecine traditionnelle remonte à des temps lointains. Elles sont connues et utilisées dans le traitement de plusieurs maladies tels l'hypertension artérielle, les infections diverses, le diabète, les douleurs rhumatismales, les troubles gastriques, les inflammations...etc (Mohamed *et al.*, 2010 ; Bouyahya *et al.*, 2020).

Ce travail vise à étudier l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux des plantes *Artemisia herba alba* Asso et *Ajuga iva*.

Cette étude sera subdivisée en trois parties :

- Une première est une synthèse bibliographique : Le premier chapitre est consacré à un rappel sur les différents types d'inflammation. Nous avons ensuite abordé un deuxième chapitre sur les anti-inflammatoires. Dans le troisième chapitre, on a abordé la place de la phytothérapie dans le traitement de l'inflammation. Le quatrième chapitre est consacré à une synthèse sur les espèces végétales étudiées.
- La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental.
- La troisième partie de ce mémoire expose l'ensemble des résultats obtenus et la discussion.

Elle traite 3 parties :

- La première sert à l'étude quantitative des polyphénols par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.
- La deuxième sert à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Test de la dénaturation protéique, test d'hémolyse des globules rouges et test de la stabilisation membranaire).
- La dernière sert à l'étude de l'effet anti-inflammatoire *in vivo* (anti-œdémateux) par mesure du volume de l'œdème chez des rats traités par le formol 1% au niveau de la patte postérieure droite.

Etude
bibliographique

I. L'INFLAMMATION :

I.1. Définition :

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure provoquée par des facteurs physicochimiques (Irradiations, brûlure, traumatismes mécaniques...), des infections microbiennes (Bactériennes, virales ou parasitaire) ou liée à des éléments endogènes tels que des composés issus de la réaction immunitaire (Complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...). Elle a pour but d'éliminer l'agent pathogène et réparer les lésions tissulaires (Yougbaré-Ziébro et al., 2016 ; Taïba et al., 2017).

Tableau1 : les facteurs déclenchant de la réaction inflammatoire (Danowski, 1991).

Origine	Facteurs déclenchant de la réaction inflammatoire
Origine exogène	- Agents physiques : Brûlures, gelures, radiations, coupures, piqûres ...
	- Agents chimiques : Acides, bases, médicaments.
	- Agents biologiques : bactéries, virus, parasites, toxines.
Origine endogène	- Microcristaux : Goutte hémocalcies articulaires, rhumatismes à hydroxyapatites. - Auto anticorps. - Libération enzymatique.

L'inflammation se manifeste par des symptômes plus ou moins pénibles décrits par Celsus puis par Galien : rougeur, chaleur, douleur, tuméfaction et gêne ou impotence fonctionnelle (Muster, 2005). Ces symptômes peuvent provoquer l'apparition d'une asthénie, d'une anorexie, d'un amaigrissement, d'une fièvre, de troubles du sommeil et d'une cachexie avec fonte musculaires (Ferhat et Mehych, 2017). Face à une telle situation, le traitement de l'inflammation elle-même prime souvent pour le médecin sur le traitement de la cause.

I.2. Type d'inflammation :

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires :

I.2.1. Inflammation aiguë :

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur. Sa durée varie de quelques jours à quelques semaines selon le degré de blessure (Raghavendra et al., 2015). Ses principales caractéristiques sont l'exsudation des liquides et protéines plasmatiques (œdème) et la migration des leucocytes (principalement des neutrophiles) des vaisseaux sanguins

vers le site inflammatoire (tissu blessé) (Raghavendra *et al.*, 2015). L'immunité innée va jouer un rôle dans l'élimination directe du pathogène, mais elle permet également le déclenchement de la réponse adaptative qui va aider à l'éradication du danger (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante.

La réponse inflammatoire aiguë se déroule en trois phases :

I.2.1.1. La phase vasculaire :

La phase vasculaire est immédiate et liée à l'émergence des principaux symptômes qui conduisent à l'émergence à la congestion et l'œdème (Sellal, 2009).

Au niveau de la phase vasculaire un ensemble de réactions se produit :

- Activation des plaquettes à travers les étapes adhésion, agrégation, dégranulation qui permettent libération des facteurs vasoactif comme la sérotonine.
- Le recrutement et l'activation des cellules inflammatoire comme les neutrophiles et les monocytes grâce à des cytokines et des facteurs de croissance produits par les plaquettes.
- Activation des cellules endothéliales et des éléments du système de contact et libération de la bradykinine et la coagulation avec formation d'un caillot de fibrine.
- Activation de la fibrinolyse décomposer caillot de fibrine et production de plasmine qui activé le complément et entraîne la libération des facteurs chimiotactique vasoactif (complément d'anaphylatoxines C3a, C5a et de la C2-kinine)

Cette dernière permet d'entraîner des vasodilatations et des litiges de perméabilité vasculaire, ces deux réactions sont à l'origine de l'apparition d'œdèmes (Ferhat et Mehyach, 2017).

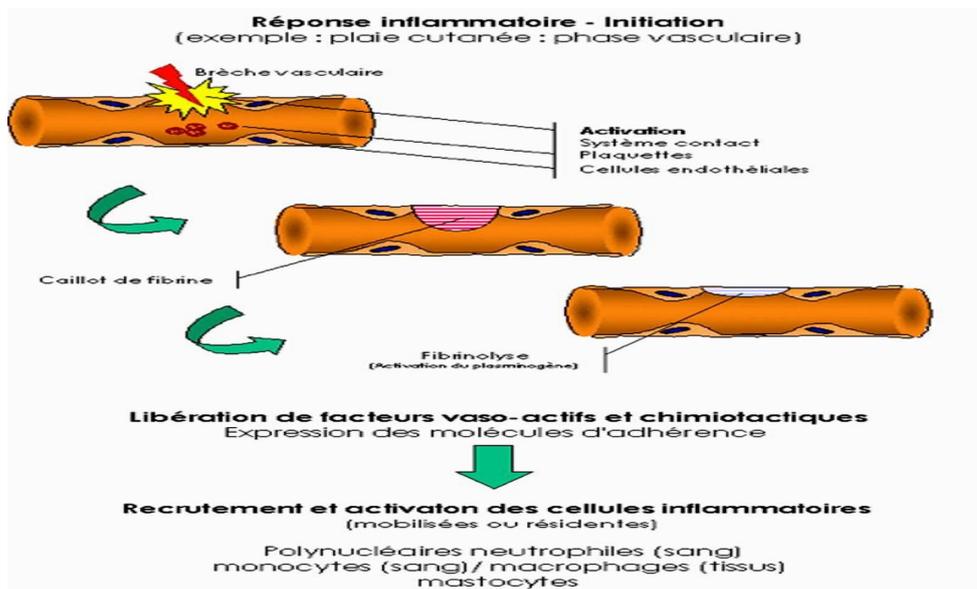


Figure 1 : Phase d'initiation (Ferhat et Mehyach, 2017).

I.2.1.2. La phase cellulaire :

La provenance des cellules du foyer inflammatoire est issue de deux origines : le sang tel que les neutrophiles ou bien le tissu lui-même comme les cellules phagocytaires (Duyckaerts et al., 2002).

A. Les cellules du sang :

Le chimiotactisme est le phénomène responsable de la migration des polynucléaires, les monocytes et les lymphocytes vers le foyer lésionnel. Les polynucléaires neutrophile sont présentes des premières heures et disparaissent après 48 heures, le temps que les monocytes macrophages deviennent abondantes. Au moment du stade subaiguë et chronique les infiltrats lymphocytaires sont observés (Duyckaerts et al., 2002 ; Rousselet et al., 2005).

B. Les cellules provenant du tissu :

Les histiocytes sont des macrophages résidant dans les tissus eux-mêmes (cellules de Küpffer du foie, macrophages alvéolaires du poumon, microglie du cerveau). Les mastocytes, Contenant des granulations riches en histamine et sérotonine résident aussi dans les tissus (Duyckaerts et al., 2002).

I.2.1.3. La phase de résolution et réparation :

Une fois l'agression maîtrisée, la réaction inflammatoire est arrêtée. Les macrophages vont nettoyer les débris cellulaires mais également sécréter des cytokines permettant la réparation du tissu par les fibroblastes (collagènes) et par les cellules endothéliales (néoangiogenèse).

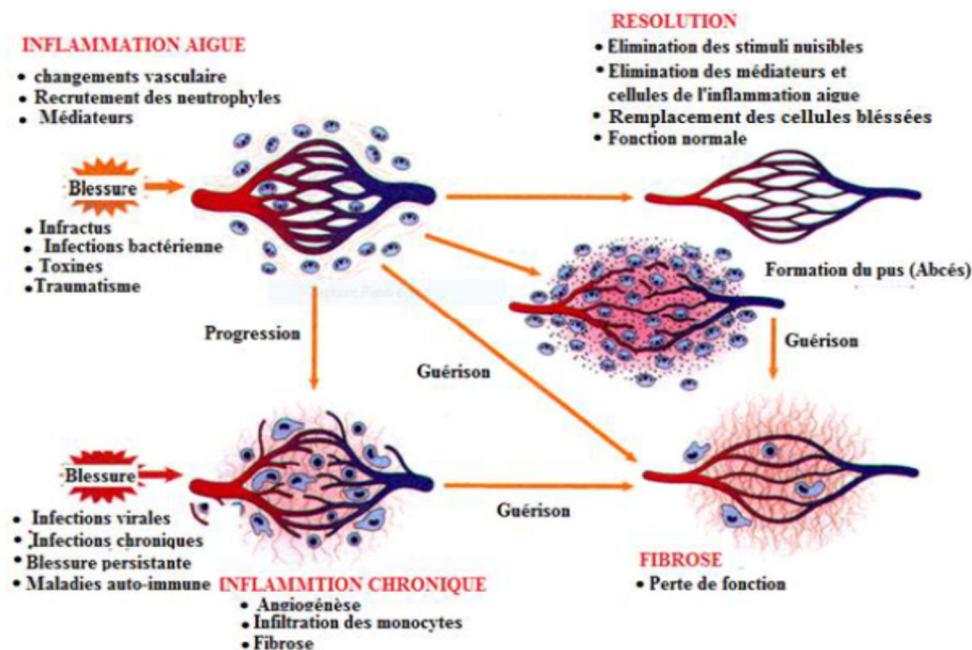


Figure 2 : Evolution de l'inflammation aigüe (Kada, 2018).

Des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 vont progressivement remplacer les médiateurs inflammatoires et inhiber leur sécrétion et leur action. L'inflammation est alors en phase de résolution (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Une fois que les cellules immunitaires ne sont plus requises sur le site inflammatoire, elles vont quitter le tissu ou bien mourir, par perte de signaux de survie ou par apoptose. Les mécanismes de l'inflammation aiguë sont identiques quel que soit l'agent déclenchant (Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

I.2.2. Inflammation chronique :

L'inflammation chronique correspond à un échec de l'inflammation aiguë et induit de nombreuses pathologies (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Elle est caractérisée par une évolution prolongée pouvant s'étaler sur des mois voire des années, l'inflammation chronique est définie par une durée supérieure à six semaines (Heymonet, 2013).

Une inflammation chronique peut survenir suite :

- A un Échec dans l'élimination d'agent provoquant une inflammation aiguë : tels que les organismes infectieux qui peuvent résister aux défenses de l'hôte et rester dans le tissu pendant une période prolongée (Pahwa et al., 2020).
- A une exposition à un faible niveau d'un matériau irritant ou étranger particulier : qui ne peut pas être éliminé par dégradation enzymatique ou phagocytose dans le corps tel que la poussière de silice (Pahwa et al., 2020).
- A une maladie auto-immune : dans laquelle le système immunitaire reconnaît le composant normal du corps comme un antigène étranger et attaque le tissu sain donnant lieu à des maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde (PR) (Pahwa et al., 2020).
- A un défaut dans les cellules responsables de la médiation de l'inflammation : conduisant à une inflammation persistante ou récurrente, comme les troubles auto-inflammatoires (Pahwa et al., 2020).

A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de cette inflammation (Kada, 2018). L'infiltrat cellulaire sur le site inflammatoire perdure et contribue ainsi à l'hyperplasie et à la destruction du tissu. Le microenvironnement joue un rôle primordial dans ce processus. En effet, la production de cytokines et chimiokines va favoriser la survie et le maintien des cellules sur le site inflammatoire (Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

Les mécanismes et médiateurs impliqués dans le processus de l'inflammation chronique sont similaires dans différentes maladies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde (PR), le psoriasis ou encore les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) telle la maladie de Crohn (MC) (Libby, 2007). Parmi ces agents communs, les cytokines

représentent des facteurs primordiaux pour l'environnement cellulaire, que ce soit au niveau local mais également systémique.

I.3. Les médiateurs d'inflammation :

Le déclenchement de l'inflammation fait appel à des facteurs synthétisés localement ou au niveau systémique dont certains sont des pro-inflammatoires et d'autres des anti-inflammatoires. Un déséquilibre entre ces deux groupes de médiateurs conduit à la chronicité de la réaction inflammatoire et à la destruction des tissus enflammés.

I.3.1. Le système d'activation plasmatique :

Les trois systèmes plasmatiques interdépendants liés à l'inflammation sont : le système de coagulation/fibrinolyse, le système du complément et le système kinine/kallicrénine.

I.3.1.1. La coagulation/fibrinolyse :

Au cours de l'inflammation, la présence de dépôts de fibrine dans l'interstitiel intra vasculaire et extravasculaire est presque constante. La formation et l'importance de ces dépôts sont causées par le déséquilibre entre les deux suivants :

- La participation du système de coagulation conduit à la formation de thrombine, qui déclenche la formation de fibrine thrombine à partir du fibrinogène
- Le système fibrinolytique provoque la formation de plasmine détruit fibrine par protéolyse (Abbal et al., 2013).

I.3.1.2. Le système du complément :

Le système du complément est un système multi protéique composé de trente protéines ou composants, qui participent à la fois aux mécanismes de défense antimicrobiens en complétant l'activité et dans les mécanismes de l'inflammation.

Les composants du complément s'articulent suivant deux voies dites voie classique et voie alterne se rejoignant au niveau de C3 en un tronc commun terminal dont l'activation aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire à action cytolytique. Si la réponse du complément est requise dans un mécanisme de défense antimicrobien, sa réponse d'activation produit des produits d'activation qui sont actifs pendant l'inflammation.

Ces produits activés sont les principaux produits de clivage des composants de la réaction d'addition : les toxines anaphylactiques C3a, C4a et C5a sont des polypeptides issus du clivage de C3, C4 et C5 (Abbal et al., 2013).

I.3.1.3. Le système kinines/kallicrénie:

Le système kinine est une cascade d'enzymes qui lorsqu'un facteur de coagulation appelé facteur hagemen est activé après une lésion tissulaire. Le facteur d'activation active alors la prékallikréine pour former la kallikréine qui clive le kiminogénène pour former de la bradykinine. Ce médiateur inflammatoire d'augmente la perméabilité vasculaire, provoquant une vasodilatation de la contraction des muscles lisses. La kallikréine agit également directement sur le système du complément en clivant C5 en C5a et C5b (Thomas et *al.*, 2007).

I.3.2. Les médiateurs cellulaires :

La réponse inflammatoire induit la libération de divers médiateurs. Ces médiateurs influencent la croissance et la résolution en agissant sur diverses cellules impliquées dans l'inflammation.

I.3.2.1. Les amines vasoactives :

Il s'agit de sérotonine et l'histamine :

- *La sérotonine*, stockée dans les plaquettes sanguines et dans les cellules chroma fines de la muqueuse intestinale libérée, elle stimule les fibres lisses vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales (Miossec, 2003).
- *L'histamine*, libérée à partir des mastocytes et basophiles. Elle est retrouvée au niveau de l'épiderme de la muqueuse gastro-intestinale et du système nerveux. Dans toutes ces cellules, l'histamine se trouve stockée sous forme de complexes protéiques inactifs car elles sont liées à l'héparine. Elle est libérée lors de la dégranulation des cellules phagocytaires et a des propriétés chimiotactiques pour les phagocytes (Capron, 1998).

I.3.2.2. Les prostaglandines et les leucotriènes :

Interviennent dans les processus inflammatoires aigus ou chroniques. Ils sont formés à partir de l'acide arachidonique.

- *Les leucotriènes* augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimio-attractivité sur les polynucléaires.
- *Les prostaglandines* produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire, de plus, ils dépriment certains mécanismes immunitaires et potentialisent les effets allogènes de la bradykinine (Miossec, 2003).

I.3.2.2. Les cytokines :

Les monokines et lymphokines forment un groupe de protéines jouant un rôle essentiel dans les communications intercellulaires et notamment entre les acteurs du processus inflammatoire. Elles sont sécrétées par les lymphocytes, les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les plaquettes et d'autres types cellulaires, telles que les cellules épithéliales (Miossec, 2003).

Tableau 2: les effets biologiques des principaux médiateurs de l'inflammation (Rinkin, 2004 ; Henrotin *et al.*, 2001 ; Sanchez-munoz *et al.*, 2008 ; Male *et al.*, 2007)

Médiateur de l'inflammation	Membres	Origine	Effet biologiques
Amines vasoactives	- Histamine	- Mastocytes - Basophiles - Plaquettes	- Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, activation endothéliale et douleur
Médiateurs lipidiques (eicosanoïdes)	- Prostaglandine(PG) - Thromboxanes(TX)	- Acide arachidonique	- Vasodilatation ; augmentation perméabilité vasculaire, douleur, fièvre, agrégation plaquettaire.
	- Leucotréine		- Vasodilatation ; augmentation perméabilité vasculaire, participent à la formation de l'œdème, possèdent des propriétés chimiotactiques.
Dérivés d'oxygène et d'azote	-NO	- Macrophages et mastocytes	- Effet cytotoxique sur l'agresseur et induction d'effet cytotoxique et relaxation des muscles
Cytokines	- IL-1 ; IL-6 - TNF α	- Macrophages et mastocytes et neutrophiles - Macrophages et mastocytes	- Activation endothéliale, diapédèse - Recrutement des globules blancs, effet microbicide et élimination de l'agent pathogène.

I.5. Les Pathologies d'inflammation :

Les maladies inflammatoires sont un groupe de troubles cliniques qui sont caractérisés par des réponses inflammatoires anormales (une inflammation chronique) comme une caractéristique majeure (Afsar, 2011). Cette inflammation conduit au développement de plusieurs maladies humaines telles que le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, les maladies pulmonaires, l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, l'ostéoporose, les maladies neurodégénératives, la maladie d'Alzheimer, et les maladies intestinales inflammatoires (Kada, 2018).

Les maladies inflammatoires peuvent être classées en deux catégories :

- **Les maladies auto-inflammatoires** qui sont très rares et qui touchent essentiellement les enfants : Ces maladies, parfois associées à un dysfonctionnement génétique, sont la conséquence d'un excès de production de substances inflammatoires.
- **Les maladies auto-immunes avec des maladies auto-immunes systémiques, avec des atteintes de plusieurs organes** comme dans le cas de la polyarthrite rhumatoïde et **les maladies auto-immunes spécifiques qui vont atteindre un seul organe** comme le diabète de type 1.

Les cytokines pro-inflammatoires sont largement impliquées dans ces pathologies en amplifiant la réaction inflammatoire via la néo-vascularisation, l'hyper-prolifération cellulaire et la dégradation tissulaire (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). La production de cytokines et de chimiokines favorise le maintien des cellules inflammatoires sur le site inflammatoire dans différents maladies chroniques telles que la polyarthryterhumatoïde, le psoriasis et les maladies chroniques de l'intestin (Kada, 2018).

Selon le lien de l'inflammation à la pathologie on peut classer les pathologies inflammatoires en trois types (tableau 04) :

Tableau 3 : Exemples de maladies liées à l'inflammation. (Ferradji, 2011)

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

II. LES ANTI-INFLAMMATOIRES :

II.1. Généralités :

La thérapeutique anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Muster, 2005). Elle est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (Corticoïdes). Ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (Irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (Trabsa, 2015).

II.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiennes (AIS) :

II.2.1. Définition :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales. Ils sont de puissants anti-inflammatoires doués également de propriétés immuno-modulatrices et antiallergiques (Heymonet, 2013). Ils ont tous une activité hormonale sur les régulations métaboliques (glucidique, protidique, lipidique notamment) et ils entraînent la mise au repos des surrénales par un mécanisme de freination hypothalamo-hypophysaire (Muster, 2005).

Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation. Par leur effet antiprolifératif sur les histiocytes-monocytes-macrophages de tous les types, les lymphocytes, les plasmocytes, les fibroblastes et les polynucléaires neutrophiles, ils inhibent les phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation (Muster, 2005).

II.2.2. Mécanisme d'action :

Les corticoïdes ont des mécanismes d'action originaux qui sont essentiellement génomiques (Transcriptionnels) caractérisés par l'activation (Transactivation) ou l'inhibition (Trans-répression) de nombreux gènes cibles (Mekenza et Medjmedj, 2018). Ces actions s'exercent dans de nombreuses cellules impliquées dans l'immunité innée (Macrophages, polynucléaires, mastocytes), dans l'immunité adaptative (Lymphocytes) mais aussi dans d'autres cellules (Fibroblastes, cellules épithéliales et endothéliales) (Muster, 2005).

Les glucocorticoïdes sont véhiculés par les protéines de transport que sont la transcortine et l'albumine. Ils traversent les membranes cellulaires par diffusion. Dans le cytoplasme, ils se fixent sur un récepteur spécifique qui appartient à la superfamille des récepteurs aux stéroïdes.

Après fixation du glucocorticoïde, le complexe glucocorticoïde-récepteur migre vers le noyau et va agir directement sur l'ADN en se fixant sur des séquences spécifiques appelées GRE (Glucocorticoid response element), intervenant ainsi dans la régulation (Activation ou inhibition) de la transcription des gènes cibles (Heymonet, 2013). C'est ainsi que sera stimulée la synthèse d'une protéine, la lipocortine, qui inhibe la phospholipase A₂, réduisant ainsi la libération d'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires et donc la formation des médiateurs de l'inflammation, prostaglandines et leucotriènes. Les glucocorticoïdes diminuent également la synthèse d'une série de protéines importantes pour les phénomènes inflammatoires, par exemple : les interleukines et d'autres cytokines, la phospholipase A₂, la cyclooxygénase 2 (Lüllmann et al., 1996). Les corticoïdes régulent aussi les phénomènes d'activation et de survie cellulaire (Apoptose) expliquant leur efficacité cytostatique dans certaines affections hématologiques malignes (Muster, 2005).

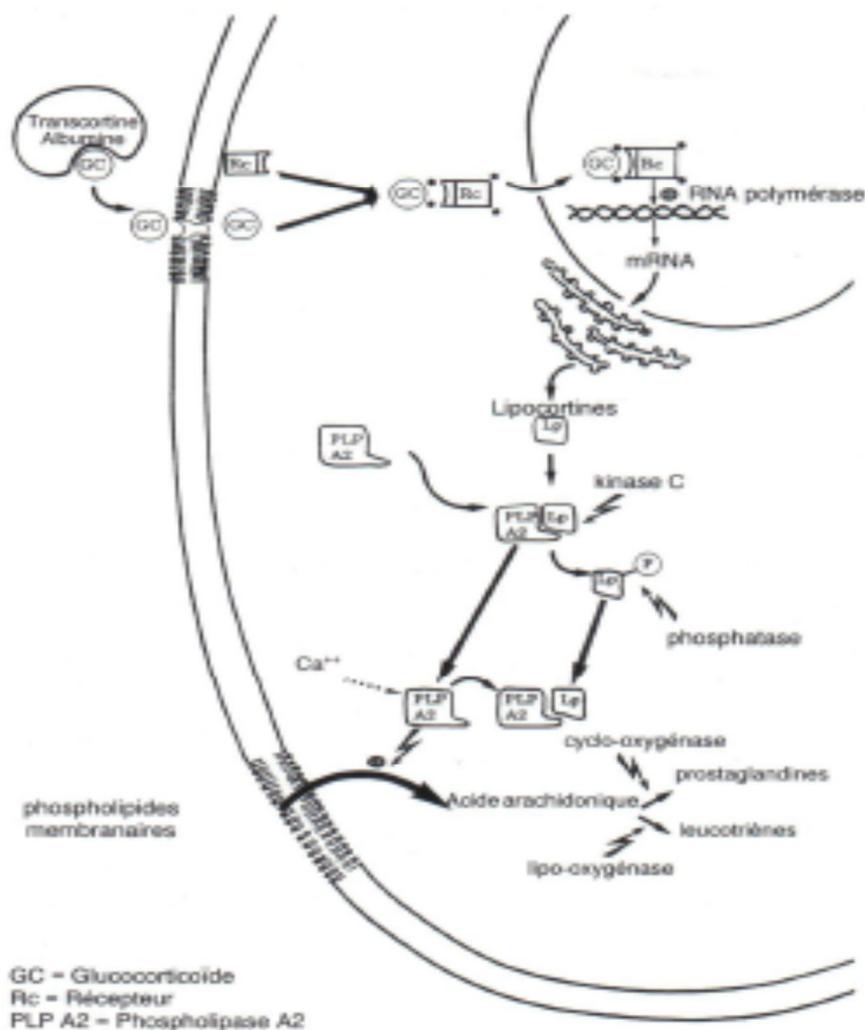


Figure 3 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Heymonet, 2013).

II.2.3. Effets secondaires :

Lors d'une administration brève, les glucocorticoïdes même à doses élevées, ne présentent pratiquement aucun effet secondaire.

Au cours d'une administration à long terme, ils entraînent une tendance à l'infection, altération des processus de cicatrisation. L'activité glucocorticoïde exagérée entraîne :

- Une augmentation de la néoglucogenèse et de la libération de glucose. Sous l'action de l'insuline, le glucose est transformé en triglycérides (Dépôt adipeux : visage lunaire et épaissement du tronc), et en cas d'augmentation insuffisante de la sécrétion d'insuline, on observe un « diabète stéroïdien » (Lüllmann *et al.*, 1996).
- Une dégradation accrue des protéines avec atrophie des muscles squelettiques, ostéoporose, trouble de la croissance chez l'enfant, atrophie cutanée. Les conséquences de l'activité minéralo-corticoïde du cortisol sont la rétention d'eau et de sodium, l'augmentation de la pression artérielle, la formation d'œdèmes, et la perte de potassium avec risque d'hypokaliémie (Lüllmann *et al.*, 1996).

II.3. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS :

II.3.1. Définition :

Les AINS, à la différence des glucocorticoïdes, regroupent différentes classes chimiques de synthèse de structure non stéroïdienne (Muster, 2005). Ce sont des médicaments symptomatiques capables de s'opposer au processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause (Mécanisme, chimique, infectieuse, immunologique) et ils sont très efficaces pour la douleur et l'inflammation. En raison de leurs propriétés, cette classe thérapeutique est l'une des plus utilisées dans le monde (4,5% de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés) (Taïba *et al.*, 2017). Cependant, ils sont connus pour de multiples effets indésirables, notamment des saignements gastro-intestinaux, des effets secondaires cardiovasculaires et néphrotoxiques (Wongrakpanich *et al.*, 2018).

II.3.2. Mécanisme d'action :

Lorsque l'inflammation, les phospholipase A₂ sont alors activées transformant les phospholipides membranaires en acide arachidonique qui sera métabolisé en prostaglandines (PG) par la cyclo-oxygénase (COX) (Neant, 2017). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent sur cette phase de l'inflammation en inhibant la cyclooxygénase et par conséquent la synthèse des prostaglandines. De cette inhibition enzymatique découlent des conséquences bénéfiques ou indésirables qui dépendent en partie de l'état du malade. Les effets utiles en thérapeutique sont les effets anti-inflammatoires, antalgiques et antipyrétiques. Les AINS présentent comme effet

indésirable un risque d'ulcère à l'estomac par inhibition de la synthèse des autres prostaglandines qui protègent la muqueuse gastrique. L'ulcération gastroduodénales et les saignements digestifs sont attribués essentiellement à l'inhibition des cyclo-oxygénases de type I. Les AINS inhibent sélectivement la COX-2 ont une action anti-inflammatoire et antalgique à peu près identique, aux posologies conseillées, à celle des AINS non sélectifs mais entraînent moins de troubles digestifs (Heymonet, 2013).

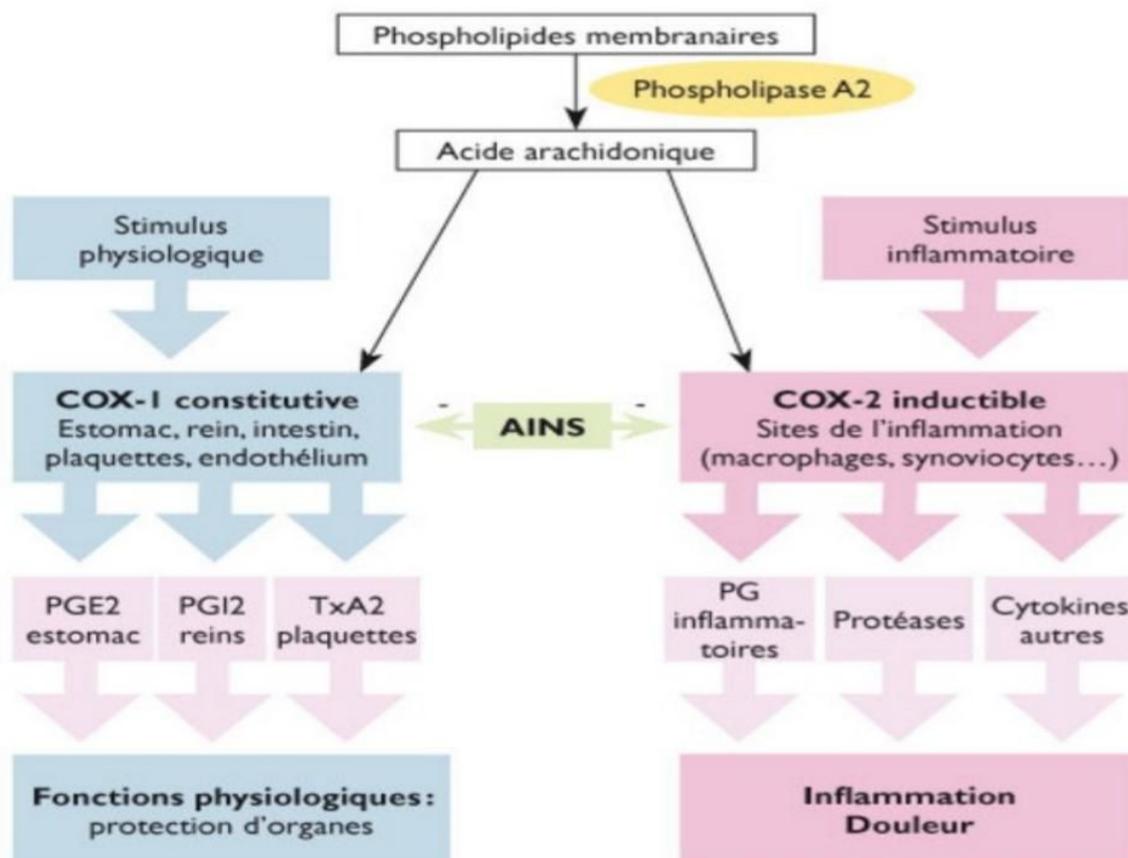


Figure 4 : Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Mansour, 2015).

II.3.3. Effets secondaires :

Les effets secondaires des ANIS peuvent être le résultat de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines ou bien déviation du métabolisme de l'acide arachidonique vers une voie autre que celle de la cyclo-oxygénase, notamment la voie de la lipo-oxygénase.

- **Effets gastroduodénaux :** Les prostaglandines jouent un rôle important dans la muqueuse gastrique augmentent la production mucus, la perfusion sanguine gastrique et diminuent la production des radicaux libres sauf en cas d'utilisation AINS à long terme où se produisent dyspepsie et ulcères gastroduodénaux.
- **Effets sur le rein :** Complications réno-vasculaires : œdèmes par rétention hydro sodée, oligurie par Insuffisance rénale aigüe (Annick, 2018).

- **Effets cutanés** : Dermate exfoliatrice, syndromes de Stevens-Johnson et de Lyell. Les éruptions diverses, l'urticaire, la photosensibilisation (Notamment avec le kétoprofène en application cutanée) (Sivry, 2014).
- **Effets Cardiovasculaires** : Résistance au traitement antihypertenseur, poussée hypertensive, insuffisance cardiaque congestive, risque thrombotique artériel (En cas de prise prolongée ou à dose importante) (Gungomer, 2015).

II.4. Les anti-inflammatoires d'origine végétales :

Les anti-inflammatoires naturelles ou végétales sont celles qui existent dans la nature qui ne subissent pas de modification de la structure chimique après les procédés de leur obtention. Plusieurs travaux ont été réalisés sur les substances naturelles d'origine végétale dotées de propriétés anti-inflammatoires grâce à la présence des molécules naturelles bioactives permettant de traiter certaines maladies inflammatoires (Bourkhiss et al., 2010).

III. PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LE TRAITEMENT DES INFLAMMATIONS :

III.1. Historique des plantes médicinales :

Dès l'antiquité, les écrits d'Hypocrate (Grèce 500 avant Jésus Chris) présentent plusieurs centaines de plantes médicinales et de remèdes à base de plantes. Au moyen-âge, certaines abbayes comme celle de Salagon (Haute-Provence, France) développent la culture des plantes médicinales et une phytothérapie enrichie par les explorations. À la même époque, dans la pharmacopée arabe et juive, on assiste aux premiers développements d'une chimie d'extraction et certaines universités, comme celles de Salerne ou Montpellier, se spécialisent dans la recherche de nouveaux médicaments à base de plantes, et forment les premiers apothicaires (**Forestier, 1982**).

Au début du XIXe siècle, l'on observe un grand tournant dans l'histoire du médicament lorsque, imprégnée jusqu'alors d'une pratique empirique et souvent d'inspiration magico-religieuse, la pharmacie commence à être dominée par la chimie scientifique. La chimie d'extraction devient aussi de plus en plus performante et permet dès 1815 l'isolement de la morphine à partir du pavot ou en 1820, la purification de la quinine de l'écorce de quinquina. Enfin, les premières molécules thérapeutiques issues de la chimie de synthèse font leur apparition dès 1899, avec la synthèse de l'aspirine par Bayer (**Faye et Champey, 2008**).

En Afrique la médecine traditionnelle utilise depuis des millénaires les plantes médicinales. Plusieurs milliers des produits ont été recensés. Au moyen âge, après la chute de l'empire romain, l'Europe connaît un retour à la barbarie, un déclin général du savoir et une longue période d'obscurantisme. Il faudra attendre l'apport des Arabes pour assiste à une véritable renaissance (**Bruneton, 1999**).

III.2. Les formes de préparations des plantes Médicinales :

La phytothérapie consiste à utiliser des plantes sous différentes formes (ou galénique) qui peuvent avoir un effet sur la quantité d'ingrédient actif présent :

III.2.1. Infusion :

Une infusion se fait essentiellement avec les fleurs et feuilles des plantes, mais dans certains cas, il est possible de faire également infuser des racines et des écorces, en versant de l'eau bouillante sur la plante et en laissant infuser entre 10 et 20 minutes (**Nogaret, 2003**). Le thé est probablement l'une des formes d'infusion les plus connues.

III.2.2. Décoction :

Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de plante et écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion. Elle consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant infuser dans l'eau qu'on porte à ébullition, laisser refroidir et filtrer (Nogaret, 2003).

III.2.3. Macération :

Ces préparations s'obtiennent en mettant à tremper une certaine quantité d'herbes sèches ou fraîches dans un liquide : eau, vin, alcool et en laissant en contact pendant un temps plus ou moins long. Passé ce délai, chauffer doucement, filtrer et boire sans sucrer. Cette méthode est particulièrement indiquée pour les plantes riches en huiles essentielles pour profiter pleinement des vitamines et minéraux qu'elles contiennent (Delille, 2007).

III.2.4. Cataplasme

Les plantes sont hachées grossièrement, puis mises à chauffer dans une casserole recouverte d'un peu d'eau. Laissez frémir deux à trois minutes. Presser les herbes, puis les placer sur l'endroit à soigner. Couvres d'une bande ou d'un morceau de gaze (Nogaret, 2003).

III.3. Composition chimique des plantes Médicinales :

La plante possède une composition chimique très complexe, elle est constituée de centaines de substances. Elle puise par ses racines des éléments dans le sol (eaux, minéraux, oligo-éléments) et grâce à la photosynthèse réalisée dans ses feuilles, elle élabore des molécules complexes appelées composés organiques.

Les substances, que la plante élabore, ont un niveau d'intérêt différent. On les classe en deux groupes :

III.3.1. Métabolites primaires :

Tous les êtres vivants assurent leur croissance grâce à un ensemble complexe de réaction chimique parmi ces réactions « métabolisme primaire » qui permettent la synthèse et l'utilisation de substances essentielles pour la vie tel que : polysaccharides, Glucides, protéines, acides aminés, acide nucléiques et lipides (Botineau, 2010).

Les métabolites primaires sont parmi les produits biotechnologiques les plus simples et sont couramment utilisés comme matières premières pour d'autres procédés tels que la fermentation ou les synthèses chimiques. Bien qu'ils soient couramment utilisés comme compléments nutritionnels ou aromatisants, ils sont rarement utilisés comme composés

thérapeutiques (Dowdet, 2011). Par exemple, l'industrie pharmaceutique utilise largement l'amidon dans la fabrication des comprimés, ou comme base pour les poudres et les pommades (Kunkele et Lobmeyer, 2007). Aussi il utilise la pectine comme pansements gastriques pour leur effet anti-diarrhéique ou détoxifiant (Benslama, 2016).

III.3.2. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires (MS) sont des produits naturels synthétisés principalement par les bactéries, les champignons et les plantes. Ce sont des molécules de faible poids moléculaire avec diverses structures chimiques et activités biologiques. Le nom métabolite secondaire provient de la première observation que leur production n'est pas nécessaire à la croissance et à la reproduction des organismes, contrairement aux métabolites qui comprennent les lipides, les acides aminés, les glucides et les acides nucléiques. Cependant, les MS sont loin d'être secondaires et le terme « métabolites spécialisés » émerge pour les décrire. Il est désormais admis que les MS jouent un rôle clé dans la survie de l'organismes qui les produisent parce que les MS déterminent les interactions au sein de leur environnement (Collemare *et al.*, 2020).

Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures (arbres, plantes à fleurs, etc.). Ils interviennent dans leur structure (lignines et tanins) et ils exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (Louis, 2004). Ils jouent un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à l'environnement et dans la maîtrise des conditions de stress (Akula et Ravishankar, 2011). Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux à des stress variés : action anti-herbivore (comme la menthe), inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et le rayonnement UV. Ils sont également des sources importantes pour Les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Harrar, 2012 ; Akula et Ravishankar, 2011).

Malgré de nombreuses recherches, une infime partie des substances présentes dans les plantes a pu être identifiée. Mais on sait que c'est grâce à l'action combinée de toutes ces substances que les plantes doivent leurs vertus thérapeutiques.

Voici les principaux groupes de métabolites secondaires présents dans les plantes :

III.3.2.1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols se caractérisent par la présence au moins d'un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure, lui-même porteur d'un nombre variable de fonction hydroxyles OH (Hennebelle et al., 2004).

Ils sont constitués des composés chimiques aromatiques contenant au moins une fonction phénol, c'est-à-dire d'un noyau aromatique lié à un ou plusieurs groupement(s) Hydroxyle(s) (Lattanzio et al., 2006).

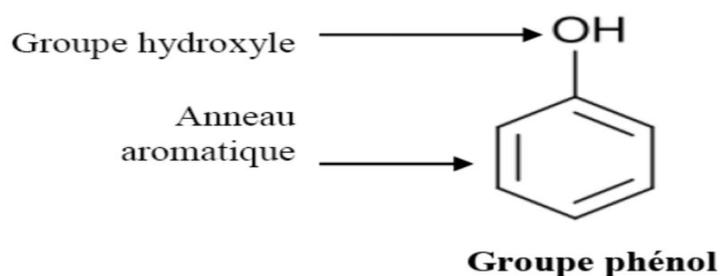


Figure 5 : Squelette de base des polyphénols (Manallah, 2012).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires courants dans toutes les espèces végétales et sont largement connus sous le nom d'antioxydants naturels. Récemment, plus divergente Activités biologiques, par exemple la prévention de l'hypertension artérielle et du durcissement des veines, Activités anti-âge, antibactériennes et anti tumorales (Yazaki et al., 2009).

Les polyphénols peuvent apporter à la santé humaine divers bénéfices qui s'intéressent particulièrement au domaine de la phytothérapie et celui de l'hygiène alimentaire parce que l'efficacité de nombreuse plantes médicinales repose sur leur teneur en composés phénoliques de plus en plus d'études montrent que les polyphénols ont le pouvoir de diminuer le risque de survenue de nombreuse pathologies, particulièrement celles liées au vieillissement et lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives). En phytothérapie les indications sont généralement communes mais certaines sont attribués spécialement à des classes suivant les bénéfices des composés (Les propriétés vasculo-protectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines). Ainsi les flavonoïdes qui proviennent du ginko (*Ginkgo biloba* L.) participe d'une part à la lutte contre la sénescence cérébrale et ses conséquences (Altération de la mémoire, confusion...) et, d'autre part, les citroflavonoïdes (Flavonoïdes provenant de divers Citrus) et le rutoside (Extrait de *Sophora japonica* L), qui sont utilisés dans le traitement des troubles liés à la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) (Hennebelle et al., 2004).

Tableau 4: Classification des composés phénoliques (Vermerris et Nicholson, 2007).

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique et aldehydecinnamyle etalcoolCinnamyle
C6-C3	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, auronnes, dyhydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavnonnes
C15	Flavnonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1- C6, C6-C2- C6	Benzophenones, Xanthonnes, stilbenes
C6, C10, C14	Quinones
C18	Betacyanines
Lignans, neolignans	Dimers ou oligomers
Lignin	Polymers
Tanins	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

III.3.2.2. Terpenoïdes :

Les terpénoïdes sont structurellement la classe la plus diversifiée de métabolites secondaires. Ils contiennent plus de 40 000 composés structurellement divers et forment la plus grande classe de métabolites végétaux. Tous les terpénoïdes sont dérivés de squelettes d'isopentane ramifiés répétés, généralement appelés isoprène unités. La décomposition thermique de la plupart des terpénoïdes donne du gaz isoprène en tant que produit (**Bhattacharya, 2019**).

Les terpènes sont largement présents comme constituants des huiles essentielles. Ils sont pour la plupart hydro- Carbones. Il existe différents groupes de terpènes selon le nombre d'unités constitutives en C5, on distingue les monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les sesterterpènes en C25, les triterpènes en C30 et les tétraterpènes en C40 (**Aldred, 2008**).

Les monoterpènes existent dans les huiles essentielles qui possèdent de nombreuses activités biologiques. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. (**Mohammedi, 2013**).

III.3.2.3. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de métabolites secondaires qui contiennent des atomes d'azote basiques. Certains composés apparentés aux propriétés neutres et faiblement acides sont également inclus dans Les alcaloïdes. En plus du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, ce groupe peut également Contiennent de l'oxygène, du soufre et, rarement, d'autres éléments tels que le chlore, le brome et Phosphore (**Bhattacharya, 2019**).

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline. Ils ont d'autres propriétés comme l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (résérpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), aussi d'autres tell que dé pressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine) (**Badiaga, 2011**).

III.2. Utilisation de la médecine traditionnelle et alternative en thérapie des maladies inflammatoires :

L'inflammation et ses pathologies associées constituent de plus en plus un problème majeur de santé tant par la majorité de personnes qui en souffrent que aussi par les différentes formes sous lesquelles elles se manifestent. Leur traitement est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires, non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes. Ces molécules présentent des effets secondaires néfastes à l'organisme surtout en cas d'utilisation à longue durée, particulièrement dans le traitement des inflammations chroniques (Chiolero *et al.*, 2000).

La prise des anti-inflammatoires présente souvent des risques gastro-intestinaux (ulcère gastroduodénaux, perforation, sténose), des risques rénaux tels que l'insuffisance rénale aiguë et parfois des complications cardiaques (Soubrier *et al.*, 2013). La recherche de nouvelles molécules médicales sans risques d'effets secondaires s'avère indispensable pour les traitements des sujets. C'est pourquoi, l'accent est de plus en plus mis sur la recherche de nouvelles molécules douées d'activités anti-inflammatoires dans les plantes médicinales.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études utilisant des modèles *in vitro* et *in vivo* de l'inflammation ont conduit à l'identification de plusieurs plantes ainsi que des composés actifs ayant des activités anti-inflammatoires. Environ 47 plantes et 52 molécules extraits de plantes ont jugées bénéfiques pour le traitement de l'inflammation ont été prouvés par des études clinique et précliniques (Maione *et al.*, 2016). Les résultats biochimiques de ces études montrent clairement le rôle potentiel des plantes et/ou leurs composés l'inhibition de la formation des principaux médiateurs pro-inflammatoires du métabolisme de l'acide arachidonique via l'inhibition des cyclooxygénases et lipoxygénases. Des exemples de plantes pour lesquels le mode d'action a été mis en évidence sont indiqués dans le **tableau 5(a et b)**:

Tableau 5(a) : Plantes possédant une activité anti-inflammatoire et leurs modes d'action (Maione et al., 2016) :

Nom scientifique	Partie utilisée	Principe actif	Mécanismes d'action	Références
<i>Andrographis paniculata</i> Nees (Acanthacées)	Partie aérienne.	- Andrograpanine	- Inhibition in vitro de l'iNos, TNF- α et IL-6.	Liu et al., (2008)
<i>Belamcanda chinensis</i> (L.) DC. (Iridacées)	Rhizomes	- Tectogénine	- Diminution in vitro de la production de No, Il-1 β et PGe2 et de l'expression d'iNos et de COX-2.	Pan et al., (2008)
<i>Cimicifuga racemosa</i> L. (Renonculacées)	Rhizomes	- Cimircémate A	- Inhibition in vitro de la production de TNF- α par régulation négative des activités de l'eRK et NF- κ B.	Yang et al., (2009)
<i>Forsythia koreana</i> Nakai (Oléacées)	Fruits	- Phylligénine	- Inhibition in vitro des activités de COX2 et iNos.	Lim et al., (2008)
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl. (Rosacées)	Feuilles	- Acide ursolique	- Inhibition in vitro de l'Il-8, activation de NF- κ B et expression de l'ARNm de l iNos.	Lee et al., (2008)
<i>Evernia prunastri</i> L. (Parméliacées)	Aboiements	- Dérivés du 2,4-dihydroxy-6-méthyl benzoate	- Activité antibactérienne in vitro contre Legionella spp.	Nomura et al., (2012)
<i>Mur de Mangifera indica</i> . (Anacardiacees)	Fruits	- Mangiférine	- In vivo Inhibition de la production d'IgE.	Rivera et al., (2006)

Tableau 5(b) : Plantes possédant une activité anti-inflammatoire et leurs modes d'action (Maione et al., 2016) :

Nom scientifique	Partie utilisée	Principe actif	Mécanismes d'action	Références
Scutellaria baicalensis Georgi (Lamiacées)	Racines	- Baicalin	Diminutions in vitro/in vivo de TNF- α et ICAM-1 dans les tissus pulmonaires	Zhou et Zhou (2009)
<i>Juniperus cedrus</i> Webb & Berthel. (Cupressacées)	Bois	- Hinokitiol,	Suppression in vivo des facteurs qui favorisent l'apoptose folliculaire	Byeon et al., (2008)
<i>Curcuma longa</i> L. (Zingibéracées)	Rhizomes	- Curcumine	Modulation in vitro/in vivo du dérèglement cutané.	Fang et al., (2003)
<i>Annona squamosa</i> L. (Annonacées)	Tiges	- 11 ent-kauranes	Inhibition in vitro de la dégranulation des neutrophiles.	Yeh et al., (2005)
<i>Clerodendrum phlomidest</i> L.f. (Lamiacées)	Feuilles	- 3-hydroxy, 2-méthoxy butanoate de sodium	Diminution in vitro/in vivo des médiateurs liés à l'inflammation synoviale	Prakash Babu et al., (2014)
<i>Psoralea corylifolia</i> L. (Fabacées)	Graines	- Psoralidine	Inhibition in vitro/in vivo de l'activité COX 2 et 5-LOX.	Yang et al., (2011)

VI. PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES :

VI.1. Présentation de la plante *Ajuga iva* (L) Schreb:

VI.1.1. Description de la plante :

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des Labiées avec plus de 300 espèces différentes. Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie (Boudjelal, 2013). L'*Ajuga iva*(L) Schreb, est l'une des plantes qui appartiennent à cette famille. Elle est distribuée dans les pays d'Afrique du Nord et d'Europe du Sud (Bouyahyaa et al., 2020). Localement, au Maroc et en Algérie, elle est connue comme « Chondgoura » ou « Chendghura » et au Nord- Sahara oriental sous le nom de « Toutoulba ».

L'*Ajuga iva* est une petite plante vivace de 5 à 20 cm de long, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes longueur entre (14 à 25 cm), Est caractérisé par : linéaires, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont colorées à violettes, roses ou jaunes, de 20 mm de longueur ; la lèvre supérieure de la Corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes latéraux sont petits, alors que le lobe central est large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre avec des spots de la même couleur de la fleur, généralement en violet. A l'intérieur de la fleur il y'a quatre étamines liées à quatre carpelles noirs. Les graines sont marronnes et ont la taille des graines de *Nigella sativa* (Halimi, 2004).

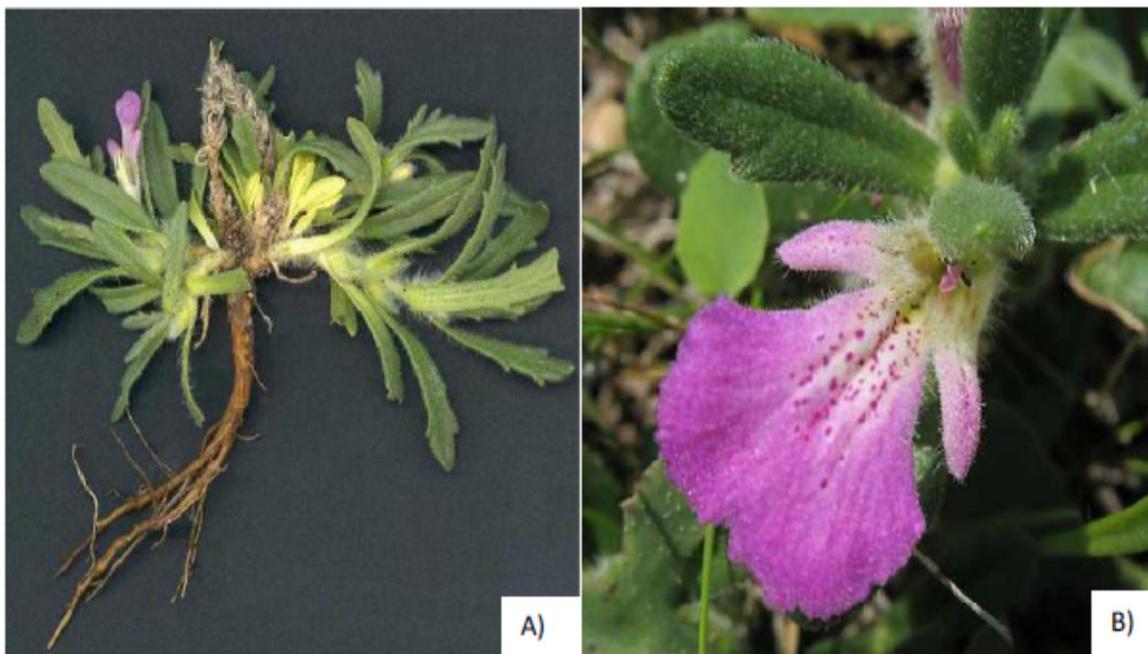


Figure 6 : La plante médicinale *Ajuga iva* L (Ben Jannet et al., 2000).

VI.1.2. Systématique de la plante :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophyta (Angiospermae)
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotyledones
- Ordre : Tubiflorae
- Famille : Lamiaceae / Labiatae
- Genre : *Ajuga*
- Espèce : *Ajuga iva*

VI.1.3. Répartition géographique :

L'*Ajuga iva* est originaire d'Europe, d'Asie et d'Afrique, mais qui pousse aussi dans l'Australie et en Amérique du Nord (Israïli et Lyoussi, 2009).

En Algérie, il est situé dans tout le tell est très rare dans le reste du pays (Chabane et al., 2013). Cette plante se développe durant la période allant du printemps jusqu'à la fin de l'été. La période de floraison est entre mai et juin (Halimi, 2004).

VI.1.4. Composition chimique de la plante :

L'*Ajuga iva* contient une grande quantité des composés phénoliques ; les flavonoïdes et les tannins. Elle contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques d'autres substances en particulier l'ajugarine (Halimi, 2004).

Les études analytiques ont montré que la plante *Ajuga iva* contient 3 composés principaux qui sont : makisterone A, 20-hydroxyecdysone et cyasterone. Elle contient aussi 24,28-déhydromakisterone A et les deux nouveaux phytoecdystéroïdes (22-oxocyasterone et 24,25-déhydroprécycasterone) (Wessner et al., 1992). Les études chimiques ont montré que cette plante contient les composés suivants : Huit phyto-ecdystéroïdes, Quatre diterpènes de type clérodane, Trois iridoïdes, Deux flavonoïdes (Bennaghmouch et al., 2002).

Tableau 6 : Composés isolés à partir d'*Ajuga iva*. (Bennaghmouch et al., 2002).

Phytoecdystéroïdes	Diterpènes	Iridoïdes	Flavonoïdes
1- 20-hydroxyecdysone	1-Ivaine I	1- Harpagide	1_Naringine
2- Cyastérone	2-Ivaine II		
3- makistérone A	3-Ivaine III	2- 6-désoxyharpagide	2_Apigénine 7-O
4- 23-hydroxycyastérone	4-Ivaine IV	3- 8-O-acétylharpagide	néohespéridoside
5- ajugastérone C			
6- 22-oxocyastérone			
7- 24,25 déhydroprécycastérone			
8- 24,28 déhydromakistérone			

VI.1.5. Utilisations traditionnelle et propriétés pharmaceutiques :

L'*Ajuga iva* est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne contre le diabète, et est connu pour avoir des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes, activité antifièvre, vermifuge (Bondi et al., 2000).

Utilisé au Maroc pour traiter d'autres maladies comme les douleurs rhumatismales, Hypertension, troubles cardiovasculaires, infection oculaire, rhumatisme, Allergie, cancer, maladies et troubles digestifs (Bouyahya et al., 2020).

C'est une plante astringente, qui assèche les écoulements et qui facilite la cicatrisation. Elle est recommandée aussi pour guérir les ulcères, les plaies et les blessures (Baba Aissa, 2000). La richesse de l'ivette lui donne plusieurs propriétés prouvées scientifiquement. C'est un agent antidiabétique, antioxydant (Bouderbala et al., 2010), antihypertensive vasodilatatrice (El-Hilaly et al., 2004).

VI.2. Présentation de la plante *Artemisia herba alba* Asso :

VI.2.1. Description de la plante :

L'*Artemisia herba alba* Asso est une espèce de plantes steppiques du genre *Artemisia*. Ce genre appartient à la famille des *Astéracées*, il comprend des plantes médicinales importantes qui font actuellement l'objet d'une attention phytochimique en raison de leur diversité biologique et chimique.

Un grand nombre d'armoises (environ 250 espèces) sont réparties à travers l'hémisphère Nord. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie ; certaines sont rares et disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites ; d'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendue (Bouzidi, 2016).

Plusieurs noms sont attribués à la plante *Artemisia herba alba* Asso (Messai, 2015) : Armoise blanche (en France) ; Worm Wood (en Angleterre) ; Shih ou Shihkhorassani (En Afrique du Nord et au Moyen-Orient) ; Kaysoum (Au Maroc occidental).

L'*Artemisia herba alba* Asso est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long qui caractérisé par une odeur de thymol. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes (Nawwar et al., 1989).

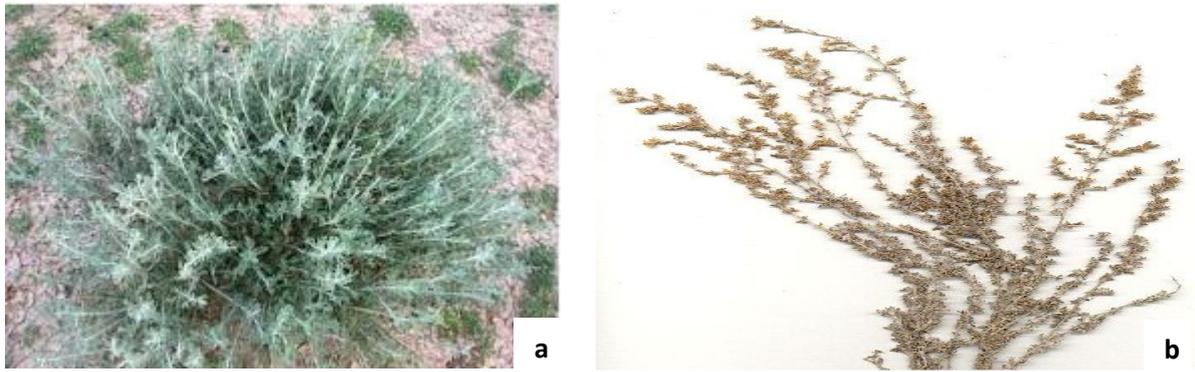


Figure 7(a) et (b) : La plante médicinale *Artemisia herba alba* Asso

VI.2.2. Systématique de la plante :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophyta (Angiospermae)
- Classe : Dicotyledones
- Ordre : Asterales
- Famille : Asteraceae
- Genre : *Artemisia*
- Espèce : *Artemisia herba alba* (Asso)

VI.2.3. Répartition géographique de la plante :

L'*Artemisia herba alba* Asso, est un arbuste largement réparti dans les zones semi-arides à arides autour du bassin méditerranéen, les steppes de la région irano-touranienne, de la péninsule ibérique, l'Afrique du nord (Algérie, Maroc et Tunisie) et le Moyen-Orient. En Algérie, elle est abondante dans les larges steppes des hauts plateaux et le désert du Sahara (Bertella, 2019).

VI.2.4. Composition chimique de la plante :

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de l'*Artemisia herba alba* Asso dont les plus importants sont les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides (Marco, 1989).

Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituels. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que quercétine-3-glucoside et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracées (Saleh et al., 1987 ; Salah et Jager, 2005).

En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso est riche en monoterpènes, triterpènes pentacycliques, santonines, coumarines et tanins (Mohamed et al., 2010).

VI.2.4. Utilisations traditionnelle et propriétés pharmaceutiques :

En générale, le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne pour traiter plusieurs maladies telles que les infections urinaires (**Bencheqroun et al., 2012**), le diabète (**Bouldjadj, 2009**), l'hypertension artériel (**Mohamed et al., 2010**), les troubles gastriques tels que la diarrhée et les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies externes (**Seddik, 2010**), la bronchite, l'abcès et comme vermifuge (**Gharabi et al., 2008**).

Plusieurs études scientifiques ont également prouvé l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Boudjeladl, 2013**). Des recherches *in vitro* ont montré que la plante inhibe l'action hémolytique des venins de serpents et scorpions (**Sellal et Alkofahi, 1996**).

Matériel **et méthodes**

MATERIEL ET METHODES :

I. Matériel :

I.1. Matériel végétal :

Les deux espèces sélectionnées « *L'Artemisia herba alba Asso et l'Ajuga iva* » ont été achetées d'un herboriste situé au niveau de la wilaya de Constantine. La partie aérienne de chaque plante (feuilles, fleurs et tiges) est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre. Devenue sèche, la partie aérienne de chaque plante est moulue, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation.

I.2. Matériel animal :

Les rats utilisés pour l'étude *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire sont des rats mâles de souche *Wistar albinos*, pesant entre 150 et 270 g (au début de l'expérimentation), produits au niveau de l'animalerie du département de biologie animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université des frères Mentouri Constantine 1.

Les rats sont logés dans des cages en plastique ayant un couvercle en acier inoxydable de dimensions (36cm ×25cm) où chaque cage regroupe 6 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture « type d'aliment standard, fournies par l'Office National des Animaux du Bétail de Ain M'Lila (ONAB) ».

Avant leur utilisation les rats subissent une période d'adaptation de deux semaines au niveau de l'animalerie à une température ambiante (de 20 à 24°C) et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique. La litière utilisée est de la sciure renouvelée 3 fois par semaine pour garder le bon conditionnement hygiénique des rats.

L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur permanent.

I.3. Réactifs :

- Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude sont de grade analytique (Le méthanol, l'éthanol, le formol) ont été fournis par *Sigma- Aldrich*.
- Les différents acides sont : L'acide ascorbique, l'acide gallique et l'acide Tannique de *Sigma*.
- Les réactifs chimiques sont : L'albumine sérique bovine (BSA) et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), le phosphate de sodium (Na₃PO₄) ont été fournis par *Sigma-Aldrich*, le Folin-Ciocalteu (FCR) par *Biochem*.

- Les sels sont : Bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), Chlorure de Sodium (NaCl), Sodium phosphate dibasique (Na_2HPO_4), potassium phosphate dibasique (K_2HPO_4), potassium dihydrogène phosphate (KH_2PO_4) de *Sigma*, sodium dihydrogène phosphate (NaH_2PO_4) de *Labosi*.
- D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, tris base ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH}_3)$) par *Sigma-Aldrich*, le diclofénac sodique fournis par SAIDAL.

I.4. Appareils :

- pH mètre (*MeterLab –PHM210*)
- Centrifugeuse (*Sigma 3K30*)
- Spectrophotomètre (*Perkin Elmer- UV/Vis Lambda 25*)
- Bain-marie (*MEMMERT*)
- Etuve (*MEMMERT*)
- Balance de précision (*Explorer OHAUS*)
- Agitateur avec plaque chauffante (*Kika werk- RCT basic*)
- Vortex.

II. Méthodes :

II.1. Préparation de l'extrait aqueux infusé :

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de chaque plante est réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillon.

Après broyage de la partie aérienne de chaque plante par un moulin à café et chauffage de l'eau distillée à 100°C par une plaque chauffant ; 50 g de poudre de la plante « *Artemisia herba alba Asso ou Ajuga iva* » sont additionnés à 500 ml d'eau distillée bouillon puis laissé 30 minutes pour infusion avec agitation de temps en temps. L'infusion obtenu est ensuite filtrée trois fois sur du coton hydrophile, centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes pour se débarrasser des débris puis filtré sous vide à l'aide du papier Wattman N°1.

Le filtrat ($450 \text{ ml} \pm 20$) est ensuite séché à l'étuve à 40°C . La poudre obtenue constitue l'extrait aqueux de la plante.

La congélation des extraits en poudre à -20°C est une condition nécessaire afin de garder intacte les molécules extraites de la partie aérienne de l'*Artemisia herba alba Asso* et de l'*Ajuga iva*.

L'extraction est faite au niveau du laboratoire de Génie Microbiologique et Applications de l'université Mentouri Constantine1.

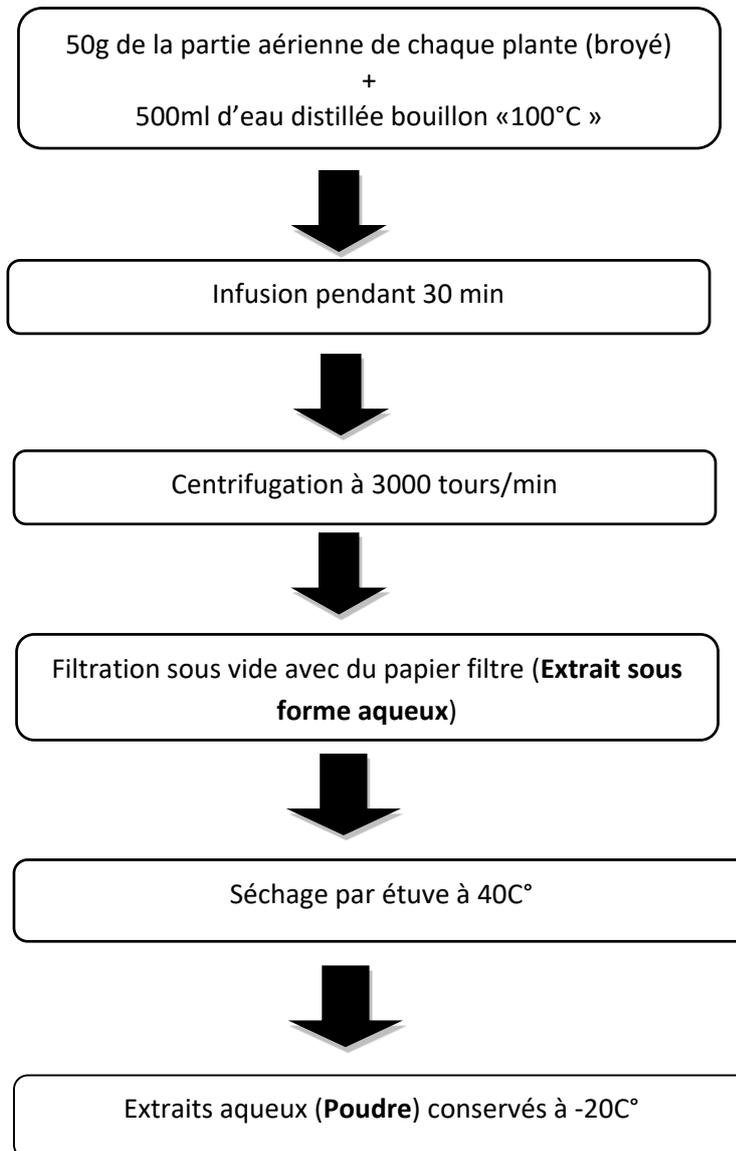


Figure 8 : Protocole de préparation d'extract aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva*

II.2. Rendement de l'extraction :

Le rendement désigne la masse de l'extract déterminée après séchage, et exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction. Il est calculé suivant la formule présentée ci-dessous :

$$R (\%) = [M / M0] \times 100$$

- **R (%)** : Rendement exprimé en %
- **M** : Masse en gramme de l'extract sec obtenu
- **M0** : Masse en gramme de la poudre végétale utilisée (50g)
-

II.3. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes :

Les tests phytochimiques sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal par des réactifs chimiques spécifiques.

La caractérisation quantitative des extraits aqueux des deux plantes a été réalisée de la manière suivante :

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie en utilisant le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu, suivant le protocole appliqué en 2006 par Wong et ses collaborateurs.

II.3.1.1. Principe :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé et al., 2005).

II.3.1.2. Mode opératoire :

Dans des tubes à essai, 125 μ l de chaque extrait est mélangé avec 500 μ l d'eau distillée et 125 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Après 5 minutes, et afin de stabiliser la réaction, 1250 μ l de 2% bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) et 1000 μ l d'eau distillée sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique et l'acide tannique à différentes concentrations (0-500 μ g/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique ou d'acide tannique par g poids sec de l'extrait (mg EAG/g EXT), (mg EAT/g EXT). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

Les solutions mères des échantillons à doser ainsi que la gamme étalon sont préparées le même jour et dans les mêmes conditions opératoires.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

II.3.2.1. Principe :

Le dosage des flavonoïdes des deux extraits a été réalisé selon la méthode de Bahorun et ses collaborateurs (1996). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fe^{+2} , Al^{+3}), Ceci traduit le fait que le métal perd 2 électrons pour s'unir à 2 atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune produite possède une absorbance maximale à 430 nm, l'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.3.2.2. Mode opératoire :

Dans des tubes à essais, 1 ml de chaque extrait préparé dans du méthanol est ajouté à un volume égal d'une solution d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (trichlorure d'aluminium 2%, dans le méthanol). Le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance est lue à 415 nm après 1 heure d'incubation.

La courbe d'étalonnage est effectuée par la quercétine à différentes concentrations (0-300 $\mu\text{g/ml}$), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent de quercétine par g poids sec de l'extrait (mg EQ/g EXT). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

II.4. Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* :

II.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) :

II.4.1.1. Principe :

Afin d'évaluer l'activité anti inflammatoire des extraits de plantes, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines décrit par Kandikattu (2013). Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA, provoquée par la chaleur 72°C, par les extraits de plantes.

II.4.1.2. Mode opératoire :

Pour d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, une gamme de concentrations de chaque extrait végétal, allant de 0 à 10 mg/ml, est réalisée. 1ml de chaque dilution est ajouté à 1 ml de la solution de BSA à 0,2 % préparée dans le Tris-HCl (0,05 M à pH 6,6). Le mélange est ensuite incubé à 37 °C pendant 15 min puis à 72°C pendant 5 min. A la fin de l'incubation, et après l'avoir vortexé, le mélange est refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6) est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus.

Dans ce test, le diclofénac a été utilisée comme anti-inflammatoire de référence. L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux échantillons.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{[(\text{DO controle} - \text{DO blanc}) - (\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})]}{(\text{DO controle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA
- **DO Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- **DO Contrôle** : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA.

II.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

L'activité anti-inflammatoire peut être étudiée *in vitro* en utilisant la membrane des globules rouges car elle est analogue à la membrane lysosomale et pourrait être extrapolée à la stabilisation de la membrane lysosomale. Sa stabilisation par un médicament ou par des échantillons peut être considérée comme une mesure de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la capacité des extrait aqueux de *l'Artemisia herba alba Asso* et de *l'Ajuga iva* à empêcher l'hémolyse des globules rouges des rats (GRr), induite d'une part par un stress osmotique et thermique en même temps. L'exposition des érythrocytes à une concentration saline hypotonique et à la chaleur conduit à la rupture de leurs membranes avec libération de leur contenu cytoplasmique (hémoglobine). L'intensité de l'hémolyse est estimée par la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine libérée

II.4.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges :

Le sang utilisé pour préparer les suspensions sanguines a été prélevé sur rats mâles de souche *Wistar albinos*. Il a été prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital et mis dans des tubes contenant de l'héparine pour prévenir la coagulation.

Une fois collectée, il a été centrifugé à 1300 g pendant 10 min à 4°C pour séparer les érythrocytes des autres éléments constitutifs du sang. Après avoir retiré le plasma, le culot

érythrocytaire est lavé trois fois successives avec de l'eau physiologique (0,9 % NaCl) jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 1300g, pendant 5 min. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de globules rouges de 10 % (v/v) avec du tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl).

II.4.2.2. Test de l'innocuité des extraits vis-à-vis des globules rouges :

Avant de s'intéresser aux propriétés de stabilisation membranaire des extraits de plantes, un test d'innocuité vis-à-vis des cellules érythrocytaires est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser.

- **Mode opératoire :**

Pour ce test, une gamme de concentrations des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* allant de 0 à 10 mg/ml a été préparée dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). 800 µl de différentes concentrations des deux extraits à tester a été mélangée avec 200 µL de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 min, puis centrifugé à 1300g pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été lu à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Le diclofénac est utilisé comme molécule de référence dans cette expérience.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 200 µL de la suspension de globules rouges et 800 µL d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc constitué de 0,8 ml d'extrait et de 0,2 ml de tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl) est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus.

Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc :** Absorbance de l'extrait
- **DO Echantillon :** Absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- **DO Contrôle :** Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

II.4.2.3. Evaluation de l'effet des extraits aqueux des plantes sur la stabilisation de la membrane des globules rouges :

Le test se base sur l'effet des extraits aqueux des plantes étudiées sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de Ganesh Gadamsetty et ces collaborateurs (2013).

- **Mode opératoire :**

Dans des tubes à essais, 0,5 ml d'extraits aqueux des plantes (dissous dans NaCl 0,9%), 1.5 ml du tampon phosphate (0,15 M, pH 7,4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,36 %) ont été mélangés et incubés à 37 °C pendant 20 min. Par la suite, un volume de 0,5 ml de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté dans chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56 °C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau ambiante pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 1300g pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre,

Le contrôle consiste en un mélange de 2 ml de la solution hyposaline, 2 ml du tampon PBS, 0,5 ml de la suspension de globules rouges et 0,5 ml d'eau physiologique.

L'acide gallique est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus.

Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait
- **DO Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ou du standard (test).
- **DO Contrôle** : Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

II.5. Méthode de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* :

II.5.1. Induction de l'œdème inflammatoire aigu de la patte de rat par le formol :

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* a été évaluée *in vivo*, par la méthode de l'œdème de la patte de rat induit par le formol selon la méthode de Rahmani et ces collaborateurs (2016).

L'œdème est provoqué par l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de formol à 1%. Selon laquelle l'inflammation est induite par injection de formol au niveau de la voûte plantaire de la patte droite du rat. L'œdème causé par cet agent photogène sera traduit en volume et mesuré ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire (**Rahmani et al.,2016**). Pour les témoins, un volume équivalent de chlorure de sodium à 0.9 % a été administré dans l'aponévrose de la plante du pied.

II.5.2. Traitement des animaux :

Les rats répartis en 4 lots de 6 (6 normaux et 18 traités par le formol) ont été pesés puis mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation. Pour chaque rat, le volume initial (V0) de la patte postérieure droite a été mesuré avant les traitements. Les différents traitements ont été administrés par voie intra-péritonéale :

- **Groupe I (6 rats) : Formol témoin ou contrôle négatif** : Les rats reçoivent par voie intra péritonéal de l'eau physiologique en raison de 10 ml/kg et 30 min après, 2,5ml / kg de formaldéhyde 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Groupe II (6 rats) : Formol + Extrait aqueux de l'Artemisia herba alba Asso** : Les rats reçoivent par voie intra péritonéal l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* en raison de 200 mg/kg et 30 min après, 2,5ml / kg de formaldéhyde 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Groupe III (6 rats) : Formol + Extrait aqueux de l'Ajuga iva**: reçoit par voie intra péritonéal l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* en raison de 200 mg/kg et 30 min après, 2,5ml / kg de formaldéhyde 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.
- **Groupe VI (6 rats) : Formol + Diclofénac** : reçoit par voie intra péritonéal une dose de 10 mg/kg de diclofénac et 30 min après, 2,5ml / kg de formaldéhyde 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.

Les volumes des pattes injectées ont été mesurés 0, 30, 60, 120, 180 minutes après injection du formol.

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du volume de la patte de rat suivant la formule :

$$\% \text{ AUG} = \frac{(V_t - V_0)}{(V_0)} \times 100$$

- **Vt** : Volume de la patte au temps t quelconque.
- **V0** : Volume initial de la patte (T0 : avant injection du formol).

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème selon la formule :

$$\% \text{ INH} = \frac{(\% \text{ AUGTemoin} - \% \text{ AUGTraité})}{(\% \text{ AUGTemoin})} \times 100$$

II.6. Evaluation statistique :

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2019. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type. Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Résultats **et discussion**

I. Rendement de l'extraction :

Les résultats des rendements et caractéristiques des extraits aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba Asso* et d'*Ajuga iva* sont représentés dans le **tableau numéro 6**. Nous avons constaté que le rendement le plus élevé et celui de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* ($11,32 \pm 0,28\%$) suivi par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* ($8,08 \pm 0,02\%$).

Tableau 6 : Le rendement des extraits aqueux d d'*Artemisia herba alba Asso* et d'*Ajuga iva* :

Le poids du matériel végétal en (g)	Les extraits	Aspect	Couleur	Le poids des extraits poudre en (g)	Le rendement en (%)
50	EXT AQ ART	Poudre	Marron foncé	5,66	$11,32 \pm 0,28$
	EXT AQ AJU	Poudre	Marron clair	4,04	$8,08 \pm 0,02$

Ces résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par Cherif et Louzini (2016) et Beddazekri et Ghemam (2017) auxquels ils ont enregistré des rendements plus élevés pour les deux plantes ($18,8 \pm 0,80\%$ pour l'*Artemisia herba alba Asso* et $13,1\%$ pour l'*Ajuga iva*). Cependant nos résultats pour l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* s'accordent avec ceux publiés par Habera et Laoudi (2019) qui ont enregistré un rendement de $15,68 \pm 0,40\%$.

Les rendements d'extraction dépendent de plusieurs facteurs à savoir la méthode et les conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuées (le temps de macération, la température, le choix du solvant) (Telli et al., 2010 ; Dent et al., 2013). Le contenu en composés chimiques, l'origine géographique (climat et sol), la saison de la récolte, les conditions et la durée de stockage, les parties de la plante utilisées dans l'extraction influencent également le rendement d'extraction (Fellah et al., 2006).

II. Caractérisation quantitative des extraits de plantes :

II.1. Teneur des extraits en polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de Wong et ses collaborateurs (2006) avec le réactif de Follin-Ciocalteu.

La teneur en composé phénolique des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et une autre d'acide tannique, exprimés en µg/ml, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Pour l'acide gallique : $y=0,0035x-0,367$ avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,9909$ et pour l'acide tannique : $y= 0,002x-0,010$ avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,996$), comme indiqué ci-dessous ;

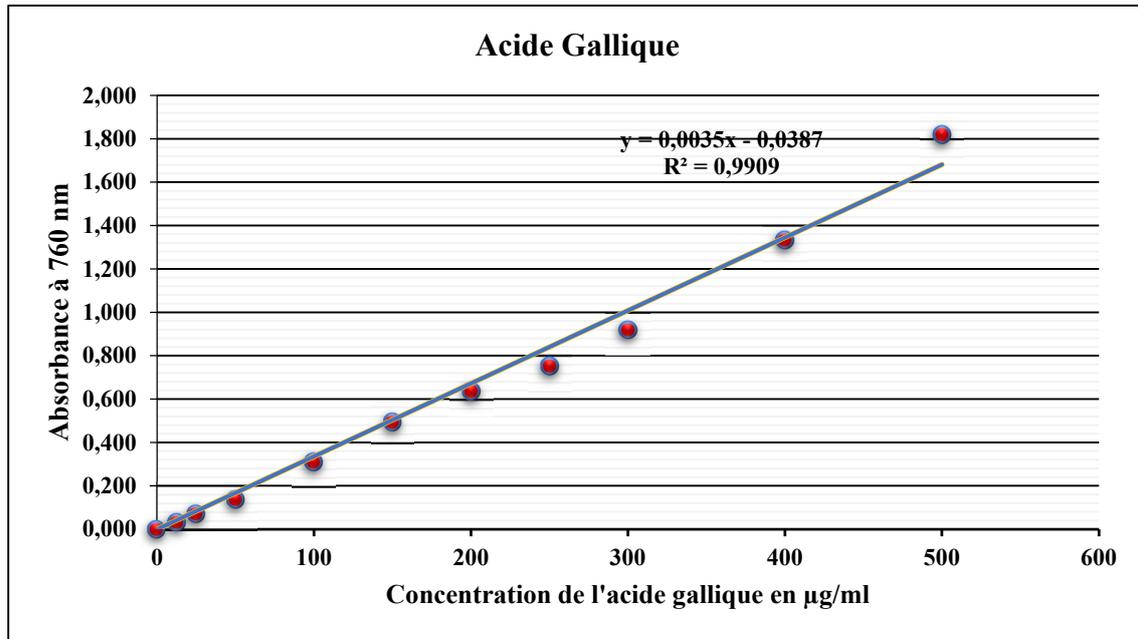


Figure 9(a) : Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique ((Moyenne ± SD de trois essais)

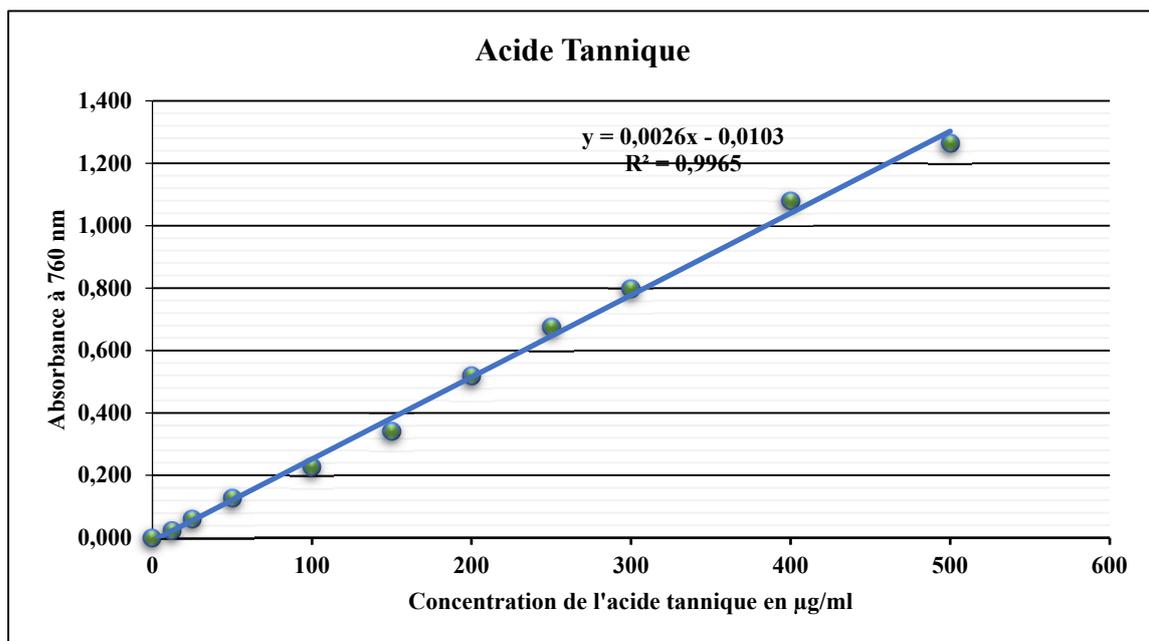


Figure 9(b) : Droite d'étalonnage de l'Acide Tannique ((Moyenne ± SD de trois essais)

Les résultats des taux en polyphénols pour les deux extraits aqueux sont représentés dans la **figure 10 (a)**. Nous avons obtenu une valeur de $94,50 \pm 0,33$ mg EAG/g EXT dans l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et $42,69 \pm 0,99$ mg EAG/g EXT dans l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*. Selon les valeurs enregistrées nous avons remarqué que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* est le plus riche en polyphénols.

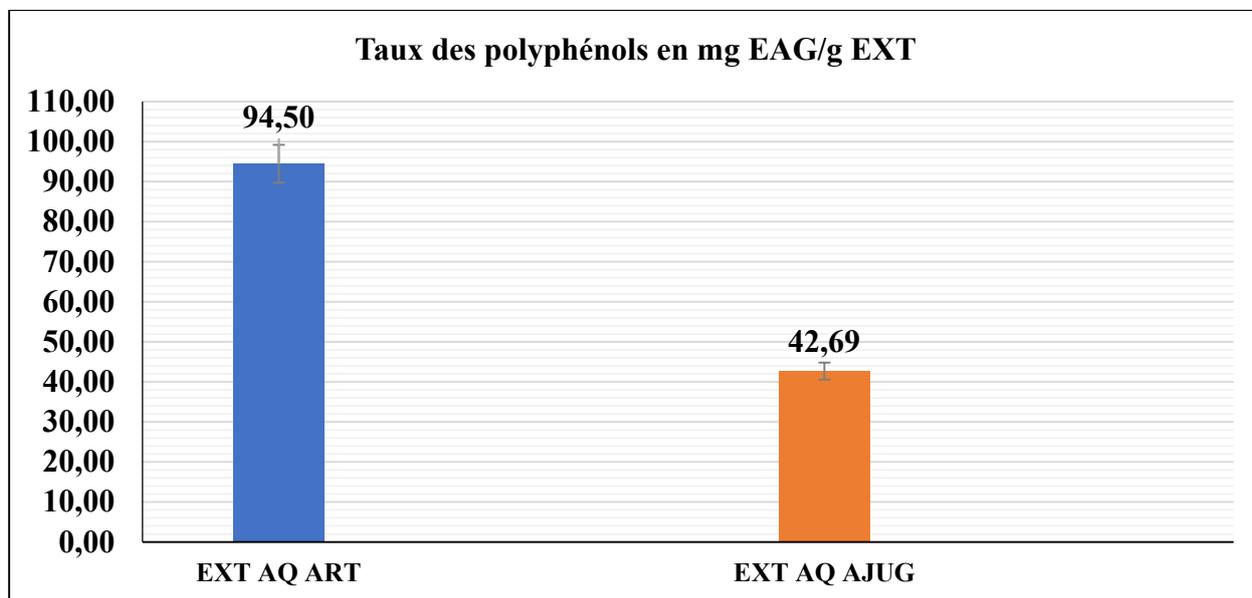


Figure 10(a) : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide gallique.

Les mêmes remarques ont été enregistrées (**figure 10(b)**) à partir de la courbe d'étalonnage d'acide tannique où nous avons constaté le taux en polyphénols de l'extrait aqueux d'*Artemisia Herba Alba* ($105,36 \pm 0,44$ mg EAT/g EXT) plus élevée que celui de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* ($35,62 \pm 1,33$ mg EAT/g EXT).

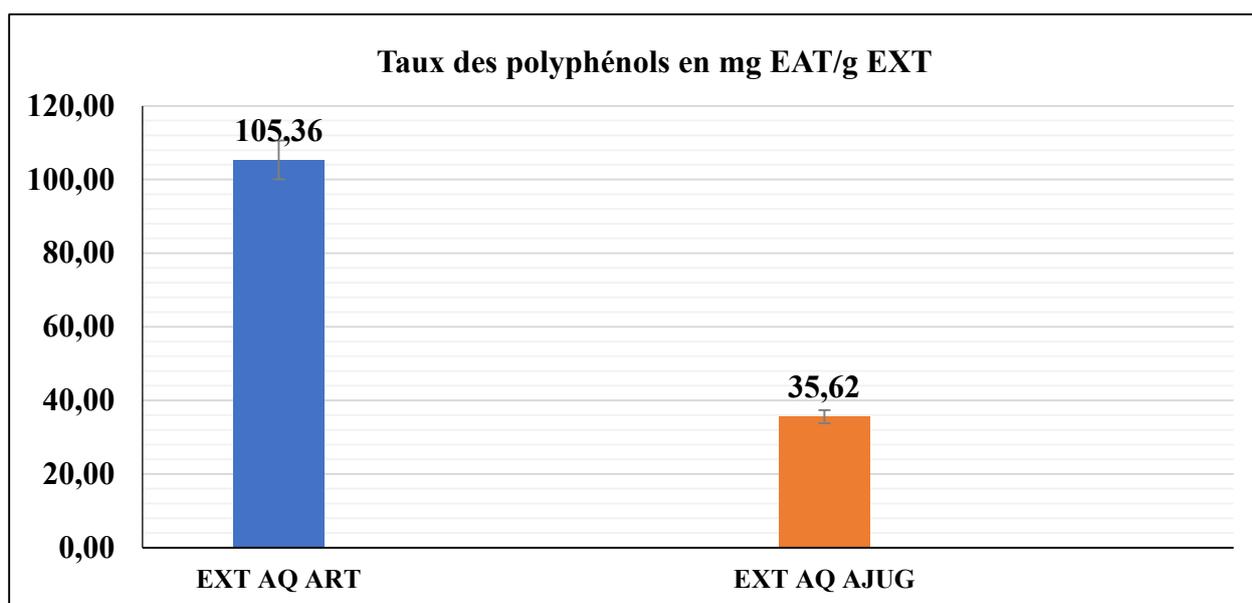


Figure 10(b) : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits équivalant d'acide Tannique.

Le taux en composés phénoliques que nous avons enregistré pour l'extrait aqueux d'*Artemisia herba Alba* concorde avec les résultats de Djidel et ces collaborateurs (2012) (133,43 mg EAG/g EXT), Cherif et Louzini (2016) ($0,821 \pm 0,061$ mg EAG/g EXT) et Habera et Laoudi (2019) (97,17 mg EAG/g EXT).

Concernant l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*, nos résultats sont largement élevés que ceux enregistré par Bougandoura (2011) et Beddazekri et Ghemem (2017) (10,44 mg EAG/g EXT et 9,25 mg EAG/g EXT respectivement).

Les teneurs des polyphénols totaux déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente à l'acide gallique (EAG). Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournies des informations directes sur la quantité des groupes phénolique antioxydant de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ce derniers (Balasunderam et al., 2006).

Le profil polyphénolique des extraits de plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels ; le type de la plante, les conditions environnementales, les conditions climatiques ainsi que les conditions de stockage, la période de collecte, la maturité et les facteurs génétiques (Falleh et al., 2008).

Le contenu phénolique dans les extraits des deux plantes dépend également du type d'extrait, c'est à dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. Chirinos et ces collaborateurs (2007) affirment que l'extraction par l'eau pure mène à un extrait ayant une teneur élevée en impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques. D'après Cazes (2005), les substances moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolées quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction.

Le type de standard utilisé (Acide gallique, acide tannique ou autre) peut aussi changer les résultats.

II.2. Teneur des extraits en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) adaptée de Bahroum et ces collaborateurs (1996). La quercétine a été utilisée comme étalon et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans un courbe d'étalonnage (**figure 11**), ayant l'équation : $y=0,025x+0,093$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0,973$, comme indiqué ci-dessous :

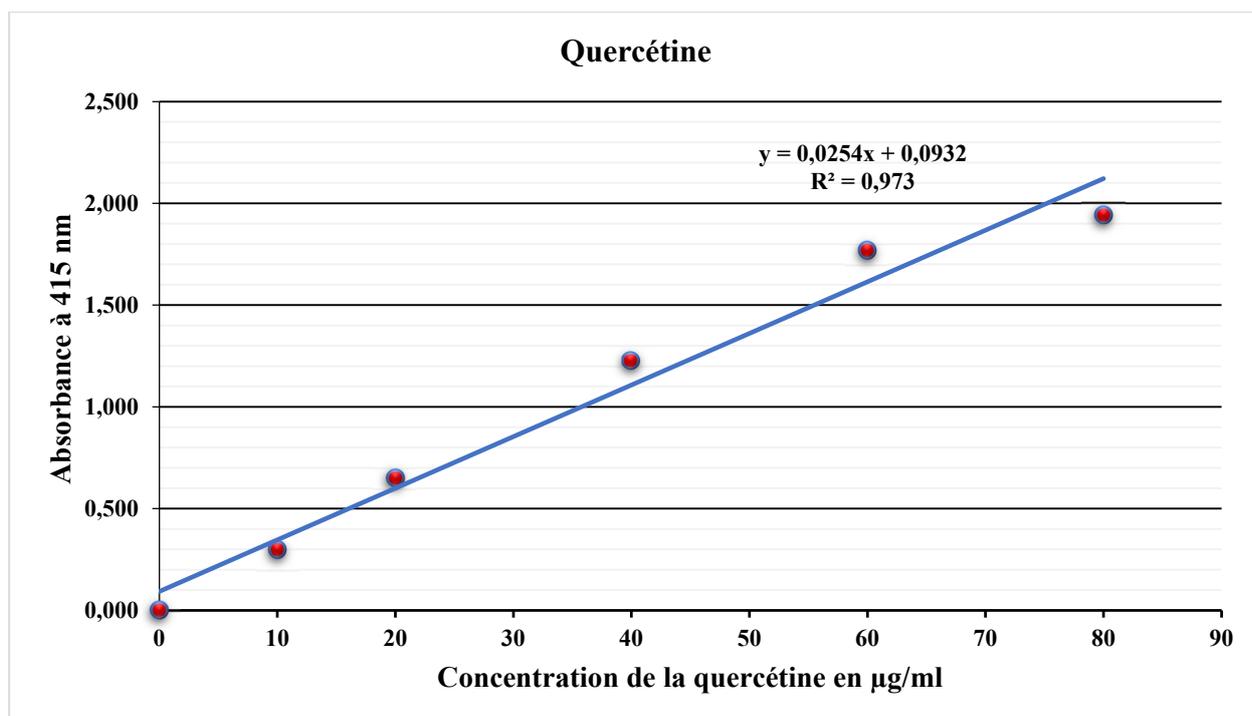


Figure 11 : Droite d'étalonnage de la quercétine (Moyenne \pm SD de trois essais)

La figure 12 montre que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso contient plus de flavonoïdes ($31,14 \pm 1,90$ mg EQUÉ/g EXT) comparativement à l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* ($23,74 \pm 1,21$ mg EQUÉ/g EXT). Ces résultats sont en corrélation avec ceux des polyphénols.

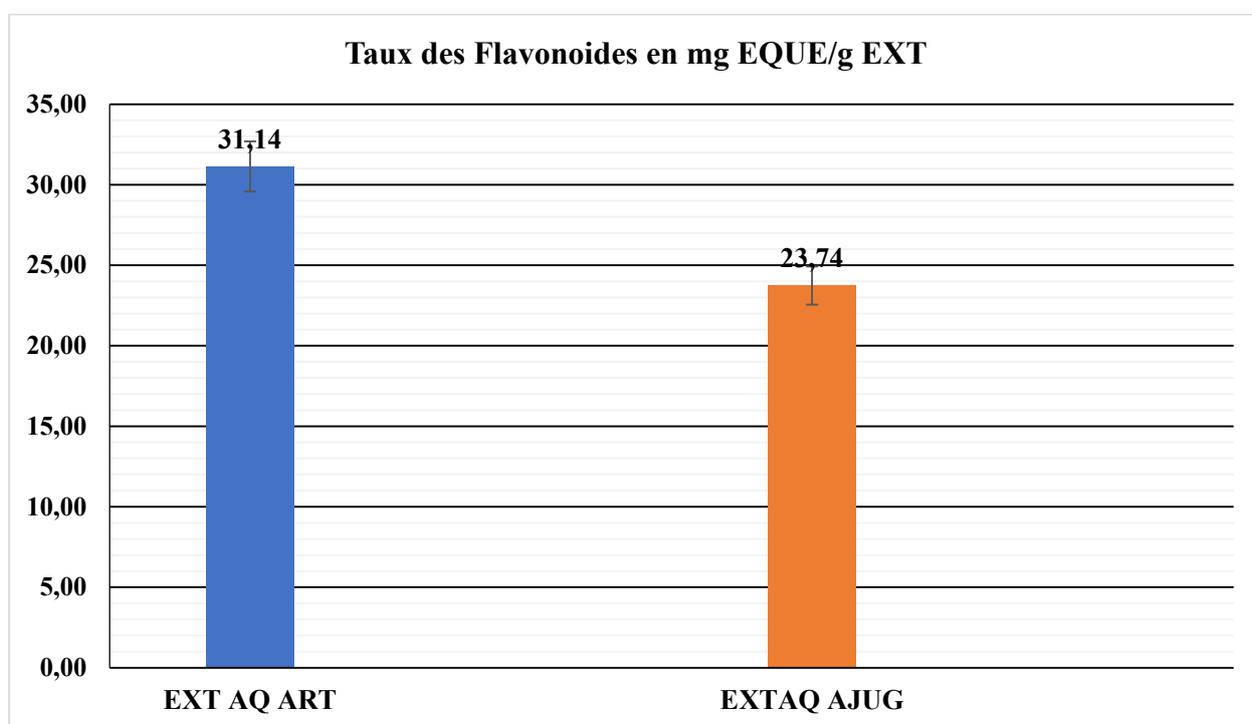


Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux équivalant quercétine

Les résultats de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba Alba* sont en accord avec ceux publiés par Habera et Laoudi (2019) qui ont enregistré un taux de 35,61 mg EQUÉ/g EXT. Ceci confirme la richesse de la plante étudiée en flavonoïdes. Cependant, ces résultats restent largement inférieurs à ceux de Saoudi et ces collaborateurs (2010) (131,89mg EQUÉ/1g EXT).

Par contre, la teneur en flavonoïdes pour l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* obtenue dans notre étude a été largement supérieur à celle enregistré par Bougandoura (2011) (0,629 mg EQUÉ/1g EXT) et Beddazekri et Ghemam (2017) (7,37mg EQUÉ/1g EXT).

D'après Lapronik et ces collaborateurs (2005), Le dosage des flavonoïdes est basé sur la solubilisation des composés flavonoïdique dans les solvants. Une solubilité qui dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes.

De même, plusieurs études ont montré que les facteurs extrinsèques, tels que les facteurs géographiques, facteurs climatiques, les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante et la durée de stockage peuvent influencer fortement la teneur des flavonoïdes dans les extraits (Aganga et Mosase, 2001).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits des plantes dépend également type de standard utilisé (quercétine) qui peut aussi changer les résultats (Ghedadba, 2015).

III. Activité anti-inflammatoire *in vitro* :

III.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :

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 inflammatoires 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, 1964 ; Barros et al., 2008).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométacine n'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.

La **figure 13** représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations en extrait. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le diclofénac, considérée dans ce test comme molécule de référence.

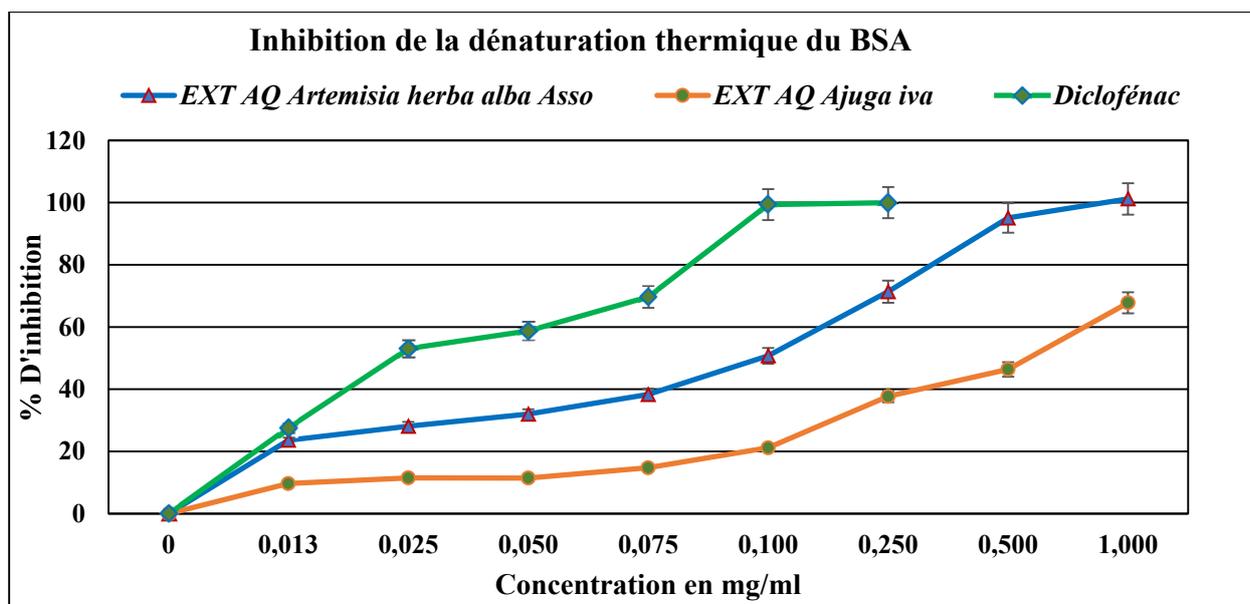


Figure 13 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA

D'après les résultats, il semble qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par les deux extraits aqueux des plantes étudiées.

Nos résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA pour les extraits était inférieur à celui du diclofénac pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 0,1 mg/ml le diclofénac a relevé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de $99,37 \pm 0,30\%$. Concernant les deux extraits, pour une concentration 1mg/ml, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA est de $101,72 \pm 0,01\%$ pour l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et $67,78 \pm 0,44\%$ pour l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*.

La capacité anti-inflammatoire des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du BSA. Nous avons déterminé pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du BSA ou IC₅₀. À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 7 : le pouvoir anti-inflammatoire *in vitro* (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) d'un anti-inflammatoire de références et des extraits testés

	IC ₅₀ ± Ecart type (En µg /ml)
Diclofénac	035,29 ± 2,99
EXT AQ <i>Artemisia herba alba Asso</i>	136,31 ± 5,14
EXT AQ <i>Ajuga iva</i>	630,14 ± 5,19

D'après les résultats présentés dans le **tableau numéro 7**, l'IC50 obtenu pour le diclofénac, utilisé comme molécule de référence, est largement inférieur à celle de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et de l'*Ajuga iva* ($35,29 \pm 2,99 \mu\text{g/ml}$ contre $136,31 \pm 5,14 \mu\text{g/ml}$ et $630,14 \pm 5,19 \mu\text{g/ml}$ respectivement).

D'après ces résultats, on peut conclure que les extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* possèdent une activité anti-inflammatoire par inhibition de la dénaturation des protéines. Les deux plantes sont donc capables d'inhiber la production d'auto-antigènes protéiques induisant une réponse immunitaire et participant ainsi à l'entretien de l'inflammation ce qui a pour incidence de nombreuses maladies inflammatoires notamment la polyarthrite rhumatoïde (Sharma, 2011 ; Habibur et al., 2015).

III.2. Activité anti-hémolytique :

III.2.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire :

Les taux d'hémolyse obtenus après incubation des érythrocytes en présence des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva* sont calculés en référence à un témoin positif (GR avec l'eau distillée) et à un témoin négatif (L'extrait avec le tampon phosphate salin). Ces résultats sont regroupés dans l'histogramme suivant (**figure 14**):

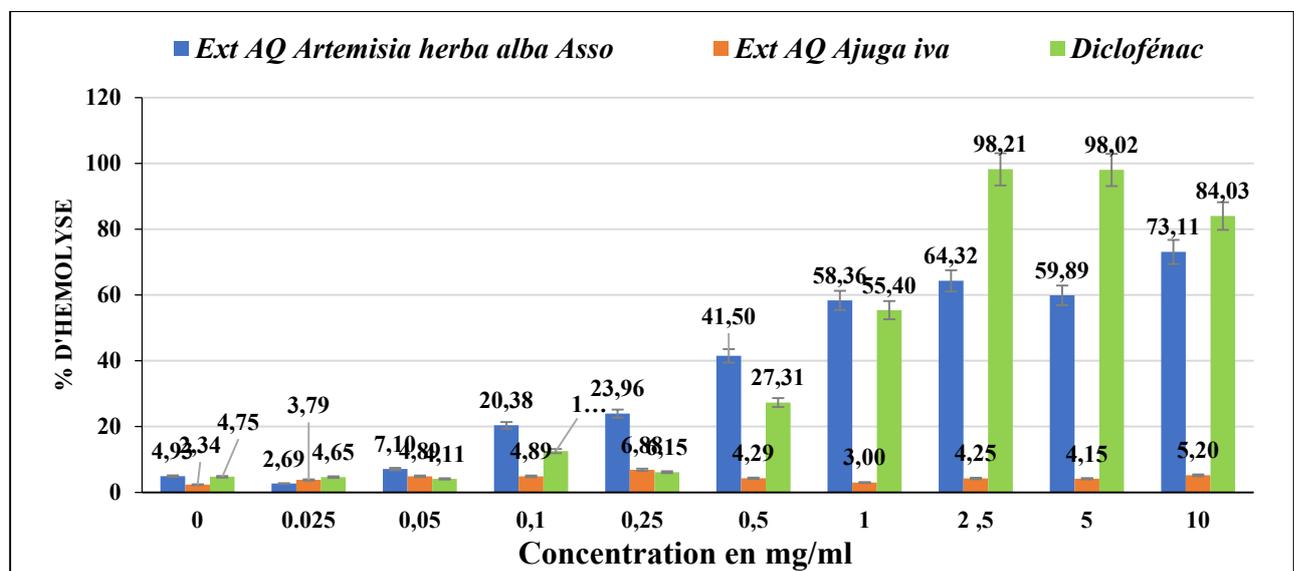


Figure 14 : Pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration des extraits aqueux des plantes

Les résultats que nous avons enregistrés montrent que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* présente une activité hémolytique modérée allant de $3,79\% \pm 0,38$ à $5,2\% \pm 0,27$ à des concentrations variant de 0,025 à 10mg/ml.

Ces résultats, ne concordent pas avec ceux d'Abbou (2016) et de Chihani et Oukas (2018) qui ont remarqué, qu'à une concentration de 2 mg/ml, l'*Ajuga iva* possède un effet hémolytique très élevé (71,31%).

Gangwar et ces collaborateurs (2014) suggèrent qu'une hémolyse de 14% par l'extrait aqueux de *Mallotus philippensis* à la concentration de 100 µg/ml est considérée comme un taux non hémolytique et que cet effet protecteur pourrait être attribué aux composés phénoliques.

Selon Bonarska-kujawa et ces collaborateurs (2011), les composés phénoliques s'incorporent dans la couche hydrophile externe et n'ont aucun effet sur la fluidité de la partie hydrophobe. Ainsi l'action protectrice des ces composés en ce qui concerne les membranes biologiques dépend du taux d'incorporation dans la partie hydrophile de cette dernière.

Nos résultats indiquent également que la lyse des érythrocytes est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et le diclofénac ou on a constaté un faible taux d'hémolyse à une concentration de 0,25 mg/ml (respectivement $23,96 \pm 0,51\%$ et $6,15 \pm 0,40\%$) par rapport à l'hémolyse très élevée à une concentration de 10mg/ml (respectivement $73,11 \pm 2,44\%$ et $84,03 \pm 0,59\%$). La toxicité de l'*Artemisia herba alba Asso* pourra être attribuée à sa richesse en alcaloïdes et en polyphénols.

III.2.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :

Les membranes plasmiques demeurent des structures fluides et le maintien de la fluidité est un prérequis, pour la fonction, la viabilité, la croissance et la reproduction des cellules (Portier et al., 2007). De ce fait, des modèles divers ont été proposés et employés pour examiner l'efficacité anti-inflammatoire des extraits de plantes, notamment le test de stabilisation de la membrane de globule rouge, via l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique, ainsi qu'à une température élevée, en raison de la ressemblance de la membrane de lysosome avec celle du globule rouge (Reshma et al., 2014 ; Oyedapo et al., 2015).

Les résultats de l'effet protecteur des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et d'*Ajuga iva* contre l'hémolyse des globules rouge induite par une solution hypotonique associée à une chaleur, sont présentés dans la **figure numéro 15**. Pour ce test, l'acide gallique est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire.

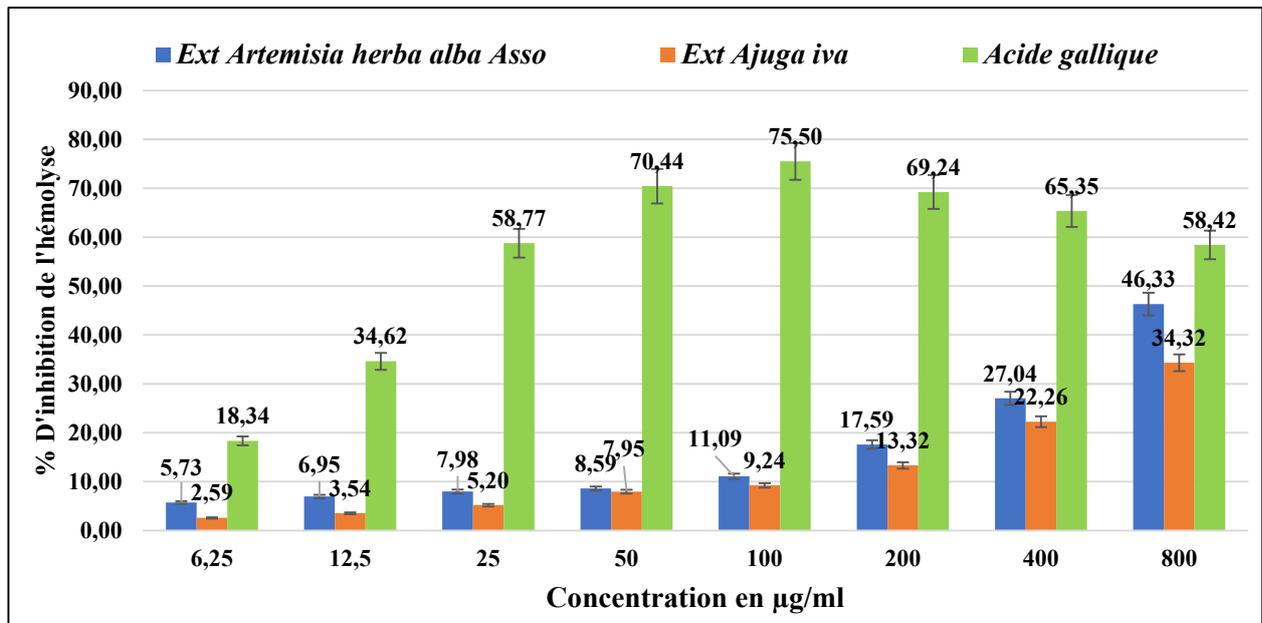


Figure 15 : Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis du stress osmotique et thermique en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux des deux plantes.

Selon Vidhya et Udayakumar (2016), lorsque les cellules érythrocytes sont exposées à la chaleur et une solution hypotonique elle provoque la lyse de sa membrane accompagnée par l'hémolyse et l'oxydation d'hémoglobine.

D'après la figure ci-dessus on a enregistré un effet protecteur maximal de $75,50 \pm 3,19\%$ de l'acide gallique à une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$. Cet effet protecteur, commence à diminuer progressivement à partir de $200 \mu\text{g/ml}$. On a constaté également que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* et celui d'*Ajuga iva* présentent des effets inhibiteurs d'hémolyse des globules rouges proches aux concentrations de $6,25 \mu\text{g/ml}$ à $400 \mu\text{g/ml}$. Au-delà de cette concentration, l'efficacité de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* via la stabilisation de la membrane des érythrocytes est supérieure à celle de l'*Ajuga iva* ($46,33 \pm 0,31\%$ contre $34,32 \pm 0,84\%$). Par ailleurs, le traitement des érythrocytes par l'acide gallique présente une inhibition d'hémolyse nettement supérieure à celle obtenue avec les extraits de plantes aux concentrations testées.

Les résultats que nous avons obtenus pour l'*Ajuga iva* sont proches à ceux de Yahoui et Meriem (2018), qui ont montrées que l'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* protège la membrane érythrocytaire humaine avec un pourcentage d'inhibition maximale de 67% à la concentration $800\mu\text{g/ml}$.

Chaudhuri et ces collaborateurs (2007) suggèrent que les polyphénols peuvent être responsable de cet effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse osmotique. Ils suggèrent également que les flavonoïdes inhibent la peroxydation lipidique dans les membranes érythrocytaires et en même temps améliorent leur intégrité contre la lyse hypotonique.

Selon Kesharwani et ces collaborateurs (2012), les composés phénoliques ont aussi la capacité de se fixer sur le site actif de la NADH-cytochrome réductase, ce qui active le complexe PMRS et donc agit contre l'oxydation de l'érythrocyte.

VI. Effet anti-œdémateux des extraits (Activité anti-inflammatoire *in vivo*) :

L'inflammation aigue se caractérise par des symptômes locaux classiques, telle la chaleur, la rougeur, la douleur et l'œdème ou la tuméfaction. En effet, les différents médiateurs pro-inflammatoires sécrétés dans le site inflammatoire, notamment les prostaglandines, exercent leur action localement en augmentant la perméabilité des capillaires et causant alors l'infiltration d'un exsudat (Okombe et Nzuzima, 2019). Par conséquence, l'œdème formé comprime les terminaisons nerveuses et agit sur le centre hypothalamique, ce qui se traduit souvent par une sensation des douleurs (Etameloe et al., 2018).

L'œdème induit de la patte constitue un modèle expérimental reproductible et concède une bonne valeur prédictive pour le criblage des agents anti-inflammatoires (Lu et al., 2006 ; Cabrini et al., 2011 ; Okombe et Nzuzima, 2019).

Dans la présente étude, l'œdème de la patte, qui a été induit par le formol chez les rats a nous permis d'évaluer l'effet anti-œdémateux des extraits d'*Artemisia herba alba Asso* et d'*Ajuga iva* en suivant le taux d'augmentation du volume de la patte en fonction du temps. La variation de l'œdème a été mesurée une heure après l'administration des différents produits par intra péritonéale. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament le diclofénac qui est un anti-inflammatoires non stéroïdiens et à ceux du contrôle physiologique.

Tableau 8: Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol :

Traitement	Dose	0 h	1 h	2h	3 h
		Volume de la patte droite (Moyenne ± SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne ± SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne ± SD) ml	Volume de la patte droite (Moyenne ± SD) ml
Témoin (Eau physiologique)	0	0,931±0,081	1,097± 0,081	1,236± 0,062	1,312± 0,114
Diclofénac	10 mg/ml	1,083±0,069	1,166± 0,043	1,250± 0,091	1,277±0,086
Ext AQ d' <i>Artemisiaherba alba Asso</i>	200 mg/ml	1,138±0,068	1,201± 0,071	1,388± 0,136	1,278± 0,097
Ext AQ d' <i>Ajugaiva</i>	200 mg/ml	1,069± 0,110	1,138± 0,090	1,146± 0,157	1,208± 0,126

Chez les témoins négatifs, l'injection du formol 1% dans la patte postérieure droite des rats témoins œdémateux provoque un œdème qui passe de $0,931 \text{ ml} \pm 0,081 \text{ ml}$ à $1,097 \pm 0,081 \text{ ml}$ dans la première heure puis à $1,236 \pm 0,062 \text{ ml}$ dans la deuxième heure et $1,312 \pm 0,114 \text{ ml}$ dans la troisième heure (**Tableau 8**). Ces valeurs correspondent à des pourcentages d'augmentation des volumes d'œdèmes respectifs de 18,03%, 33,83%, et 41,11%. Ces résultats montrent que l'œdème maximal a été atteint à la 3^{ème} heure.

Le formol provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (Sen et Nag, 1991 ; Singh et al., 1997 ; Suzuki et al., 1996) tout comme la carragénine (Bhatt et al., 1977 ; Ossipov et al., 1995). La cause de cette réaction inflammatoire est la lésion tissulaire. Cette lésion tissulaire induit la synthèse de l'histamine, des prostaglandines, des leucotriènes (Ammon et al., 1993), du PAF (facteur d'activation plaquettaire), des cytokines, du NO (monoxyde d'azote) et du TNF (facteur de nécrose tumorale) (Clarke et al., 1996).

En présence de Diclofénac, nous avons enregistré une augmentation moins importante du volume de la patte dont le maximum était de 18,371% au bout de la troisième heure). La **Figure numéro 16** montre les pourcentages d'inhibition de l'œdème par le Diclofénac de sodium et l'extrait. Le Diclofénac a prévenu l'œdème dès la première heure (56,90%) avec un maximal de 54,51% à la deuxième heure après injection du formol 1%.

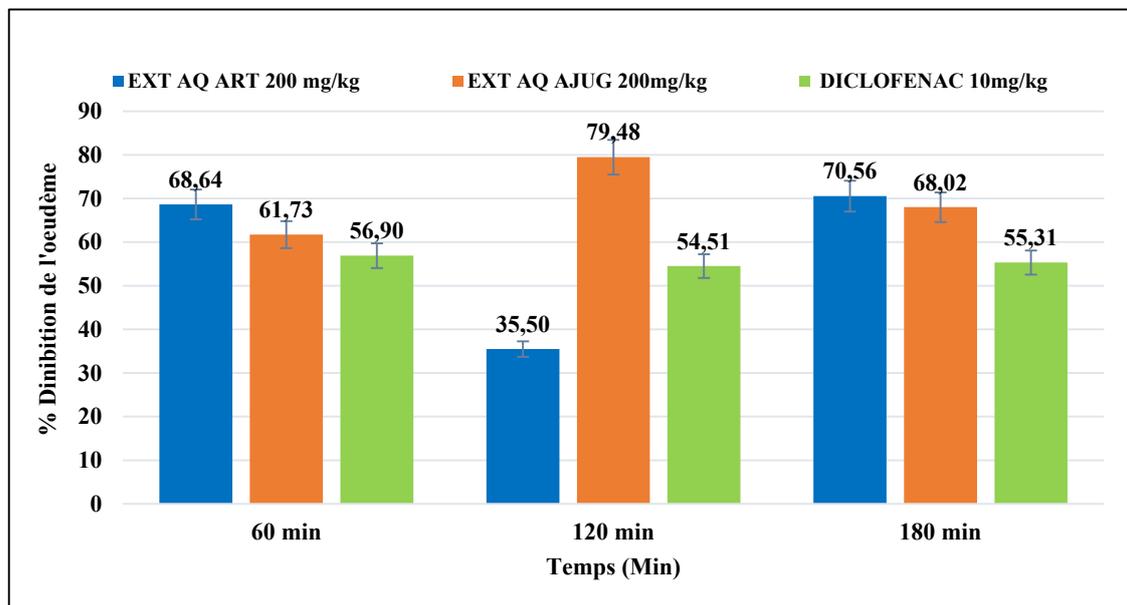


Figure 16 : Effet des différents extraits et du diclofénac sur l'œdème induit par le formol (Pourcentage d'inhibition de l'œdème).

Chez les rats traités par les extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Ajuga iva*, l'inhibition de l'œdème a été plus efficace que celle obtenue avec le diclofénac à la troisième heure après injection du formol 1% (70,56% et 68,02% respectivement contre 55,31%).

L'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso à la dose de 200 mg/kg a provoqué une inhibition de l'augmentation des œdèmes des pattes de 68,64% dans la première heure puis de 35,50% dans la deuxième heure et de 70,56% dans la troisième heure. Pour l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*, et pour la même dose, les œdèmes des pattes ont atteint leurs maximums activités par la réduction de l'augmentation des œdèmes des pattes à la 2^{ème} heure avec 79,48%. Ce résultat confère aux deux plantes un mécanisme d'action anti-inflammatoire comparable à celui des anti-inflammatoires non stéroïdiens et pourrait s'expliquer par la présence des composés bioactifs tels que les composés phénoliques et les saponines (Santangelo, 2007).

De nombreuses études *in vivo* ont montré que les flavonoïdes, comme la quercétine et la rutine, possèdent une activité anti-inflammatoire puissante dans les modèles des inflammations aiguës et chroniques en inhibant la peroxydation des lipides, l'agrégation plaquettaire et la perméabilité capillaire (Falleh et al., 2008 ; Hussain et al., 2016 ; Li et al., 2016). En effet, les flavanones, notamment la rutine, sont connues par leurs propriétés de protection capillaire et de l'inhibition de la phospholipase A₂ (PLA₂) de la modulation du recrutement des neutrophiles (Selloum et al., 2003). En outre, la quercétine, en tant qu'un flavonol, présente un potentiel effet anti-inflammatoire via la réduction de la production de diverses cytokines inflammatoires, tels que le TNF α et IL-1 et de l'expression des molécules d'adhésion du type VCAM-1 et du CD80 sur les cellules endothéliales vasculaires en réduisant ainsi l'extravasation des leucocytes (Li et al., 2016). Par ailleurs, le formol induit une inflammation neurogène lorsqu'il est appliqué localement. Cette inflammation a commencé à accentuer les mécanismes cellulaires impliqués dans la régulation de la libération des substances pro-inflammatoires par les neurones sensoriels, les tannins semblent avoir un pouvoir anti-inflammatoire sur ce modèle en prévenant la biosynthèse des médiateurs pro-inflammatoires vaso-actifs via un blocage de la libération d'acide arachidonique plaquettaire et l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase (Rotelli et al., 2003 ; Ghedira, 2005).

Les résultats obtenus dans ce test permettent d'affirmer aussi que l'activité anti-inflammatoire des extraits des deux plantes est liée en grande partie à l'effet des extraits sur l'infiltration des cellules inflammatoires ainsi que leurs médiateurs libérés dans le site inflammatoire. Pour cela, la migration cellulaire et la production de certains médiateurs clés de l'inflammation ont été vérifiées dans la présente étude.

Conclusion **et perspectives**

Conclusion et perspectives

Aujourd'hui, la thérapie via les plantes médicinales constitue un vrai patrimoine des êtres humains dans le domaine de la santé publique où la diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante.

L'objectif de notre travail était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro* de l'extrait aqueux des plantes *Artemisia herba alba* Asso et *Ajuga iva*.

Dans la première partie de notre étude, l'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folinciocalteu a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans les extraits aqueux des deux de la plante étudiée (*Artemisia herba Alba* et *Ajuga iva*). De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous a mené à conclure que les deux plantes sont également riches en flavonoïdes.

Dans la deuxième partie de ce travail, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Test de la dénaturation protéique, test d'hémolyse des globules rouges et test de la stabilisation membranaire) nous a montré que les deux plantes présentent une bonne activité anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus dans la troisième partie de cette étude (Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*) ont montré clairement que les deux plantes étudiées possèdent une activité anti-œdémateuse chez les rats.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, on peut conclure que l'extrait aqueux des plantes étudiées a révélé une capacité anti-inflammatoire potentielle. Ceci explique et confirme l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle. Cependant, cette recherche est encore au stade préliminaire et nécessite des recherches plus approfondies, qui se résument comme suit : l'utilisation de méthodes fiables pour isoler, identifier et caractériser le composé actif, et utiliser différentes techniques pour évaluer leur activité anti-inflammatoire. Cette recherche peut également améliorer davantage ces espèces grâce à une analyse plus approfondie, à d'autres recherches sur ses ingrédients actifs et à des tests d'autres activités biologiques.

Références bibliographiques

Abbal, M., Alric, L., Cantagrel, A., Delisle, B. (2013). Réaction inflammatoire : Aspects Biologique et clinique. Conduite à tenir. Module 8 – Item 112 :1-25.

Abbou, F. (2016). Etude phytochimique, évaluation de l'activité antiradicalaire et recherche d'effet hémolytique d'extraits isolés de la partie aérienne d'*Ajuga iva*L.Schreb. (Chandgoura). Mémoire de Master en Biologie. Université Abou Berk Belkaid de Tlemcen. 35-38.

Afsar, A. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6:4, 274-281

Aganga, A.A., et Mosase,K.W. (2001).Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpuscapussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocaryabirrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*.91 :(1-2), 107-113.

Akula, R., ET Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6:11,1720-1731.

Aldred, E. M. (2008). Pharmacology E-Book: A Handbook for Complementary Healthcare Professionals Elsevier Health Sciences.167.

Ammon, H. P. T., Safayhi, H., Mack, T., Et Sabieraj, J. (1993). Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids. *Journal of ethnopharmacology*,38 :(2-3), 105-112.

Annick, A.A. (2018). Evaluation des activités anti-inflammatoire et anti-oxydante de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae). Thèse de Doctorat. UFR sciences pharmaceutiques et biologiques. Cote d'ivoire.

Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. *Librairie modern Rouiba*, 46.

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II. France

Bagad, Y. M., Umarmkar, A. R., Tatiya, A. U., et Surana, S. J. (2011). Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*, 4 :5, 1326-132.

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... Et Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46:11, 1086-1089.

Balasundram, N., Sundram, K., Et Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 9:1, 191-203.

Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111 :1, 61-66.

Beddazekri, M et Ghemam, A. (2017) Evaluation de l'activité hypoglycémiant de quelques plantes médicinales de la région du souf. Mémoire de Master en Biologie Spécialité : biologie cellulaire et moléculaire. Université Echahid Hamma Lakhder. El Oued. 58-61

Ben Jannet, H., Harzallah-Skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, M. S. J., et Blaney, W. M. (2000). Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neo-clerodane diterpenoids isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves. *Fitoterapia*, 71:2, 105-112.

Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., et Chaouch, A. (2012). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc
Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco *Artemisia mesatlantica*. *Bulletin de la société Royale des sciences de Liège*. 81: 4 – 21.

Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., et Gmira, N. (2002). Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 22 :1, 25-30.

Benslama, A. (2016). Substances d'origine végétale. Université Mohamed Khider-Biskra Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie.18

Bertella, A. (2019). Étude de l'activité antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*. Thèse de Doctorat en Biologie Spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Ahmed Ben Bella Oran. 4-5.

Bhatt, K. R., Mehta, R. K., et Shrivastava, P. N. (1977). A simple method for recording antiinflammatory effects on rat paws oedema. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 21:4, 399-400.

Bhattacharya, A. (2019). Effect of high temperature on crop productivity and metabolism of macro molecules. *Academic Press*. 217-308.

Bonarska-Kujawa, D., Pruchnik, H., Oszmiański, J., Sarapuk, J., et Kleszczyńska, H. (2011). Changes caused by fruit extracts in the lipid phase of biological and model membranes. *Food biophysics*, 6:1, 58-67.

Bondi, M. L., Al-Hillo, M. R. Y., Lamara, K., Ladjel, S., Bruno, M., Piozzi, F., et Simmonds, M. S. J. (2000). Occurrence of the antifeedant 14, 15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochemical systematics and Ecology*, 28 :10, 1023-1025.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Lavoisier édition Tec & doc. Paris*, 15.

Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., et Bouchenak, M. (2010). Iridoid extracts from *Ajuga iva* increase the antioxidant enzyme activities in red blood cells of rats fed a cholesterol-rich diet. *Nutrition research*, 30 :5, 358-365.

Boudjelal A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse doctorat en Biologie Spécialité : Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar. Annaba. 3.

Bougandoura, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja Calamintha* Ssp *Nepeta* (nabta) et *Ajuga iva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie Spécialité : Substances naturelles, activités biologiques et synthèse, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. 53-57.

Bouldjadj, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Mémoire de Magister en Biologie Cellulaire et moléculaire Spécialité : Toxicologie cellulaire. Université frère mentouri. Constantine.34-35.

Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*. 79, 141 – 154.

Bouyahya, A., El Omari, N., Elmenyiy, N., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., El-Shazly, M., et Chamkhi, I. (2020). Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga iva* (L.) schreb. *Journal of ethnopharmacology*, 258, 112875.

Bouzidi, N. (2016). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* ». Thèse de doctorat en Biologie Spécialité : sciences de la vie. Université Mustapha Stambouli. MASCARA. 21.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Editions médicale Internationales*. 3^{ème} Ed. Paris, 810p.

Cabane, D., Saidi, F., Rouibi, A., & Azine, K. (2013). Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. Schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9 :1, 120-127

Cabrini, D. A., Hunger moresco, H., Priscila I., CintiaDelai, D. S., Pietrovski, E. F., Gasparin Buenomendes, D. A., Da Silveira Prudente , A., Geraldo M., Pizzolati., Costa I. M., Brighente., Otuki M. F.(2011). Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of *averrhoacarambola*I. In mice *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2011: 908059,7.

Capron F., (1998). Forme anatomo-clinique de l'inflammation, in trouble de la mortalité et de la sensibilité digestive. *Revue du praticien* 20, 2273-2276.

Cazes J., (2005). Encyclopedia of Chromatography 2^{ème} Ed. *Taylor and Francis*. USA.1, 1928

Charif, N., Louizini, L. (2016). L'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*. Mémoire de Master en Biologie Spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.45-47.

Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B. et Sengupta, P.K. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41 :1, 42-48.

Chihani S., Oukas A.(2018).Évaluation de l'activité anti hémolytique et antibactérienne Des extraits de *Ajuga iva* et de *Allium cepa*, et recherche d'interaction synergique avec des antibiotiques .Mémoire de Master en Biologie spécialité : Biochimie Appliquée . Université akli mohand oulhadj – BOUIRA. 43-44.

Chiolero, A., Würzner, G., et Burnier, M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques? *Néphrologie*, 21 :8, 425-430.

- Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi R., et Larondelle, Y. (2007).** Optimization of extraction condition of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) Tubers. *Separation and Purification Technology*. 55:2, 217-225.
- Clarke, J. M., Mervin-Blake, S., Conner, E., Et Wright, J. R. (1996).** Surfactant protein A protects growing cells and reduces TNF-alpha activity from LPS-stimulated macrophages. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 271:2, 310-319.
- Collemare, J., Navarro-Muñoz, J. C., & Mosunova, O. (2020).** The biosynthesis of fungal secondary metabolites: From fundamentals to biotechnological applications. *Reference Module in Life Sciences*.1-19
- Danowski, R. (1991).** Inflammation en rhumatologie. *In Annales de Kinésithérapie*, 18,233-240.
- Delille, L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. Éd. *BERTI, Alger*, 122 P.
- Dent, M., Dragović-Uzelac, V., Penić, M., Bosiljkov, T., Et Levaj, B. (2013).** The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food technology and biotechnology*, 51:1, 84-91.
- DJIDEL, S., KHENNOUF, S., AMIRA, S., BAGHIANI, A., DAHAMNA, S., CHAREF, N., ... et ARRAR, L. (2012, November).** In Vitro Antioxidant Properties Of Artemisia Campestris L. Extracts. *In Proceeding of the 2nd African Congress on Biology & Health* University Ferhat Abbas Setif1, 11, 74
- Dowd, C. J., et Kelley, B. (2011).** Purification Process Design and the Influence of Product and Technology Platforms. *Journal comprehensive biotechnology* .799-810.
- Duyckaerts, C., Fouret, P., et Jacques-Hauw, J. (2002).** Chapitre 13 : l'inflammation. Cours Anatomie Pathologique PCEM2, Université Paris VI, faculté de médecine Pierre et Marie Curie, 2003, 60-98.
- El-Hilaly, J., Lyoussi, B., Wibo, M., et Morel, N. (2004).** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of ethnopharmacology*, 93:1, 69-74.
- Etameloe ,G.,Ngaba, G. P., Kamdom, M., Mpondo, E. M., Et Dibong, S. D. (2018).** Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur *Psidium guajava* au Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12 :1, 233-243.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Et Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 :5, 372-379.

Faye, L., Et Champey, Y. (2008). Plantes, médicaments et génétique-Quelles applications pour demain ?. *médecine/sciences*, 24 :11, 939-946.

Fellah, S., Romdhane, M. et Abderraba M.,(2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. 16 :2,193-202.

Ferhat, I., Mehyach, R. (2017). Etude de l'activité anti-inflammatoire et antioxydant d'*Artemisia campestris* L et *Spitzelia coronopifolia* Désf dans la région d'El-oued. Mémoire de Master en Biologie cellulaire et moléculaire Spécialité : Biochimie Appliquée. Université d'El Oued. 4-7.

Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia*. Mémoire de Magister en biochimie Spécialité : Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas. Setif. 7.

Forestier, J. P. (1982). Henné ; Absorption de la lawsone par les cheveux. *International Journal of Cosmetic Science* 4:4, 153-114.

Ganesh, G., Maru, S., Et Sarada, N. C. (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi* L. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 5:6, 125-130

Gangwar, M., Gautam, M. K., Sharma, A. K., Tripathi, Y. B., Goel, R. K., Et Nath, G. (2014). Antioxidant capacity and radical scavenging effect of polyphenol rich *Mallotus philippensis* fruit extract on human erythrocytes: An in vitro study. *The Scientific World Journal*,2014, 1–12.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., et Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53:5, 1370-1373.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane M.C., Bousselsela, H., ET Oued Moukhtar, S.M., (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. *Phytothérapie*. 13 :2 , 118 -129

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3 :4, 162-169.

Ghrabi, Z., Et Sand, R. L. (2008). Artemisia herba alba Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49-49

Gungormez, E. (2015). Évaluation de la prescription des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez le sujet âgé. Thèse de doctorat en médecine. Université paris Diderot. 26.

Habera, F., Laoudi, K. (2019). Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques : anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et de l'huile essentielle d'Artemisia herba alba (armoise blanche), contribution à la caractérisation d'extrait aqueux par RP-HPLC. Mémoire de Master en Sciences Biologiques Spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri.Tizi-Ouzou. 56-59.

Habibur, R., Eswaraiah, M. C., Et Dutta, A. M. (2015). In-vitro anti-inflammatory and anti-arthritic activity of Oryza Sativa Var. Joha rice (an aromatic indigenous rice of Assam). *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 15:1, 115-121.

Halimi, A., (2004). Les plantes médicinales en Algérie. 1ère édition. *BERTI Editions, Alger*.156-157.

Harrar, A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L, Mémoire de Magistère en Biologie Spécialité : Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas. Sétif. 7.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2 :1, 3-6.

Henrotin, Y., Deby-dupont, G., & Reginster, J. Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56 :6, 433-42.

Heymonet, C. (2013). Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine. France. 36-37.

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., Et Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* .2016, 1-9.

Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2009). Ethnopharmacology of the plants of genus Ajuga. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22:4,425-462.

Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat en Sciences Spécialité : Biochimie. Université Ferhat Abbas Setif 1. 6-11.

Kandikattu, K., Bharath Rathna Kumar, P., Venu Priya, R., Sunil Kumar, K., Ranjith Singh.B.Rathore. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1:5,729-730.

Kesharwani, R. K., Singh, D. V., Misra, K., et Rizvi, S. I. (2012). Plant polyphenols as electron donors for erythrocyte plasma membrane redox system: validation through in silico approach. *Organic and medicinal chemistry letters*, 2:1, 1-11.

Kouadio Kouakou, J., Ouattara-Soro, F., Shcherazade Abizi, G., Zougrou N'guessan E., Kouakou Koffi R., Begbin Kouassi E., Kplé Tatiana Kangah M., Kablan Kassi JJ., Koffi S. (2021). Activité Anti-Inflammatoire Et Études Phytochimiques De L'extrait Aqueux Des Écorces Distemonanthus Benthamianus Baill. (Caesalpinaceae : Leguminosae - Caesalpinioideae), *European Scientific Journal*, 17:7, 74-93.

Kunkele, U et Lobmeyer, T.R., (2007) .Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. *Edition parragon Books Ltd* ,33 _ 318.

Lapornik, B., Prošek, M., Et Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*, 71:2, 214-222.

Lattanzio, V., Lattanzio, V. M., et Cardinali, A. (2006). Role of phenolics in the résistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry : Advances in research*, 661:2, 23-67.

Li Y., Yao J., Han C., Yang J., Chaudhry M.T, Wang S., Liu H., Yin Y. (2016). Quercetin,Inflammation and Immunity. *Review Nutrients* 8:1-14.

Libby, P. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutrition reviews*, 65:3,140-146.

Louis, S. (2004). Diversité structurale et d'activité biologique des albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse de doctorat Spécialité : Analyse et Modélisation des systèmes biologiques. Institut national des sciences appliquées de Lyon. France.27-44.

Lu, H. M., Liang, Y. Z., Yi, L. Z., Et Wu, X. J. (2006). Anti-inflammatory effect of Houttuynia cordata injection. *Journal of Ethnopharmacology*, 104 :(1-2), 245-249.

Lüllmann, H., Mohr, K., & Hein, L. (1996). Atlas de poche de pharmacologie. 2ème édition *Lavoisier-Médecine sciences*.70-77.

Maione, F., Russo, R., Khan, H., et Mascolo, N. (2016). Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Natural product research*, 30:12, 1343-1352

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

Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la Pulpe d'olive *Olea europaea* L. mémoire de magister en Biologie spécialité : Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas- Sétif. 22-24.

Mansour, S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scaberrimum* -étude in vivo. Thèse Doctorat en sciences Spécialité : Biologie. Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf. Oran. 16.

Marco, J.A. (1989). Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 28: 3121-3126.

Mekenza, N et Medjmedj, O. (2018). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut de la graisse de la Bosse de *Camelus dromedarius* sur un modèle murin d'inflammation aiguë. Mémoire de Master en biologie spécialité : Immunologie et Oncologie. Université Frères Mentouri. Constantine. 17.

Messai, A. (2015). Utilisation de l'armoise et de l'eau de riz en traitement adjuvant de la coccidiose chez le poulet de chair. Thèse de Doctorat en sciences vétérinaires Spécialité : Pathologie aviaire. Université Frères Mentouri Constantine. 31.

Miossec, P. (2003). Physiopathologie de l'inflammation. *La revue du praticien*, 53 : 1-7.

Mizushima Y. (1964). Inhibition de la dénaturation de protéines par des agents antirhumatiques ou antiphlogistiques. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 149, 1-7.

Mohamed, A. E. H. H., El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., Et Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4:1, 1-25.

Mohammedi, Z. (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie Spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèses. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 23.

- Muster, D. (2005)** .Médicaments de l'inflammation. *Edition Elsevier Paris*. 21-29.
- Nawwar, M. A., El-Mousallamy, A. M., Barakat, H. H., Buddrus, J., Et Linscheid, M. (1989)**. Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry*, 28:1, 3201-3206.
- Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., Et Faye, B. (2006)**. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *JPharm. Méd. Trad. Afr*, 14, 179-186.
- Neant, R. (2017)**. Effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens et automédication : quel est l'impact dans le temps d'un outil d'information écrite sur les connaissances des patients ?. Thèse de doctorat en Médecine. Université de Bourgogne.20.
- Noack, M. et Kolopp-Sarda, M. N. (2018)**. Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018 :499, 28-37.
- Nogaret, A.S., (2003)**.La phytothérapie : Se soigner par les plantes. *Ed.Groupe Eyrolles, Paris*, 191.
- Okombe, E. V., Nzuzi, M. N. G.(2019)**. Evaluation de l'activité antipyrétique, analgésique et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Vitex congolensis* De Wild. & T. Duran. *Int. J. Biol. Chem. Sci* ,13:7, 3066-3078.
- Ossipov, M. H., Kovelowski, C. J., PorrecaF.,(1995)**.-The increase in morphine antinoceptive potency produced by carrageenan-induced hindpaw inflammation is blocked by nalttrindole, a selective delta-opioid antagonist . *Neuroscience Letter*, 184,173-176.
- Oyedapo, O. O., Makinde, M. A., Ilesanmi, M. G., Abimbola, O. E., Akinwunmi, F. K., et Akinpelu, A. B. (2015)**. Biological activities (anti-inflammatory and antioxydant) of fractions and methanolic extract of *Philonotishastata* (Dubywijk &Margadant). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines (AJTCAM)*, 12:4, 50-55.
- Pahwa, R., Goyal, A., Bansal, P., & Jialal, I. (2020)**. Chronic inflammation. *StatPearls*. [Internet].
- Portier, K., Kirschvink, N., Fellmann, N., Coudert, J., et Lekeux, P. (2007)**. Paramètres influençant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval. *In Annales de Médecine Vétérinaire .Université de Liège*.151 :2,101-106

Raghavendra, G. M., Varaprasad, K., et Jayaramudu, T. (2015). Biomaterials : design, development and biomedical applications. In Nanotechnology applications for tissue engineering *William Andrew Publishing*. 21-44.

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

Rankin, J. A. (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15:1, 3-17.

Reshma, A. K., & Brindha, P. (2014). In vitro anti-inflammatory, antioxidant and nephroprotective studies on leaves of *Aegle marmelos* and *Ocimum sanctum*. *Asian J Pharm Clin Res*, 7:4.121-129

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod*. 5-217.

Rotelli, E. A., Guardia, T., Osvaldo Juárez, A., Ernesto de la Rocha, N., Eugenia Pelzer, L. (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research*, 48:601–606

Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., et Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie*, 1-57.

Salah, S. M., et Jäger, A. K. (2005). Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of ethnopharmacology*, 97:1, 145-149

Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I. and Abou-Zaid M.M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 26: 3059–3064.

Sallal, A. K. J., et Alkofahi, A. (1996). Inhibition of the haemolytic activities of snake and scorpion venoms in vitro with plant extracts. *Biomedical Letters (United Kingdom)*. 53:212, 211-215.

Sanchez-Muñoz, F., Dominguez-Lopez, A., et Yamamoto-Furusho, J. K. (2008). Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology*, 14:27, 4280-4288.

Sangeetha, M, Kousalya, K, Lavanya R, Cherukuru, S Chamundeeswari, D, UmaMaheswara, R. (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS* 2:1,822-827.

Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., et Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali-Istituto Superiore Di Sanita*, 43:4,394.

Saoudi, M., Allagui, M. S., Abdelmouleh, A., Jamoussi, K., et El Feki, A. (2010). Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62:6, 601-605.

Seddik, K., Nadjet I., Abderrahmane, B., Daoud, H., et Lekhmici, A. (2010) . Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. Leaves and some phenolic Compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4 :13, 1273-280

Sellal, A. H. (2009). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits Aqueux et éthanolique du gingembre. Mémoire de Magister en biologie Spécialité : Biochimie et physiologie expérimentale. Université SETIF. 3.

Selloum, L., Bouriche, H., Tigrine, C., & Boudoukha, C. (2003). Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 54:4, 313-318.

Sen, T., et Chaudhuri, A. N. (1991). Antiinflammatory evaluation of a *Pluchea indica* root extract. *Journal of ethnopharmacology*, 33 :(1-2), 135-141.

Sene, M., Ndiaye, M., Barboza, F. S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., ... & Sy, G. Y. (2016). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq.(ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10:6, 2568-2574.

Sharma, P. (2011). Inflammation and the metabolic syndrome. *Indian J Clin Biochem*. 26:4, 317-318.

Singh, S., Bani, S., Singh, G. B., Gupta, B. D., et Banerjee, S. K. (1997). Anti-inflammatory activity of lupeol. *Fitoterapia (Milano)*, 68:1, 9-16.

Sivry, P. (2014). Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens consommés en automédication : évaluation du niveau de connaissance de 334 patients de cabinets de médecine générale des Alpes-Maritimes. Thèse de doctorat en médecine. Université de Nice-Sophia Antipolis. France.16.

Soubrier, F., Chung, W. K., Machado, R., Grünig, E., Aldred, M., Geraci, M., et Humbert, M. (2013). Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 62:25, 13-21

Suzuki, T., Kishimoto, Y., & Misawa, M. (1996). Formalin-and carrageenan-induced inflammation attenuates place preferences produced by morphine, methamphetamine and cocaine. *Life sciences*, 59 :19, 1667-1674.

Taïba, I., Boumahrat, M., Boulifa, A. (2017). Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia Officinalis*.L. Mémoire de Master en Biologie spécialité : Toxicologie. Université Frères Mentourie. Constantine. 2-14.

Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O. E. K., Moulti-mati, F. (2010) Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de Dated lyophilisées (*Phoenixdactylifera*L) varieteghars. *Annales des Sciences et technologie*. 2 ,107-114.

Thomas, J. K., Richard, A. G., Barbara, A. O. (2007). Immunologie, le cours de Janis kuby avec questions de révision 6e édition. livre traduit de l'américain sous le direction de Catherine fridman l'édition par© w .H Freeman and company ,Now York and Basingstoke .partie3 :mécanismes effecteurs de l'immunité. 342.

Trabsa, H. (2015). Activité antioxydantes et anti-inflammatoire des fractions des plantes :sedum sediforme et lyciumarabicum .Thèse de doctorat en sciences Spécialité : Biochimie. Université ferhet abbas sétif 1.19.

Vermerris W., et Nicholson R. (2007). Phenolic compound biochemistry. *Springer Science & Business Media*..

Vidhya, R., et Udayakumar, R. (2016). Phytochemical screening and evaluation of in vitro haemolytic, thrombolytic and antiinflammatory activities of Aervalanata (1.). *IAJPS*., 6, 6-7.

Wessner, M., Champion, B., Girault, J. P., Kaouadji, N., Saidi, B., et Lafont, R. (1992). Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry*, 31:11, 3785-3788.

Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., et Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidantactivity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay.*Food Chemistry*, 97:4,705-711.

Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., et Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 9:1, 143.

Yahoui, H., et Meriem, A. (2018). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de L'extrait hydro-alcoolique d'Ajuga iva (ivette musquée). Mémoire de Master en biologie Spécialité : Biochimie appliquée. Université akli mohand oulhadj. Bouira. 41.

Yazaki, K., Sasaki, K., Tsurumaru, Y. (2009). Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites. *Phytochemistry*, 70 :(15-16), 1739-1745.

Youghbaré-Ziébrou, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., ... et Guissou, I. P. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 1 :4,213-219.

NOM ET PRENOM : - Benamira imene - Benhafed dounia - Benabderrahmane khalil	DATE DE SOUTENANCE 19 SEPTEMBERE 2021
TITRE : Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso et d' <i>Ajuga iva</i> L	
NATURE DE MASTER : Sciences Biologiques OPTION : Toxicologie	
<p style="text-align: center;">RESUME</p> <p>Le présent travail a pour objectif d'étudier et de comparer l'activité anti-inflammatoire et anti-œdémateux des extraits aqueux d'<i>Artemisia herba alba</i> Asso et d'<i>Ajuga iva</i>. Dans un premier temps, notre étude a montré que l'extrait aqueux d'<i>Artemisia herba alba</i> Asso est plus riche en polyphénols ($94,50 \pm 0,33$ contre $42,69 \pm 0,99$ mg EAG/g EXT et $105,36 \pm 0,44$ contre $35,62 \pm 1,33$ mg EAT/g EXT) et en flavonoïdes ($31,14 \pm 1,90$ contre $23,74 \pm 1,21$ mg EQU/g EXT) que l'extrait aqueux d'<i>Ajuga iva</i>. Ces valeurs sont des bons indices du potentiel thérapeutique de l'extraites, car beaucoup d'activités biologiques sont intimement liées à l'aspect quantitatif mais aussi qualitatif de ces biomolécules. La deuxième étape consiste en l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique. Cette étude a montré que l'extrait aqueux d'<i>Artemisia herba Alba</i> possède une excellente capacité de protéger la BSA contre la dénaturation thermique ($IC_{50} = 136,31 \pm 5,14$ µg /ml) par rapport l'extrait aqueux d'<i>Ajuga iva</i> ($IC_{50} = 630,14 \pm 5,19$ µg /ml). De même, l'analyse de la protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique a montré que l'efficacité de l'extrait aqueux d'<i>Artemisia herba alba</i> Asso est supérieure à celle de l'<i>Ajuga iva</i> ($46,33 \pm 0,31$ contre $34,32 \pm 0,84\%$). Dans la dernière étape, l'étude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> a révélé une bonne activité anti-œdémateuse des deux plantes. Chez les témoins négatifs, l'injection du formol 1% dans la patte postérieur droite des rats témoins œdémateux provoque un œdème maximal 3 heures après son injection. Le prétraitement des rats par l'extrait aqueux d'<i>Ajuga iva</i> à la dose de 200mg/kg a provoqué un effet inhibiteur maximal de l'œdème de la patte (79,48%) 2 heures après l'administration du formol. L'effet inhibiteur maximal de l'extrait d'<i>Artemisia herba alba</i> Asso à la même dose (70,56%) a été enregistré à la troisième heure. Ces résultats confirment la validité de l'indication traditionnelle des deux plantes dans le traitement de plusieurs maladies. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.</p>	
Mots clés : Anti-inflammatoire, Anti-œdémateux, Plantes médicinales, <i>Artemisia herba alba</i> Asso, <i>Ajuga iva</i> .	
LABORATOIRE DE RECHERCHE : - Génie Microbiologique et Applications. - Laboratoire de Biologie et d'Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mentouri, Constantine	
Président : Dj. ZAMA Encadreur : R.BOULDJADJ Examineurs : M.H BELMAHI : N. DEHILI	Pr. Université des frères Mentouri Constantine1 MAA. Université des frères Mentouri Constantine1 MAA. Université Salah Boubnider Constantine3 MAB. Université des frères Mentouri Constantine1