

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	I
TABLE DES MATIERES	II
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTE DES TABLEAUX	IV
SIGLES ET ABREVIATIONS	V
I. INTRODUCTION.....	1
II. MATERIELS ET METHODES.....	8
A. PARTIE CHIMIQUE	8
a. Préparation des Matériels Végétaux.....	8
b. Criblage Phytochimique	9
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	10
a. Matériels animaux	10
b. Etude de l'activité de l'extrait AA03 sur une inflammation aiguë	11
c. Étude de l'effet de l'extrait AA03 sur la formation de tissu de granulation.....	12
III. RESULTATS	14
A. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE.....	14
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	15
a. Activité de l'extrait AA03 sur l'inflammation aiguë.....	15
b. Effet de l'extrait AA03 sur l'inflammation subaiguë.....	16
IV. DISCUSSION.....	18
V. CONCLUSION	19
BIBLIOGRAPHIES	I

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> . Biosynthèse des eicosanoïdes (RUSSO-MARIE F., 1998).	3
<u>Figure 2</u> . Mécanisme et site d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (DUPOND J., 2003).....	5
<u>Figure 3</u> . Les différentes étapes de la préparation de l'extrait AA03.....	8
<u>Figure 4</u> . Photo montrant la voute plantaire de patte de Cobaye avant et après l'injection de 50 µl la suspension du kaolin à 1%.	15
<u>Figure 5</u> . Effet de l'activité anti-œdémateuse sur l'évolution d'œdème de la patte enflammée chez les Cobayes.	16
<u>Figure 6</u> .Variation du poids du granulome chez les cobayes	17

LISTE DES TABLEAUX

.Tableau I. Tests utilisés pour détecter les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AA03 (FONG H.H.S et Coll., 1977).....	10
Tableau II. Les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AA03.....	14

SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AIS : Anti-inflammatoire Stéroïdiens

AINS ; Anti-inflammatoire Non Stéroïdiens

Coll. : collaborateurs

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

COX : cyclo-oxygénase

\bar{x} : Valeur en moyenne

± : plus ou moins

e.s.m: erreur standard à la moyenne

FeCl 3 : tétra chlorure de Fer

HCl : Chlorure d'hydrogène

LOX : Lipooxygénase

MeOH : hydroxyle de Méthane

Mg : magnésium

mm : millimètre

n : nombre d'animaux utilisés

Na Cl : Chlorure de sodium

NO : monoxyde d'Azote

N.S : Non Significative

p : seuil de signification

PAF: Platelet Activating Factor

PLA2: Phospholipase A2

PGS : Prostaglandines S

PGE : Prostaglandines E

PGI2 : Prostacyclines

TX: Thromboxane

TNF: Tumor Necrosis Factor

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression d'éléments physiques: chaleur, froid, rayonnements ionisants... ou des éléments solides exogènes ou endogènes: pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques. Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire sont les mêmes avec des intensités et des durées variables (DOMART A. et coll., 1981; MELINA Z., 2009).

La réaction inflammatoire peut être aiguë assurant un rôle physiologique de défense de notre organisme, mais peut évoluer en réaction chronique persistante et pathologique si elle n'est pas traitée. L'inflammation chronique résulte de l'altération du contrôle de la phase cellulaire et conduit à la destruction cellulaire et de la matrice tissulaire par les radicaux libres. Elle se traduit par une fièvre due à une hypersécrétion des médiateurs inflammatoires (IL-1, TNF α et de PGE₂, PG_{2 α}), de la douleur due à la bradykinine et aux PGs conduisant à l'altération de l'état général (DAWSON W. et coll., 1984). L'inflammation chronique est à l'origine de nombreuses pathologies comme, l'asthme, la maladie d'Alzheimer, le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires, cancer, amylose etc... (FERGUSON L.R., 2010 ; ROIFMAN I. et coll., 2011).

L'inflammation est une réponse physiologique de défense, immédiate et transitoire, déclenchée par toute lésion cellulaire ou tissulaire, quel que soit le mécanisme (infectieux, chimique, traumatique, immunitaire etc...). La cause influe sur la nature et l'intensité de cette réponse qui devient pathologique si elle est anormalement sévère ou durable (HAEFFNER-CAVAILLON N., 1998).

La réaction inflammatoire est un processus dynamique comportant trois phases successives (vasculaire, cellulaire et tissulaire). Elle a pour rôle de réparation des lésions provoquées par l'agression (DUPOND J., 2003; JEAN B., 2009).

La phase vasculaire, comporte trois phénomènes: une congestion active, un œdème inflammatoire et une diapédèse leucocytaire. Au cours de cette phase, des modifications vasculaires concourent à augmenter l'afflux sanguin au site de l'agression : vasodilatation permettant le passage du plasma et des leucocytes dans les tissus où siègent les agressions.

La vasodilatation locale a pour but d'augmenter la circulation du sang afin d'évacuer les cellules mortes et les toxines (détersion), et d'apporter *in situ* les médiateurs cellulaires de l'inflammation nécessaires à la guérison. Elle se traduit par les quatre signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, douleur et tumeur (œdème) autour du site de l'agression (JEAN B., 2009).

La phase cellulaire, est constituée par plusieurs événements : l'accroissement du flux sanguin vers la zone agressée et l'augmentation de la perméabilité capillaire locale (NETTER P. et coll., 1987).

Les polynucléaires neutrophiles et les macrophages neutralisent ou détruisent l'agent déclencheur de l'inflammation. En plus, ces polynucléaires neutrophiles éliminent par phagocytose les tissus nécrosés et certains agents pathogènes (micro-organismes infectieux, corps étrangers), tandis que le liquide d'œdème est drainé dans la circulation lymphatique et résorbé par les macrophages (pinocytose) (DUPOND J., 2003).

En outre, une fois dans le foyer inflammatoire, les cellules sanguines (polynucléaires, monocytes et lymphocytes) participent à l'entretien du processus inflammatoire en synthétisant d'autres médiateurs de l'inflammation, principalement les prostaglandines, les leucotriènes et le PAF-acéther à partir de l'acide arachidonique. Le PAF-acéther est produit à partir des phospholipides membranaires en deux étapes: activation d'une phospholipase A2 qui libère le lyso-PAF, suivie de l'action d'une acétyltransférase qui l'acétyle (LENIHAN D.J. et LEE T.H., 1984). Ce PAF-acéther stimule l'agrégation plaquettaire et augmente aussi la perméabilité vasculaire et active les leucocytes (HOSFORD D., BRAQUET P., 1990).

Cette voie métabolique est essentiellement catalysée par la phospholipase A2 (PLA2), une enzyme permettant la libération de l'acide arachidonique à partir des lipides membranaires. Ainsi, à partir de cet acide arachidonique, deux voies enzymatiques principales divergent ensuite pour conduire à la formation de médiateurs lipidiques de l'inflammation biologiquement active :

- la voie des cyclooxygénases (COX) qui aboutit à la synthèse des prostaglandines (PGs) et des Thromboxanes.

- la voie des lipoxygénases (LOX) qui aboutit à la synthèse des leucotriènes, responsables de l'inflammation chronique (SCHORODERET M. et DAYER J.M., 1998) (Figure 1).

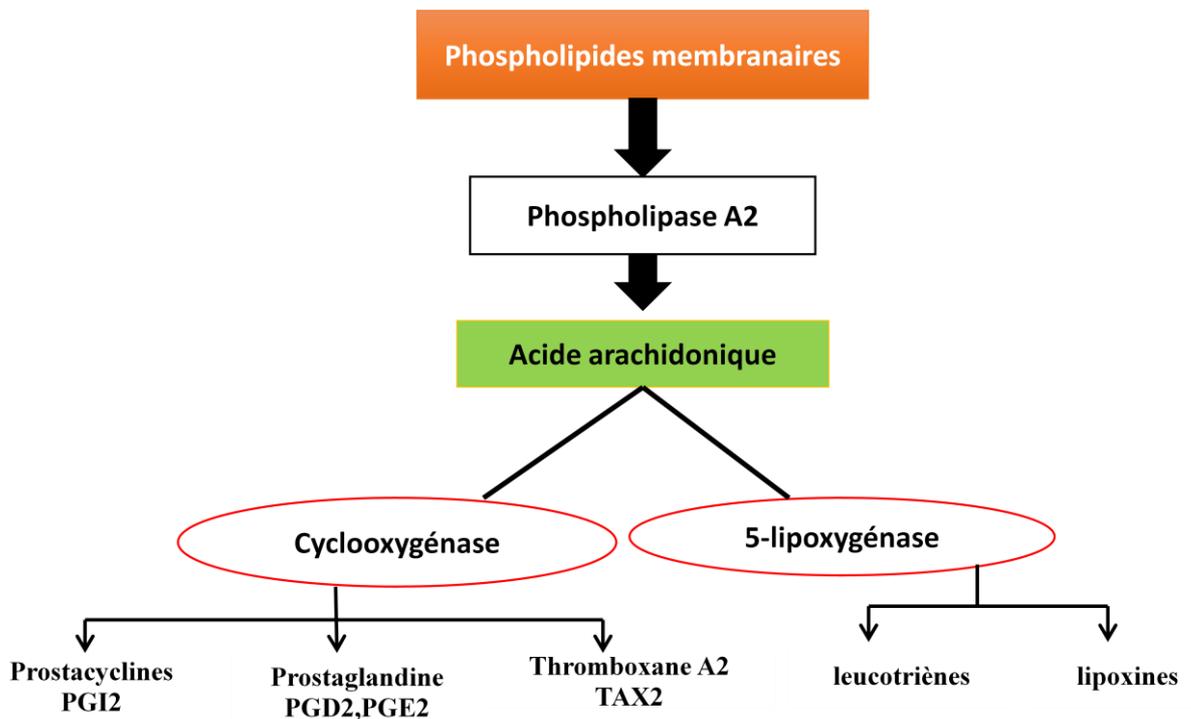


Figure 1. Biosynthèse des eicosanoïdes (RUSSO-MARIE F., 1998).

Enfin, la troisième phase de l'inflammation est la phase tissulaire qui se termine par une reconstitution (cicatrisation) des tissus lésés. Si l'agression persiste, elle peut se poursuivre, par une inflammation chronique qui met en jeu l'immunité adaptative (DUPOND J., 2003).

La réaction inflammatoire peut être aiguë, subaiguë et chronique.

-L'inflammation aiguë est une réponse immédiate à un agent agresseur. Elle est de courte durée, d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Elle guérit spontanément ou avec un traitement, et peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (CHARLES N.S. et coll., 2010).

-L'inflammation subaiguë est caractérisée par une infiltration de leucocytes et de cellules phagocytaires suite aux phénomènes vasculo-exsudatifs. Les premiers qui arrivent au niveau du foyer inflammatoire (environ 6 heures) sont les polynucléaires qui sont le plus souvent, remplacés progressivement par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages assurent la déterision grâce à leur capacité de phagocytose, les lymphocytes et les plasmocytes participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (NATHAN C., 2002).

-L'inflammation chronique est une réaction qui peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années).

Elle est souvent causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée ou acquise (exemple la polyarthrite rhumatoïde), rejet de l'allogreffe chronique (dans la béryllose et l'inflammation granulomateuse). Cette inflammation est dominée par la dégénérescence tissulaire et la fibrose (CHARLES N.S. et coll., 2010).

Bien que l'inflammation est bénéfique pour l'organisme, elle peut devenir néfaste quand la réponse inflammatoire est exagérée. Dans ce cas, le recours à des médicaments anti-inflammatoires est nécessaire.

Actuellement, il existe deux catégories de médicaments anti-inflammatoires: les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les corticoïdes. Ces anti-inflammatoires agissent essentiellement sur la synthèse des dérivés de l'acide arachidonique, dans le cas où les prostaglandines et les leucotriènes qui sont les médiateurs de l'inflammation. Les AINS bloquent la cyclooxygénase et augmentent la synthèse des leucotriènes. Par contre, les corticoïdes bloquent la phospholipase A2 et inhibent les deux voies métaboliques de l'acide arachidonique (VALAT J.P., 1999; FIALIP J., 2002).

Les AINS ont une action symptomatique rapide, mais n'ont pas d'action sur les processus pathologiques chroniques. Ils ont une action anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique, essentiellement par l'inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxanes en inhibant la cyclooxygénase (COX2) clef de la biotransformation de l'acide arachidonique en prostaglandines (DUPOND J., 2003; VANE J., 1971) (Figure 2).

On peut citer les AINS Classiques:

- Salicylés (aspirine ou acide acétylsalicylique).
- Pyrazolés (phénylbutazone).
- Indoliques (indométacine).
- Arylcarboxyliques (diclofénac, étodolac, ibuprofène, kétoprofène, alminoprofène).

Le schéma (figure 2) montre le site et le mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens au niveau du métabolisme de l'acide arachidonique :

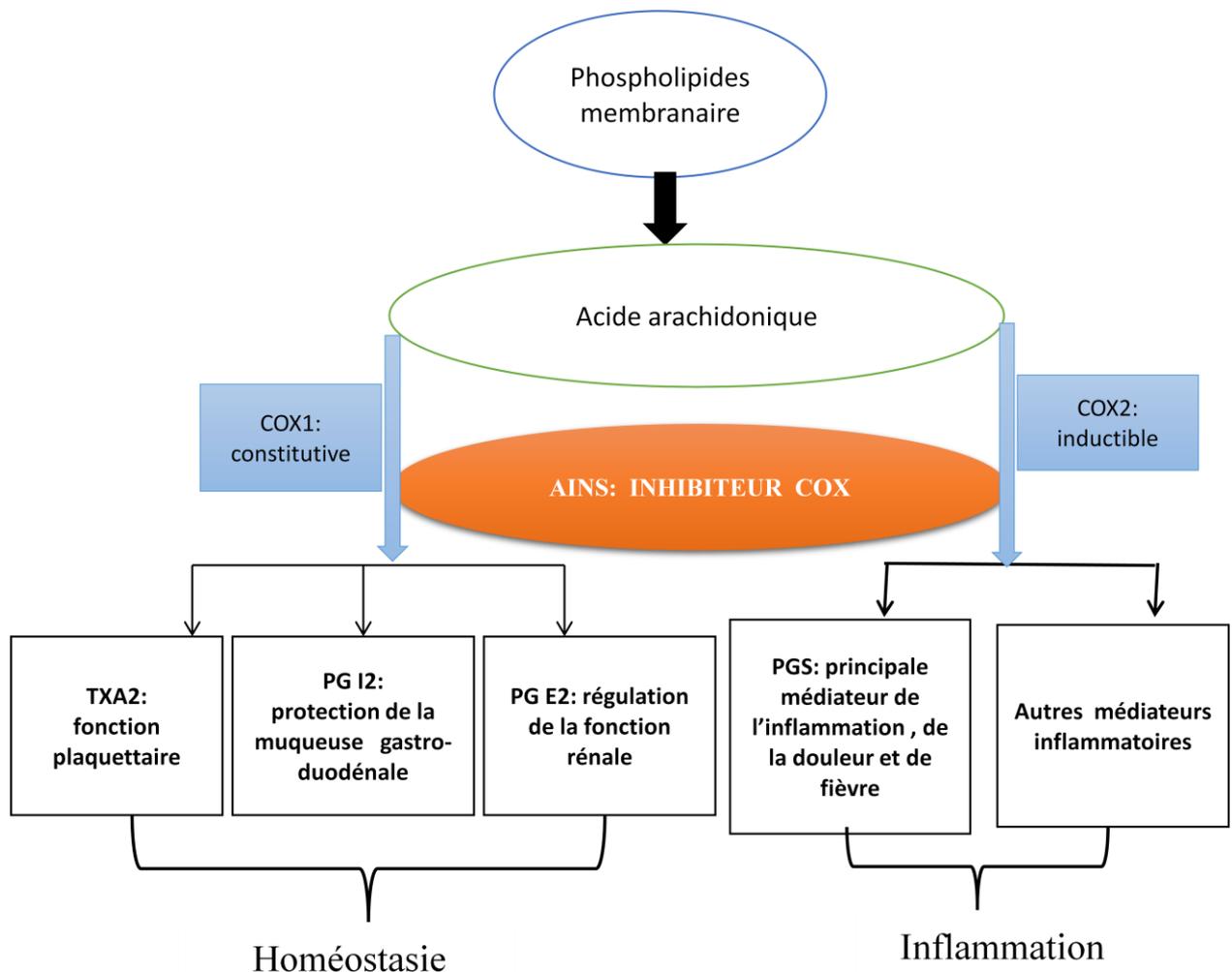


Figure 2. Mécanisme et site d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (DUPOND J., 2003).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol et de la corticostérone élaborés par le cortex surrénalien. Ils inhibent la production des prostaglandines, des leucotriènes en bloquant la phospholipase A2 et donc la libération de l'acide arachidonique est compromise.

Les corticoïdes inhibent la vasodilatation des artérioles et des capillaires en empêchant ainsi l'augmentation du débit sanguin qui caractérise les étapes initiales de la réponse inflammatoire.

Ils inhibent également la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinines, les cytokines, les ions superoxydes (BARNES P.J., 1998 ; PERRETTI M. et coll., 2000).

Les maladies inflammatoires que ce soit aiguës ou chroniques font partie des problèmes de santé.

Bien que, plusieurs molécules sont connues pour traiter les troubles inflammatoires, leur utilisation prolongée conduit souvent à une intolérance gastrique, à la dépression de la moelle osseuse, à la rétention de sel et d'eau. Pour cette raison, trouver et développer de nouveaux médicaments anti-inflammatoires avec des effets secondaires faibles sont nécessaires (SAXENA R.S. et coll., 1987). Beaucoup de recherches sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle sur les plantes médicinales. Près de 80% des populations des pays en voie de développement de la région d'Afrique ont recours à la médecine traditionnelle (FARNSWORTH N.R. et coll., 1985; OMS, 2002).

A Madagascar, le Curcuma dont la curcumine est le principal composant de la famille des Zingibéracées, est utilisé en thérapie pour traiter les maladies inflammatoires. Elle est isolée du rhizome de *Curcuma longa*. La curcumine diminue le métabolisme de l'acide arachidonique en inhibant l'activité de la 5-lipoxygénase et de la cyclooxygénase 2 (COX2) (RAO C.V., 2007). En plus, l'activité anti-inflammatoire de la curcumine a été aussi démontrée par sa capacité d'inhiber la biosynthèse de Prostaglandine E2 par l'inhibition directe de la prostaglandine E2 synthase (KOEBERLE A., 2009).

L'activité anti-inflammatoire de Cassis (*Ribes nigrum*) est attribuée aux proanthocyanidols qui inhibent la COX-1 et COX-2. Une seconde molécule le gallocatéchol inhibe préférentiellement la COX-2. En plus, cette plante contient des proanthocyanidols qui réduisent le taux de NO dans l'exsudat induit par la carragénine (GARBACKI N. et coll., 2004).

L'objectif du présent travail, **consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de plante codée AA03.**

D'après les enquêtes ethnobotaniques, que nous avons effectuées dans la région de Diego, la décoction des feuilles de cette plante est recommandée aux femmes après l'accouchement, ou pour résorber les hématomes ou pour arrêter toute hémorragie après un accident.

Après avoir analysé ces données, nous émettons l'hypothèse suivante que, le décocté de l'extrait AA03 pourrait inhiber au moins l'un des symptômes de l'inflammation.

Ce qui nous a menés à effectuer des études pharmacologiques *in vivo* chez le cobaye afin de vérifier cette hypothèse. L'extrait hydro alcoolique d'AA03 a été administré par voie orale chez les cobayes. Son effet anti-inflammatoire aigue a été étudié sur l'œdème de la patte provoqué par une injection de corps étranger et son effet sur l'inflammation subaiguë a été étudié sur le granulome provoqué par l'insertion de boule de coton sous la peau de cobaye.



MATERIELS ET METHODES

II. MATERIELS ET METHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

a. Préparation des matériels végétaux

Les feuilles de la plante codée AA03 ont été récoltées dans la région Est de Diego au mois de novembre 2014. Elles ont été séchées à l'ombre à la température ambiante pendant trois semaines. Une fois séchées, elles ont été broyées avec un broyeur à marteau au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC) de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo.

Cinq cent grammes de la poudre obtenue ont été macérés dans un ballon contenant un mélange éthanol-eau (60 : 40) pendant 7 jours à la température ambiante. Ce macérât a été filtré à l'aide d'un papier filtre Watman, et le filtrat a été ensuite évaporé à sec sous vide à la température de 80°C à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi® (figure 3). L'extrait brut ainsi obtenu a été pesé pour calculer le rendement de l'extraction suivant la formule :

$$\text{Rendement}(\%) = \frac{\text{masse de l'extrait obtenu}}{\text{masse de la poudre}} \times 100$$

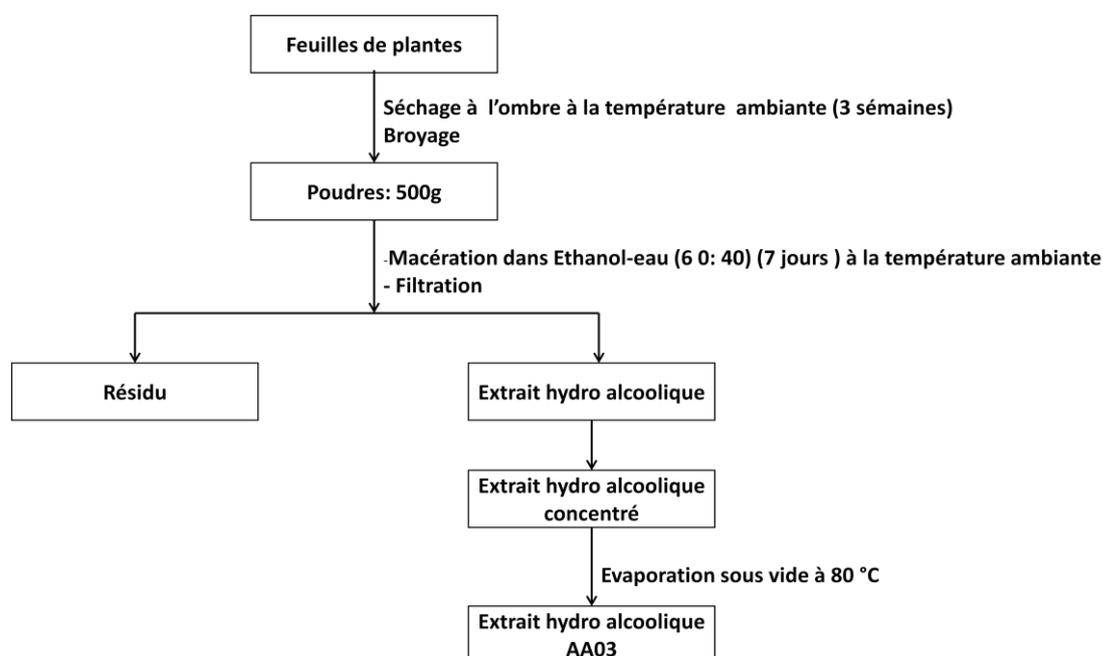


Figure 3. Les différentes étapes de la préparation de l'extrait AA03.

b. Criblage Phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué pour identifier les constituants chimiques présents dans l'extrait AA03. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en présence de réactifs spécifiques pour chaque famille chimique (FONG H.H.S et Coll., 1977) (Tableau II).

Afin de quantifier la teneur relative de chaque famille dans l'extrait, les légendes suivantes ont été utilisées :

(+++): Forte teneur dans l'extrait.

(++): Teneur moyenne.

(+): Faible teneur.

(±): Très faible teneur.

Tableau I. Tests utilisés pour détecter les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AA03 (FONG H.H.S et Coll., 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
Tanins		Gélatine + FeCl ₃ MeOH	Précipitation bleue ➤ Tanins galliques
		Gélatine+NaCl	Précipitation verte ➤ Tanins catéchiques
Polyphénols		Gélatine 10%	Apparition de précipitation ➤ Polyphénols
Coumarines		NaOH 10%	Fluorescence l'UV ➤ Coumarines
Stéroïdes et Triterpènes	LIBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique+H ₂ (SO ₄)	Coloration pourpre ➤ Terpénoïdes Coloration violet ou bleu ➤ stéroïdes
Sucres réducteurs		Liqueurs de Fehling	Précipitation rouge brique ➤ Sucres réducteurs
Polysaccharides		+3V éthanol	Trouble ➤ Polysaccharides
Saponines	Mousse	Agitation +HCl	Persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) 30min après l'agitation ➤ Saponines
Flavonoïdes	WIL-STATER	Ruban de Mg+HCl concentré	Précipitations ➤ Flavonoïdes
Alcaloïdes		Drangerdorf Mayer Wagner	précipitations ➤ Alcaloïdes

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

a. Matériels animaux

Des Cochons d'Inde de sexes mâle et femelle, pesant entre 200 g et 250 g ont été utilisés pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait AA03. Ils ont été élevés à l'animalerie du LPGPC de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, à la température entre 18 et 24°C, nourris avec des graminées fraîches et ont eu accès libre à l'eau avec un cycle de lumière-obscurité de 12 heures (SHUKLA P. et coll., 2010).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait a été étudiée *in vivo* sur une modèle d'inflammation aiguë et une inflammation subaiguë.

b. Etude de l'activité de l'extrait AA03 sur une inflammation aiguë

La propriété anti-inflammatoire de l'extrait AA03 a été étudiée selon la méthode décrite par WINTER (1962). Un corps étranger, une suspension de kaolin a été injectée au niveau de la voûte plantaire de la patte postérieure droite de cobayes pour induire l'inflammation.

Les Cobayes ont été répartis au hasard en 4 lots de 3 Cobayes. Ils ont été mis à jeun pendant 16 heures avant la manipulation mais ont eu accès à de l'eau à la volonté. Le périmètre initiale de la patte postérieure droite des Cobayes dans chaque lot a été mesuré à l'aide d'un fil à coudre avant d'être évalué en millimètres (mm) avec un pied à coulisse à affichage électronique de marque STAINLESS. Ce périmètre initiale a été noté p_0 . La précision de l'appareil est de 0,01 mm.

En suite, les Cobayes du lot témoin ont reçu de l'eau distillée par voie orale et les trois autres lots ont reçu l'extrait AA03 aux doses respectives de 125, 250 et 500 mg/kg dans un volume de 10 ml/kg, trente minutes avant l'injection de la suspension du kaolin (WINTER C. et coll., 1962 ; SINGH S. et coll., 1997; FLEURENTIN J. et coll.; 1997).

La suspension du kaolin a été préparée à la concentration de 1% dans du sérum physiologique (NaCl 0,9 %), un jour avant la manipulation, pour obtenir une suspension adéquate. Cinquante microlitres (50 μ l) de cette suspension de kaolin ont été injectées au niveau de la voûte plantaire de la patte postérieure (WINTER C.A. et coll., 1962) (Figure 4). Les animaux ont ensuite été remis dans la cage.

L'évolution de l'œdème de la patte arrière droite a été surveillée en mesurant le périmètre au niveau métatarsien (lacet) de la même manière que précédemment deux heures après l'injection du kaolin puis toutes les heures jusqu'à la 5^{ème} heure. L'augmentation des périmètres respectifs ont été notés de p_2 à p_5 (WINTER C.A. et coll., 1962).



L'augmentation du périmètre de la patte à un temps donné P_T a été calculé suivant la formule :

$$P_T = (P_t - P_0) \text{ témoin}$$

- P_0 représente le périmètre de la patte à $T=0$ avant de provoquer l'œdème
- P_t représente le périmètre de la patte à temps T quelconque après l'injection de la suspension du kaolin.

Ensuite, l'inhibition de l'œdème a été calculée suivant la formule de GARDENER D.L., (1960) et elle est exprimée en pourcentage.

$$\text{pourcentage (\%)} d' \text{inhibition} = \frac{((P_t - P_0) \text{ témoin} - (P_t - P_0) \text{ traité})}{(P_t - P_0) \text{ témoin}} \times 100$$

Une diminution du périmètre de la patte est considérée comme effet anti-inflammatoire.

c. Étude de l'effet de l'extrait AA03 sur la formation de tissu de granulation

L'activité de l'extrait AA03 sur l'inflammation subaigüe a été étudiée par sa capacité à réduire le granulome. Quatre lots de 3 Cobayes des deux sexes, pesant entre 200 et 250 g ont été utilisés. Une surface de 8 cm² (2 cm x 4 cm) au niveau de leur dos a été rasée 24h avant le test. Ils ont été mis à jeun 16 heures avant l'expérience mais ont eu accès à de l'eau à la volonté. Ensuite, des boules de coton imbibées d'une suspension de kaolin pesant 20 mg ont été insérées sous la peau au niveau du dos de chaque Cobaye. Tous les jours, à la même heure, pendant 7 jours, les Cobayes du lot témoin ont reçu 10 ml/kg de l'eau distillée, les lots 2, 3 et 4 ont reçu l'extrait AA03 aux doses respectives de 125, 250 et 500 mg/kg par voie orale, dans un volume de 10 ml/kg.

Au huitième jour, les animaux ont été euthanasiés et les boules de coton ont été retirées. Elles ont été immédiatement séchées dans une étuve à la température de 60 °C jusqu'à ce que leur poids soit constant (LAGISHETTY C.V. et coll., 2008).

Le poids du granulome en (mg) a été calculé par soustraction du poids de la boule de coton sèche à son poids humide.

L'inhibition de formation de granulomes a été déterminée suivant la formule (LAGISHETTY C.V. et coll., 2008):

$$(\%) IG = \left[1 - \frac{\text{poids du granulome en mg du lot traité par l'extrait AA03}}{\text{poids du granulome en mg du lot témoin traité par solution saline}} \right] \times 100$$

IG: inhibition du granulome

RESULTATS

III. RESULTATS

A. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait AA03 montre qu'il est riche en tanins. IL contient également une teneur moyenne de polyphénols, de stéroïdes, de triterpènes, de coumarines et de sucres réducteurs, tandis qu'il contient une faible teneur en polysaccharides, en saponines, en flavonoïdes et de trace d'alcaloïdes. (Tableau II).

Tableau II. Les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AA03.

Familles chimiques	Teneur de l'extrait hydro alcoolique(EHA)
TANINS	+++
POLYPHENOLS	++
COUMARINES	++
STEROÏDES ET TRITERPENES	++
SUCRES REDUCTEURS	++
POLYSACCHARIDES	+
SAPONINES	+
FLAVONOÏDES	+
ALCALOÏDES	±

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

a. Activité de l'extrait AA03 sur l'inflammation aigüe

L'injection de suspension du kaolin (50 μ l à 1%) dans la voûte plantaire provoque un œdème inflammatoire chez les Cobayes (Figure 4).



Figure 4. Photo montrant la voûte plantaire de patte de Cobaye avant et après l'injection de 50 μ l la suspension du kaolin à 1%.

L'administration de l'extrait AA03 par voie orale le diminue. Trois heures après l'injection de la suspension du kaolin le périmètre de la patte des cobayes non traités augmente et reste stable et égale à $44,08 \pm 0,5$ mm.

Deux heures après le traitement avec AA03, le périmètre de la patte des animaux traités avec une dose de 125 mg/kg est égal à $42,95 \pm 0,88$ mm ($P < 0,05$). Ce périmètre diminue avec la dose administrée et est égale à $42,20 \pm 0,46$ mm et $41,38 \pm 1,17$ mm aux doses respectives de 250 et 500 mg/kg ($P < 0,05$).

Par la suite, il diminue avec le temps et cinq heures après l'administration des ces trois doses, il est égale à $40,73 \pm 0,89$ mm, $38,87 \pm 0,97$ mm et $38,33 \pm 0,71$ mm respectivement pour 125, 250 et 500 mg/kg ($P < 0,05$). Cependant, il n'existe pas de différence significative entre le périmètre de la patte des animaux traités avec la dose de 250 et 500 mg/kg (N.S) après cinq heures (Figure 5).

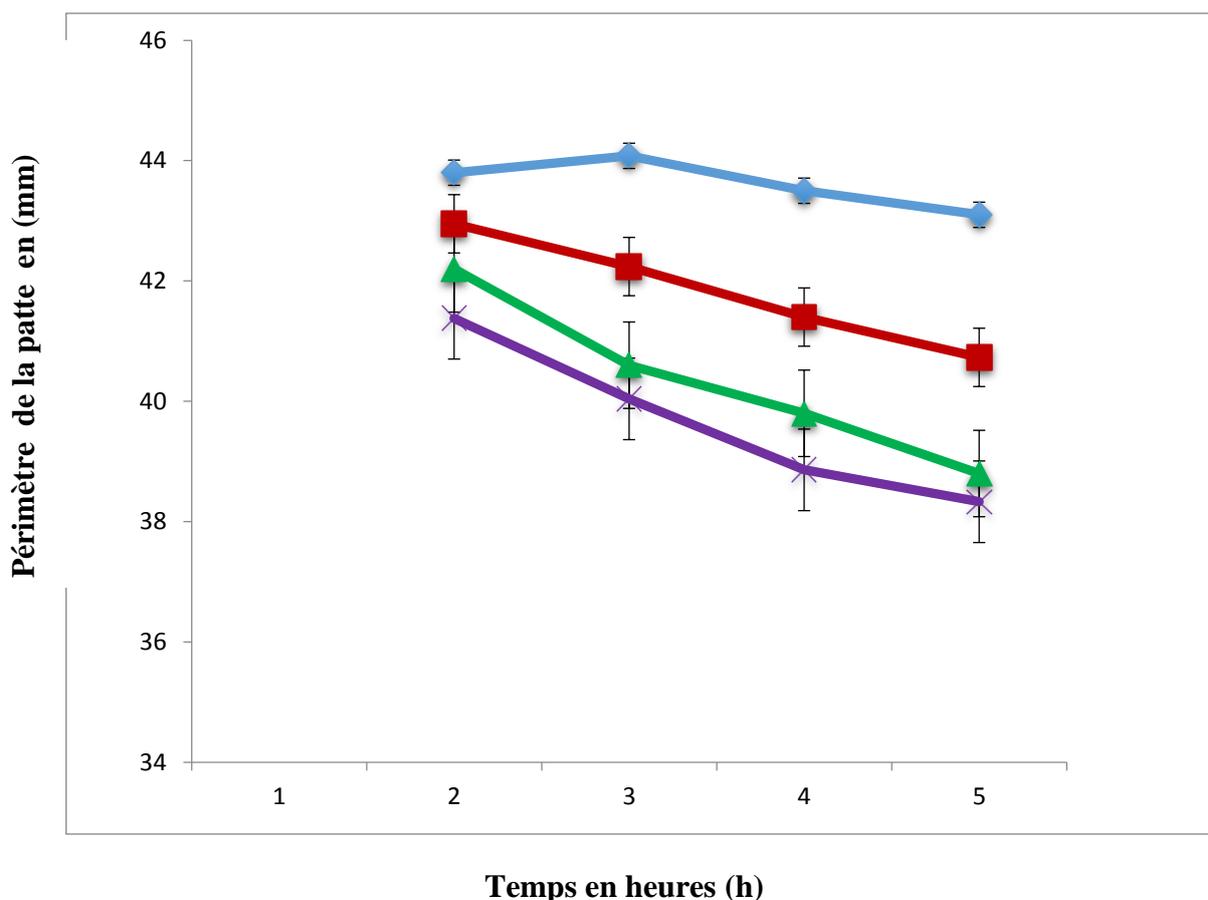


Figure 5. Effet de l'activité anti-œdémateuse sur l'évolution d'œdème de la patte enflammée chez les Cobayes traités par l'extrait AA03 à dose de 125 mg/kg (■), 250 mg/kg (▲), 500 mg/kg (✕) et témoin (◆) traité par eau distillée ($\bar{X} \pm e.s.m.$, $n = 3$; $p < 0,05$).

b. Effet de l'extrait AA03 sur l'inflammation subaiguë

L'activité de l'extrait AA03 sur l'inflammation subaiguë expérimentale a été étudiée sur le poids du granulome provoqué par l'insertion de boule de coton imbibé de kaolin sous la peau des cobayes. Nos résultats montrent que l'extrait AA03 administré par voie orale diminue le poids du granulome, par rapport au groupe du lot témoin.

Sept jours après administration de l'extrait AA03 chez les cobayes, à la dose de 125 mg/kg le poids du granulome est de $55,03 \pm 8,55$ mg contre $78,16 \pm 10,29$ mg ($p < 0,05$) chez les témoins, soit une inhibition de $29,59 \pm 0,16$ % de la formation de granulome.

Aux doses de 250 et 500 mg/kg le poids du granulome passe respectivement de $38,56 \pm 2,70$ mg et $27,70 \pm 2,6$ mg, soit une inhibition de $50,66 \pm 0,73$ % et $64,56 \pm 0,75$ % ($p < 0,05$) (Figure 6).

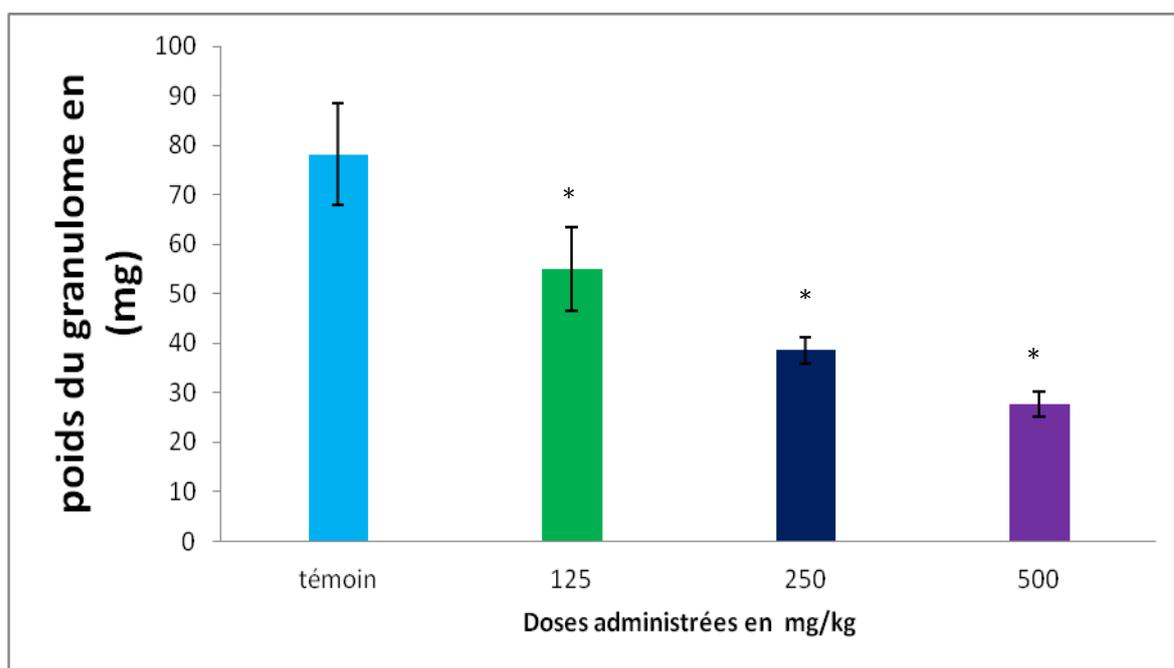


Figure 6. Variation du poids du granulome chez les cobayes témoins et traités avec l'extrait AA03 à la dose de 125 mg/kg (■), 250 mg/kg (■), 500 mg/kg (■) et témoin administré par 10 ml/kg (■) d'eau distillée par voie orale ($\bar{X} \pm e.s.m.$, $n = 3$; $*P < 0,05$).

D'après ces résultats, l'extrait AA03 possède une activité anti-inflammatoire subaiguë.

DISCUSSION

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait AA03 chez les cobayes

IV. DISCUSSION

La présente étude avait pour objectif d'étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait AA03 administré par voie orale chez les cochons d'inde. Et nos résultats montrent que l'extrait AA03, diminue l'œdème provoqué par l'injection de kaolin dans la voûte plantaire des animaux et la formation de granulome.

Les criblages phytochimiques réalisés sur l'extrait AA03 ont révélé la présence de tanins, de polyphénols, de stéroïdes, de triterpènes, de coumarines, de sucres réducteurs, de polysaccharides, flavonoïdes et de saponines.

L'activité anti-inflammatoire de cet extrait pourrait être apportée par l'une des ces composés chimiques.

D'après MANTHEY J.A. (2000) et ses collaborateurs, les flavonoïdes inhibent la production de prostaglandines et les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , INF- γ) très actives par un effet anti-chimiotactisme. Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait AA03 révèle la présence de flavonoïdes, on peut avancer que son effet anti-inflammatoire serait lié à cette famille chimique.

D'autre part, AMEZOUAR F. et ses collaborateurs (2013) ont également prouvé que l'activité anti-inflammatoire d'*Erica arborea* L. est liée à la présence des polyphénols et flavonoïdes. Or l'extrait AA03, contient encore ces familles chimiques. Par analogie, on peut avancer une autre hypothèse que son activité anti-inflammatoire pourrait être due à une ou plusieurs molécules présentes dans ces familles chimiques.

Toutefois, ceci n'empêche que d'autres familles chimiques présentes dans l'extrait AA03, d'être impliquées dans cette propriété anti-inflammatoire, comme c'est le cas des tanins contenus dans *Momordica balsamina* Linn (KARUMI Y. et coll., 2003) et d'*Anacardium occidentale* L. (MOTA R. et coll., 1985).

L'injection de la suspension du kaolin dans la voute plantaire provoque un œdème et une vasodilatation locale au bout de cinq heures chez les Cobayes non traités.

D'après nos résultats, l'extrait AA03 diminue la formation de cet œdème deux heures après l'injection de kaolin.

Cette diminution pourrait être expliquée par l'inhibition de la libération des médiateurs responsables de la perméabilité vasculaire tels que l'histamine, la sérotonine, NO, kinines et les prostaglandines (YUH-FUNG C. et coll., 1996). L'inhibition de cette perméabilité vasculaire diminue l'exsudation de l'eau et des protéines plasmatiques, ce qui contribue à faire régresser l'œdème ainsi que les autres signes le caractérisant comme la rougeur et la douleur.

Ces activités anti-inflammatoires continuent à se faire deux heures après le traitement; mais elles dépendent avec la dose administrée.

Après la phase vasculaire, s'installe la phase cellulaire qui joue un rôle essentiel dans l'inflammation subaiguë. L'action anti-œdémateuse de l'extrait AA03 se poursuit trois heures après le traitement. Ceci se traduirait par une inhibition des leucocytes pré-activés par les facteurs chimiotactiques vers le foyer lésionnel et qui diminue la libération des médiateurs pro-inflammatoires comme les cytokines, chemokines, PAF-acether et éicosanoides (DI ROSA M., 1974). On peut émettre l'hypothèse que l'extrait n'agit non seulement dans la phase vasculaire, mais encore pendant la phase cellulaire.

En outre, la boule de coton imbibée ou imprégnée de suspension de kaolin constitue un corps étranger, son implantation sous la peau des cobayes provoque une réaction inflammatoire avec la libération d'histamine, de sérotonine, de leucotriènes, de PAF et de PGs qui augmentent la perméabilité vasculaire et la migration des polynucléaires vers le site inflammatoire (PELTIER P., 1985; DAWSON J. et coll., 1991). Or l'administration per os de l'extrait AA03 inhibe cette inflammation. C'est-à-dire que cet extrait inhibe la formation du granulome sous-cutané par l'implantation de boules de cotons (Figure 6). Selon les travaux effectués par MANTHEY J.A., en 2000, la production de médiateurs pro-inflammatoires qui sont à l'origine de l'augmentation de la perméabilité capillaire est inhibée par des flavonoïdes. Or, l'extrait AA03 contient des flavonoïdes, Il est donc possible que l'inhibition de cette inflammation serait due à la diminution de la production des médiateurs pro-inflammatoires et de la migration des leucocytes vers le foyer inflammatoire par un effet anti-chimiottractant. Ceci pourrait être aussi les résultats d'une diminution de l'accumulation des polynucléaires neutrophiles par passage (diapédèse) vers le site inflammatoire, ainsi qu'une inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires (ROBBINS, 2012).

CONCLUSION

V. CONCLUSION

L'extrait AA03 administré par voie orale possède un effet anti-inflammatoire aigu et subaigu. Il diminue l'œdème provoqué par l'injection d'une suspension du kaolin dans la voûte plantaire ainsi que la formation de granulome chez les cobayes. Cet effet anti-inflammatoire de l'extrait AA03 pourrait être dû à la présence des flavonoïdes (ou des polyphénols) qui inhibent la production des médiateurs pro-inflammatoires à l'origine de la perméabilité capillaire.

Cependant les activités pharmacologiques ou biologiques des autres familles chimiques présentes dans la plante ne doivent pas être ignorées comme les saponines, les alcaloïdes..., malgré leur faible présence en teneur dans cet extrait.

Les principes actifs doivent être isolés pour pouvoir déterminer son mécanisme d'action.

BIBLIOGRAPHIES

- AMEZOUAR F., BADRI W., HSAINE M., N., B., FOUGRACH H. (2013).
Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire d'Erica arborea L. *Maroc. Path. Biol.*, **61**: 254-258.
- BARNES P.J., (1998).
Actions anti-inflammatoires des glucocorticoïdes: mécanismes moléculaires.
Clin. Sci. (London), **94**(6): 557-572.
- BASNET P., SKALKO-BASNET, N. (2011).
Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment.
Molecule, **16**: 4567- 4598.
- BRUNETON J. (1999).
Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales.
3eme édition, Ed. Tech et Doc Paris : 658-666.
- CHARLES N.S., PETER A.W., DEREK W.G. (2010).
Fundamentals of Inflammation.
Cambridge University Press: 2-3.
- COHEN Y. (1986).
Abrégés de pharmacologie: Anti-inflammatoires.
Ed. Masson (Paris), Chap. 5, 337-355.
- DAWSON W., WILLOUGHBY D.A. (1984).
Inflammation: mechanism and mediators.
Wiley Interscience publication, **5**: 77-109.
- DAWSON J., SEDGWICK A., EDWARDS J., LEES P. (1991).
A comparative study of the cellular, exudative and histological responses to carrageenan, dextran and zymosan in the mouse.
Int. J. Tissue React., **13** (4): 171-185.
- DI ROSA M. (1974).
Tendances dans l'inflammation : Effets des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens sur la migration des leucocytes.
Piccin Medical Books (Padova), 829-839.
- DOMART A., BOURNEUF J. (1981).
Nouveau Larousse médical.
Ed. LAROUSSE, (Paris) : 530.



- DUPOND J., (2003).
Inflammation et anti-inflammatoires : pour la pratique.
Rev. Prat, **53**: 465-580.
- FARNSWORTH N.R., AKERELE O., BINGEL A.S. (1985).
Medicinal plants in therapy.
Bull. World Health Organization, **63**: 965-81.
- FERRADJI A. (2011).
Activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies de *Pistacia lentiscus*.
Thèse de Master II en Biochimie appliquée, Université FERHAT Abbat-SETIF (Algérie), Chap. 2, 1-5.
- FERGUSON L.R. (2010).
Chronic inflammation and mutagenesis.
Mutat. Res. **690**: 3-11.
- FIALIP J. (2002).
Les Eicosanoides.
Ed. S.F.E., (Paris), Chap. 3, 270-278.
- FLEURENTIN J., BAGHDIKIAN B.L, ANHERS M. (1997).
Analytical study, anti-inflammatory and analgesic effect of *Harpagophytum procumbens* and *Harpagophytum zeyheri*.
Planta Med., **63** (2): 172-176.
- FONG H.H.S., TIN-WA M., FARNSWORTH N.R. (1977).
Phytochemical screening.
Rev. University of Illinois, Chicago (USA): 6-7.
- FUNK J.L., FRYE J. B., OYARZO J. N. (2006).
Efficacy and mechanism of action of turmeric supplements in the treatment of experimental arthritis.
Arthritis and Rheumatism, **54**: 3542-3464.
- GALATI E.M., MONTFORTE M.T., KIRJAVAINEN S., FORESTIERI A.M.,
TROVATO A., TRIPODO M.M. (1994).
Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid (Note 1) *anti-inflammatory and analgesic activity*.
Farmaco. **40**: 709-712.
- GARBACKI N., TITS M., ANGENOT L., DAMAS J. (2004).
Inhibitory effects of proanthocyanidins from *Ribes nigrum* leaves on carrageenin acute inflammatory reactions induced in rats.
Pharmacol., **21**: 4-25.

- GARDENER D. L. (1960).
The experimental production of arthritis.
Ann-Rheum. Dis., **19**: 297-317.
- HAEFFNER-CAVAILLON N. (1998).
La réponse inflammatoire.
Rev. Med. Interne, **19**: 585-588.
- HOSFORD D., BRAQUET P. (1990).
The potentiel of platelet activating factor in shock and ischemia.
J. Crit. Care, **5**: 115-136.
- JEAN B., (2009).
Sémiologie clinique.
Elsevier Masson, 8ème Edition: 430-443.
- JURENKA J.S. (2009).
Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*.
A Review of Preclinical and clinical Research, **14** (2): 141-153.
- KIDD B.L., MORRIS V.H., URBAN L. (1996).
Pathophysiology of joint pain.
Ann. Rheum. Dis., **55**: 276-83.
- KARUMI Y., ONYEYILI P., OGUGBUAJA V.O. (2003).
Anti-inflammatory and antinociceptive (analgesic) properties of *Mo-mordical balsamina* Linn.
(Balsam apple) leaves in rats.
Pak. J. Biol. Sci., **6**: 1515–1518.
- KOEBERLE A., NORTHOFF H., BLOCS W.O. (2009).
Curcumine prostaglandine E2 biosynthèse par inhibition directe de la prostaglandine E2
synthase microsomale-1.
J. Mol. Cancer Ther., **8**: 2348-2355.
- LAGISHETTY C.V., NAIK S.R. (2008).
Polyamines: des agents anti-inflammatoires potentiels et leur mécanisme d'action possible.
J. Pharmacol. Ind., **40**: 121-125.
- LENIHAN D.J., LEE T.H. (1984).
Régulation of platelet-activating factor synthesis : modulation of 1-alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-
phosphocholine acetyl-CoA acetyltransferase by phosphorylation and dephosphorylation in rat
spleen microsomes.
Biochem Biophys. Res. Commun., **120**: 834-839.

- MANTHEY J.A. (2000).
Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation.
Microcirc., **7**: 28-34.
- MELINA Z. (2009).
Intérêt du dosage par microméthode de la protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie.
Univ. Henri POINCARÉ-NANCY I (France), Thèse de Doctorat en Pharmacie, 1-83.
- MEYERS F. H., J. E. (1986).
Lange medical publication.
Med. Pharmacol., 280-293.
- MOTA R., THOMAS G., BARBOSA FILHO J.M. (1985).
Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale L.*
J. Ethnopharmacol., **13**: 289-300.
- NATHAN C. (2002).
Points of control in inflammation.
Nat., **420**: 846-852.
- NETTER P., BANNWARTH B., PERE P. (1987).
AINS: Principes et règles d'utilisation.
Rev. Praticien., **37**: 2471-2473.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé), (2002).
Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005.
Genève, *WHO/EDM/TRM/2002. 1*: 1-63.
- PATHAK D., PATHAK K., SINGALA A.K. (1991).
Flavonoids as medical agents-recent advances.
Fitoterapia , **62**: 371-389.
- PELTIER P. (1985).
L'inflammation: l'inflammation chronique.
Ed. John Libbey, Eurotext, (Paris), Chap. 5, 165-170.
- PERRETTI M., AHLUWALIA A. (2000).
La microcirculation et l'inflammation: site d'action pour les glucocorticoïdes.
Rev. Microcirc., **7 (3)**: 147-161.
- RAO C.V. (2007).
Règlement de la COX et LOX par la curcumine.
Adv. Exp. Biol. Med., **595**: 213-226.

ROBBINS (2012).

Anatomie pathologique Générale: inflammation.

Basic pathology, 9th Ed. P.P.Saint-Maur, (France), 445-715.

ROIFMAN I., BECK P.L., ANDERSON T.J., EISENBERG M.J., GENEST J. (2011).

Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review.

Can J. Cardiol., 27: 174-182.

RUSSO-MARIE F., PELLETIER A., POLLA B.S. (1998).

L'inflammation.

Ed. John Libbey, Eurotext, (Paris): 133-141.

SAXENA R.S., GUPTA B.D., SAXENA K.K., SINGH R., PRASAD D.N. (1987).

Etude de l'activité anti-inflammatoire des feuilles de *Nyctanthes tonnelle-tristis* Linn.

J. Ethnopharmacol., 11: 319-330.

SCHORODERET M., DAYER J.M. (1998).

Pharmacologie, des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques.

Ed. FRISON-ROCHE (Paris), Chap. 21, 529-561.

SHUKLA P., P SHUKLA, MISHRA S.B., GOPALAKRISHNA B. (2010).

Dépistage de l'activité anti-inflammatoire et antipyrétique de *Vitex leucoxydon* Linn.

J. Pharmacol. Ind., 42: 409-411.

SINGH S., BANIS, GUPTA B.D., BANERJE S.K. (1997).

Anti-inflammatory activity of Lupeol.

Fitoterapia, 68 (1): 9-16.

SINGH S., DK M., REHAN H.M.S. (1996).

Évaluation du potentiel anti-inflammatoire de l'huile fixe d'*Ocimum sanctum* (Holybasil) et son mécanisme d'action possible.

J. Ethnopharmacol., 54: 19-26.

VALAT J. P. (1999).

Les médicaments anti-inflammatoires.

Fiches de transparence de l'agence du médicament, Ed.Orphie, 2^e édition (Paris), 245-250.

VANE J. (1971).

Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs.

Nat. New Biol., 231: 232-235.

WINTER C.A., RISLEY E.A., NOSS G.N. (1962).

Carrageenan induced edema of rats as an assay for anti-inflammatory drugs.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., (New York), 111: 544-547.

YUH-FUNG C., HUEI-YANN T., TIAN-SHUNG. (1995).

Activités anti-inflammatoires et analgésiques W. à partir de racines d'Angelica pubescens.

Planta Med., 61: 2-8.

RESUME

L'objectif de nos travaux de recherches a été d'étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro alcoolique des feuilles de la plante codée AA03 chez les Cobayes. Les tests ont été réalisés *in vivo* chez des Cobayes à jeun de 16 heures avant toute administration.

L'activité anti-inflammatoire de cet extrait a été étudiée chez le Cobaye sur l'œdème de la patte provoqué par la suspension de kaolin. Les résultats ont montré une activité anti-inflammatoire avec une diminution du périmètre de la patte au bout de cinq heures de $44,08 \pm 0,5$ mm $40,73 \pm 0,89$ mm, $38,87 \pm 0,97$ mm et $38,33 \pm 0,71$ mm respectivement pour 125, 250 et 500 mg/kg ($P < 0,05$).

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait AA03 testé sur la fonction de granulome inhibe l'inflammation induite chez le cobaye avec des pourcentages de $29,59 \pm 0,16$ %, $50,66 \pm 0,73$ % et $64,56 \pm 0,75$ % respectivement, avec des doses de 125 , 250 et 500 mg /kg ($P < 0,05$). La présence des flavonoïdes, des polyphénols ou des tanins dans cet extrait pourrait être responsable de cette activité anti-inflammatoire.

Mots clés: activité anti-inflammatoire, Cobayes, granulome, kaolin, œdème.

ABSTRACT

The anti-inflammatory activity of the hydro-alcoholic extract of the leaves of the plant coded, AA03, was studied in Guinea pigs. Tests were carried *in-vivo* using Guinea pigs fasted 16 hours before the administration of the extract. The anti-inflammatory activity of the extract was studied by investigating its effect on oedema induced in the paw of the Guinea-pigs by the suspension of kaolin. The administration of 125, 250 and 500 mg/kg of the extract showed a reduction of the perimeter of the paw from 44.08 ± 0.5 mm to 40.73 ± 0.89 mm, 38.87 ± 0.97 mm and 38.33 ± 0.71 mm respectively within five hours ($P < 0.05$).

Tested for the effect on granuloma, the AA03 extract at doses 125, 250 and 500 mg /kg inhibit 29.59 ± 0.16 %, 50.66 ± 0.73 % and 64.56 ± 0.75 % respectively of induced inflammation in the Guinea pig ($P < 0.05$). This anti-inflammatory activity could be due to the presence of flavonoïds, polyphenols or tanins in the extract.

Key words: anti-inflammatory activity, Guinea pigs, granuloma, kaolin, oedema.

