

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Sabeur iman

Saidi sabrina

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité : Pharmaco-Toxicologie

THÈME

**Contribution à l'étude de l'activité anti-
inflammatoire de noyaux des dattes (*Phoenix
dactylifera*) variété « Deglet Nour »
-Etude *in vivo*- chez les souris NMRI**

Soutenu publiquement le 10/07/2019

DEVANT LE JURY

Président(e)	Mme Amari Nesrine	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	Pr. Djebli Nouredine	Professeur	U. Mostaganem
Examinatrice	Mme Rached wahiba	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de recherche LPAP

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je rends grâce à Allah de m'avoir donné la vie, la force nécessaire pour réaliser ce travail. Louange à Allah, tout puissant, clément et miséricordieux. Un travail de fin d'étude est le fruit d'un travail collectif. Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon mémoire et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce document.

*Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur soutien et leur aide dans la construction de cette étude : notre encadreur Monsieur **Noureddine Djebli** professeur au département de biologie de l'université de Mostaganem , qui à travers son rôle de directeur de mémoire et professeur, sa patience et ses précieux conseils, pour sa disponibilité exceptionnelle et ses nombreuses critiques constructives. qui me servira beaucoup à l'avenir. Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères au co-encadreur madame **Ben Diab hadjer**, une femme de science passionnée, dévouée et perspicace qui a à cœur la formation et la réussite de ses disciples pour la richesse et la qualité de son enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à ses étudiants une formation de qualité. . Mille mercis pour votre soutien, votre confiance inébranlable.*

*J'exprime ma reconnaissance à madame **Amarí Nesrine** qui a eu l'amabilité et fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.*

*J'exprime ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à madame **Rached Wahiba** qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce travail.*

Je voudrais aussi remercier, toute l'équipe de laboratoire de recherche et les intervenants professionnels responsables de ma formation en particulier Mme Mdjahed.

Dédicaces

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, que dieu te garde dans ma vie, à toi mon père.

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.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et mes sœurs, mes nièces Rania, Rihab et Widjane, sans oublier mes oncles et mes tantes que j'aime,

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient Toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon Chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, Et sœurs de cœur.

IMAN

Dédicace

A mes très chers parents.

Unique et irremplaçable, aucune dédicace ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect et l'amour que je vous porte. Votre aide, vos encouragements et vos prières m'ont été d'un grand secours tout au long de mes études. Vous été pour moi l'exemple du sérieux et de la droiture.

Que Dieu vous garde et vous prête une longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour

A ma très chère et unique sœur.

Tu es ma sœur, mon amie et ma confidente. Aucune expression, aussi élaborée qu'elle soit, ne pourrait traduire ma profonde gratitude et ma reconnaissance pour toutes ces années de sacrifices et de dévouement. Puisse Dieu te préserver des malheurs de la vie et te procurer longue vie.

A mon très cher et unique frère.

Je te dédie ce travail en témoignage de l'amour et de la gratitude pour l'épaule inconditionnelle que tu représentes pour moi. Que Dieu te comble de bonheur, de santé et de succès dans ta vie et te protège.

A mon très cher mari.

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Ma vie à tes côtés est remplie de belles surprises. Tes sacrifices, ton soutien moral et, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

Sabrina

لالتهاب هو مجموعة من ردود الفعل التي يولدها الجسم رداً على العدوان. يمكن أن يكون هذا من أصل خارجي كجرح أو إصابة أو صدمة أو يأتي من داخل الجسم نفسه كما في أمراض المناعة الذاتية. ومن المعروف أن العديد من النباتات لاستخدامها في الطب التقليدي لعلاج العديد من الأمراض بما في ذلك الأمراض المكونة للالتهابات.

ركز بحثنا على الجزء غير صالح للأكل من التمر (نواة) من ثمار النخيل، متنوعة من أصل جزائري. الاهتمام الرئيسي لدراستنا هو إيجاد أساس علمي لاستخدام نواة التمر في المجال العلاجي. ويستند هذا الأخير على جزئين الأول يتوافق مع تحضير المستخلصات المائية وكيثونية لنوى التمور متبوعة بتحليلات كيميائية نباتية نوعية مما جعل من الممكن تسليط الضوء على العديد من الأيضات الثانوية، وقد تم الانتهاء من هذا التحليل عن طريق تحديد كمي من مجموع الفينولات والفلافونويد، والثاني يتعلق بتقييم النشاط المضاد للالتهابات من المقطعات في الجسم الحي. يتم إجراء دراسة نسيجية في نهاية هذه التجربة.

تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات عن طريق قياس % وذمة الناجم عن الكاراجينان في الجزء الفرعي من مخلب الفئران. كشفت نتائج النسبة المئوية لتثبيط وذمة مخلب الفئران التي عولجت مع المستخلص المائي ومستخلص الكيتون في 100 و200 و300 ملغم / كغم زيادة كبيرة مقارنة مع الفئران التي عولجت مع ديكلوفيناك 50 ملغم. / كغم بعد حقن الكاراجينان. تؤكد النتائج المرضية للنسيج الجلدي لمخلب الفئران على التأثير المضاد للالتهابات في المستخلصين المائي والكيثوني للجزء غير صالح للأكل من التمور.

تسمح لنا هذه التجربة بتأكيد النشاط المضاد للالتهابات في مستخلصي نواة التمر من أصل جزائري، وفقاً لشروط دراستنا.

الكلمات المفتاحية: نواة التمر، النشاط المضاد للالتهابات، الفئران، التحليلات الكيميائية النباتية، الاستخلاص

Résumé

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme, ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme dans des pathologies auto-immunes.

De nombreuses plantes sont connues pour leur utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies dont les maladies à composante inflammatoire.

Notre recherche s'est portée sur la partie non comestible de datte (noyau) du fruit du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. la variété Deglet-Nour d'origine Algérienne.

L'intérêt essentiel de notre étude est de trouver une base scientifique à l'utilisation de noyau de datte dans le domaine thérapeutique. Cette dernière est basée sur deux vols ; le premier correspond à la préparation des extraits aqueux et cétonique de noyaux de dattes suivie d'analyses phytochimiques qualitatives qui permis de mettre en évidence plusieurs métabolites secondaires, cette analyse a été complétée par une détermination quantitative des phénols totaux et flavonoïdes, le second concerne l'évaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits in vivo. Une étude histologique est effectuée à la fin de cette expérimentation.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en mesurant l'œdème induit par la carragénine à 1% au niveau de la partie sub-plantaire de la patte des souris NMRI. Les résultats du pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées avec l'extrait aqueux et l'extrait cétonique à 100, 200 et 300mg/kg ont dévoilés une augmentation significative comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac[®] à 50mg/kg après l'injection de la carragénine.

Les résultats histopathologique de tissu cutanée de la patte des souris confirme l'effet anti-inflammatoire des deux extraits aqueux et cétonique de la partie non comestible de dattes.

Cette expérimentation nous permet d'affirmer l'activité antiinflammatoire des deux extraits de de noyau de datte (DegletNour) d'origine Algérienne, selon les conditions de notre étude.

Mots clés : noyau de datte, activité antiinflammatoire, souris, analyses phytochimique, extraction

Abstract

The inflammation is a set of reactions generated by the body in response to a sustained assault. It can be of foreign origin as an injury, infection, trauma, or come from the inside of the body itself as in autoimmune diseases. Many plants are known for their use in traditional medicine for the treatment of several diseases including diseases inflammatory component. Our research has focused on the inedible date (kernel) part of the fruit of the date palm Phoenix named 1. variety Deglet-Nour of Algerian origin.

The focus of our study is to find a scientific basis for the use of date kernel in the therapeutic field. It is based on two stolen; the first is the preparation of aqueous and Keto dates nuclei extracts followed by qualitative phytochemical analyses which allowed to highlight several secondary metabolites, this analysis has been supplemented by a determination quantitative phenolic flavonoids and totals, the second concerns the assessment of the anti inflammatory activity of the extracts in vivo. A histological study is conducted at the end of this experiment.

The anti-inflammatory activity was assessed by measuring the edema induced by carrageenan 1% at the level of the sub-plantaire part of the leg of the NMRI mice. Results the percentage of inhibition of edema of the leg of treated mice with the aqueous extract and the Keto extract in 100, 200 and 300 mg/kg were disclosed a significant increase compared to the mice treated with Diclofenac® 50 mg/kg After the injection of the carrageenan.

The cutaneous tissue of mice paw histopathological results confirms the anti-inflammatory effect of two Keto from the inedible part of dates and aqueous extracts. This experimentation allows us to affirm the anti-inflammatory activity of the two extracts of kernel (DegletNour) date of Algerian origin, according to the conditions of our study.

Key words: seeds of date, anti-inflammatory activity, mouse, phytochemical, extraction analysis

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste abrégées	
Introduction général	1

Chapitre I

I.1. Généralités	3
I.2. Manifestations cliniques	3
I.3. Etiologies	4
I.4. Les différents types de l'inflammation	4
I.4.1. Inflammation aiguë	4
a) Phase vasculaire	4
b) La phase cellulaire.....	4
I.4.2. Inflammation chronique.....	6
I.5. Les cellules de l'inflammation.....	7
I.5.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)	7
I.5.2. Les mastocytes	7
I.5.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires	8
I.5.4. Les plaquettes sanguines.....	8
I.5.5. Les Polynucléaire basophiles	8
I.5.6. Les polynucléaires éosinophiles.....	8
I.5.7. Les fibroblastes	9
I.5.8. Les lymphocytes	9
I.5.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux	9
I.6. Les médiateurs de l'inflammation.....	10
I.6.1. Histamine	10
I.6.2. Sérotonine 5-HT.....	10
I.6.3. Bradykinines	10

1.6.4. Leukotrienes	10
I.6.5. Facteurs d'activation des plaquettes PAF	10
I.6.6. Chimioquinas	11
I.6.7. Prostaglandines	11
I.7. Caractères morphologiques communs aux inflammations aiguës et chroniques.....	11
I.7.1. Inflammation congestive et œdémateuse	11
I.7.2. Inflammation hémorragique.....	12
I.7.3. Inflammation fibrineuse.....	12
I.7.4. Inflammation thrombosante	12
I.7.5. Inflammation gangréneuse.....	13
I.8. Certains organes touchés par l'inflammation	13
I.8.2. Pharyngite	13
I.8.3. Hépatite	14

Chapitre II

II.1. Anti-inflammatoires.....	15
II.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	15
Classification des AINS	15
Mécanisme d'action	15
II.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	16
Classification.....	16
Mécanisme d'action	16
II.1.3. Effets secondaires des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens.....	16
Effets indésirables digestifs.....	16
Réactions cutanéomuqueuses et allergiques	17
Troubles rénaux.....	17
Troubles cardiovasculaires.....	17
Troubles infectieux.....	17
II.2. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	18
II.2.1. Certaines plantes médicinales pourvues de propriétés anti-inflammatoire	18

Chapitre III

III.1. Le palmier dattier	20
III.1.1. Généralités.....	20
III.1.2. Classification.....	21
III.1.3. Répartition géographique du Phoenix <i>dactylifera</i> L	21
III.1.4. La production et le rendement du palmier dattier	23
III.2. Le noyau de datte	25
III.2.1. Composition biochimique du noyau	25
III.2.2. Phytochimie du noyau	27
III.2.3. Activités thérapeutiques du noyau	27
Activité hépato protectrice	27
Activité antivirale.....	27
c) Activité antioxydant	27

Partie expérimentale

I. Etude phytochimique des extraits de noyaux de dattes.....	28
I.1. Matériel végétal	28
I.2. Analyse morphologique	28
I.3. Préparation des extraits bruts de noyaux de dattes	28
I.3.1. Extraction aqueuse	29
I.3.2. Extraction cétonique	30
I.4. Etude phytochimiques.....	32
I.4.1 analyses phytochimiques qualitatives (screening phytochimique)	32
I.4.1.1 Détection des tanins	32
I.4.1.2. Détection des flavonoïdes	32
I.4.1.3. Détection des alcaloïdes.....	32
I.4.1.4 Détection des saponosides	33
I.4.1.5. Détection des terpénoïdes	33
I.4.1.6 Détection des anthocyanes	33
I.4.1.7 Détection des coumarines	33

I.4.1.8 Détection des stérols	33
I.4.1.9 Détection des carbohydrates	34
I.4.2 Analyse phytochimiques quantitatives	34
I.4.2.1 Détermination de teneurs en phénols totaux.....	34
I.4.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes	34
II. Etude de l'activité anti-inflammatoire des extraits de noyaux de dattes	35
II.1. Matériel animal.....	35
II.2. Test de toxicité.....	36
II.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	37
II.3.2. Induction de l'inflammation	38
II.4. Etude histologique	40
II.5. analyse statistique	45
III. Résultats de l'étude phytochimiques des extraits de noyaux de datte.....	46
III.1 Caractérisation morphologique des noyaux de <i>Deglet-Nour</i>	46
III.2 Analyses phytochimiques.....	46
III.2.1 Screening phytochimique (Analyses phytochimiques).....	46
IV. Résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits de noyaux de dattes	48
IV.1 Test de toxicité	48
IV.2. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) des extraits aqueux et cétonique	48
IV.3. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (% INH) des extraits aqueux et cétonique :	53
V Etude histologique.....	56
V.1 Histologie du tissu cutané chez les témoins négatifs.....	56
V.2 Histologie de tissu cutané chez les témoins positifs.....	58
V.3 Histologie du tissu cutané des souris traitées avec le Diclofénac.....	59
V.4 Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec l'extrait aqueux de noyaux.....	60
V.5 Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec l'extrait cétonique de noyau de datte.....	62
Discussion.....	64
Référence bibliographique	
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 : la phase précoce du processus inflammatoire suite à une infecti... ..	06
Figure 2 : Inflammation de la peau (Anonyme, 2016).....	14
Figure 3 : Palmier dattier.....	20
Figure 4 : Distribution géographique du palmier dattier dans le monde	22
Figure 5 : Carte d'Algérie, indiquant les différentes zones phoenicicole... ..	23
Figure 6 : Les principaux pays producteurs de dattes en quantité moyenne.....	24
Figure 7 : L'évolution de la production totale de datte de l'Algérie en Qx	24
Figure 8 : Noyau de dattes.....	25
Figure 9 a. Carte géographique de la région de Tolga (Biskra) (Google earth).	
b. Palmier dattier Phoenix <i>dactylifera</i> L.....	28
Figure 10 : a : les noyaux choisis. b : la poudre de noyaux.....	29
Figure 11 : schéma représentatif de l'extraction aqueuse de noyaux de dattes.....	30
Figure 12 : schéma représentatif de l'extraction cétonique de noyaux de datte.....	31
Figure 13 : souris de la soucheNMRI.....	36
Figure 14 : Répartition des lots.....	38
Figure 15 : a : Voie d'administration.	
b : induction de l'inflammation par la caragénine.....	39
Figure 16 : a : patte avant l'injection de la carragénine. b : patte après l'injection de la carragénine	39
Figure 17 : Circulation.....	41
Figure 18 : Microtomie.....	42
Figure 19 : déparaffinage et réhydratation.....	43

Figure 20 : Coloration.....	44
Figure 21 : Montage.....	44
Figure 22 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg) et les souris traitées par l'extrait aqueux avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparant aux souris témoins	49
Figure 23 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg) et les souris traitées par l'extrait cétonique avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de poids corporel comparant aux souris témoins.....	50
Figure 24 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par l'extrait aqueux avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparativement aux souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg).....	51
Figure 25 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par l'extrait cétonique avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparativement aux souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg).....	52
Figure 26 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées avec l'extrait aqueux avec les dose 100, 200 et 300mg/kg comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg).....	53
Figure 27 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées l'extrait cétonique avec les doses 100,200 et 300mg/kg comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg).....	54
Figure 28 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux comparativement aux des souris traitées par l'extrait cétonique avec les dose 100, 200 et 300 mg/kg.....	55
Figure 29 : Coupes histologiques d'un tissu cutané (hématoxyline + éosine,X40).....	57
Figure 30 : Coupes histologiques d'un tissu cutané enflammé (hématoxyline + éosine, X40).....	58
Figure 31 : Coupes histologiques d'un tissu cutané enflammé traité avec le Diclofénac® (hématoxyline + éosine, X40).....	59

Figure 32 : coupes histologiques des tissus cutanées des pattes de souris traitées avec de l'extrait aqueux de noyaux de datte (100,200 et 300 mg/kg).....61

Figure 33 : coupes histologiques des tissus cutanées des pattes de souris traitées avec de l'extrait cétonique de noyaux de datte (100,200 et 300 mg/kg).....63

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques exemples des plantes pourvues d'activités anti inflammatoire	19
Tableau 2 : la classification de palmier dattier	21
Tableau 3 : Composition biochimique des noyaux de dattes.....	26
Tableau 4 : la composition en éléments minéraux des noyaux de la datte.....	26
Tableau 5 : les résultats des analyses morphologiques de noyaux.....	45
Tableau 6 : Différents groupes phytochimiques mis en évidence dans les deux extraits.....	46
Tableau 7 : les résultats obtenus de dosage des phénols totaux des extraits aqueux et cétonique de noyaux de datte.	47
Tableau 8 : Les résultats de dosage des flavonoïdes	47

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdiens

AUG : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte

CM : Centimètre

COX : la cyclooxygénase

CV : Cardiovasculaires

DFG : le débit de filtration glomérulaire

EAG : équivalent acide gallique

FAO : Food and Agriculture Organisation of the United Nations

G : Gramme

INH : Pourcentage d'inhibition de l'œdème

LT : Lymphocytes

M.A.D.R : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

MICI : Maladie inflammatoire chronique des intestins

PNN: Les polynucléaires neutrophiles

ROS : réactives de l'oxygène.

TXA2 : thromboxane A2

GC : glucocorticoïde

µm : Micro mètre

INTRODUCTION GÉNÉRAL

Introduction général

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme, ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme dans des pathologies auto-immunes (**Calder et al., 2009**).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Cependant, l'utilisation de substances pharmaceutiques anti-inflammatoires (AIS, AINS) est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables (**Chiolero et al., 2000**).

Alors que l'utilisation de composés naturels s'avère bénéfiques, utile et sans effets secondaires. La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections.

En Algérie la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes (**Chiolero et al., 2000**).

Notre recherche s'est portée sur la partie non comestible de datte (noyau). Toutefois, il existe plusieurs variétés en Algérie, nous avons opté pour une variété locale très répandue dans la région de Tolga (Biskra) ; la variété «Deglet Nour».

L'intérêt essentiel de notre étude est de trouver une base scientifique à l'utilisation de noyau de datte dans le domaine thérapeutique. Ainsi que de valoriser la flore locale.

Une partie bibliographique sera présentée en premier lieu dans notre étude qui apportera les grands concepts relatifs à l'inflammation, les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, suivie d'une présentation du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*).

En seconde lieu, une partie expérimentale exposera les méthodes et matériels utilisées concernant les différents protocoles d'extractions, le criblage phytochimique des extraits de noyau de datte. En fin une évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* chez les souris est établie en se basant sur le modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris induit par la carragénine. Cette étude est ficelée par une discussion et une conclusion générale.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

«INFLAMMATION»

I.1. Généralités

L'inflammation est un phénomène omniprésent qui opère lors de perturbations sévères de l'homéostasie tissulaire, comme l'infection, les blessures et l'exposition aux contaminants et est déclenchée par les systèmes immunitaires innés et adaptatifs pour combattre les intrus pathogènes (**Medzhitov, 2008 ; Ashley et al, 2012**).

L'inflammation, lorsqu'elle est correctement réglée, est susceptible d'adaptation. Mais, parfois, la réaction inflammatoire dépasse ses objectifs. Lorsqu'elle persiste pendant une longue durée, elle peut être à l'origine d'effets délétères, mais il s'agit là du prix que l'organisme doit parfois payer pour assurer le maintien de son intégrité. Une réponse inflammatoire contrôlée est généralement prise comme étant bénéfique, par exemple, en fournissant une protection contre l'infection, mais elle peut devenir préjudiciable si elle est dérégulée et/ou insuffisante, engendrant des dommages irréversibles ; en augmentant ainsi la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme la goutte, l'arthrite rhumatoïde, la maladie du Crohn ou encore le diabète de type 2 (**Medzhitov, 2008 ; Ashley et al. 2012 ; Furie, 2014**).

Une inflammation mal contrôlée peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine et peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, par exemple, provoquant un choc septique et dans les cas les plus graves le décès (**Nathan, 2002 ; Barton, 2008**). Ces états inflammatoires chroniques ne semblent pas être causés par les instigateurs classiques de l'inflammation: infection et blessure. Au contraire, ils semblent être associés au dysfonctionnement du tissu, c'est-à-dire au déséquilibre homéostatique de l'un de plusieurs systèmes physiologiques qui ne sont pas directement liés à la défense de l'hôte ou à la réparation tissulaire (**Medzhitov, 2008**).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, dont la fonction est de protéger contre les infections, comprend deux branches interconnectées : une plus primitive appelée immunité innée et la plus récente, appelée immunité adaptative (spécifique) (**Gattorno et Martini, 2016**).

I.2. Manifestations cliniques

La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Mais elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire. Les effets cliniques généraux sont une altération de

l'état général, associant une asthénie, une anorexie, un amaigrissement, une fièvre, des troubles du sommeil et une cachexie avec fonte musculaire (**Rousselet et al, 2005**).

I.3. Etiologies

Selon Weill et Bteux en **2003**, les causes de la réaction inflammatoire sont multiples et représentent les agents pathogènes. Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation:

1. infection : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons).
2. agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations.
3. agents chimiques : caustiques, toxines, venins.
4. corps étrangers : exogènes ou endogènes.
5. défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie ;
6. agression dysimmunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité).

I.4. Les différents types de l'inflammation

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

I.4.1. Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al, 2010**). Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé.

D'après Rankin en 2004, cette dernière se constitue en trois phases :

a) Phase vasculaire (Réaction vacuole-exsudative)

Elle se traduit cliniquement par les quatre signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur. Elle comporte trois phénomènes : une congestion active, un œdème inflammatoire (l'exsudat), une diapédèse leucocytaire (**Rousselet et al, 2005**).

➤ Congestion active

Il s'agit d'une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Les petits vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématies, bordés d'un endothélium turgescent. La congestion est déclenchée par un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques.

➤ Œdème inflammatoire

Il s'agit du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses d'un liquide appelé exsudat fait d'eau et de protéines plasmatiques. Sa traduction clinique est un gonflement des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, est responsable de la douleur (également provoquée par certains médiateurs chimiques). Sa traduction microscopique est un aspect pâle, peu colorable et distendu du tissu conjonctif. L'œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine.

➤ Diapédèse leucocytaires

C'est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes.

b) La phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les chimiokinés sont des molécules ayant un effet chimiotactique sur les neutrophiles. Ces derniers peuvent traverser la paroi de l'endothélium pour ainsi se diriger vers le site infecté. Ils vont donc phagocyter les éléments étrangers à l'organisme et libérer des radicaux libres dérivés de l'oxygène, des protéases, du monoxyde d'azote. En cas d'inefficacité, ils libèrent des agents chimiotactiques pour provoquer l'arrivée des macrophages. Ces derniers vont produire à leurs tours d'autres cytokines et des radicaux libres (Fig.1). Si ces mécanismes de défense ne sont pas efficaces, d'autres systèmes de défense se mettront en place avec notamment l'intervention des lymphocytes T ou B (**Weill et Batteux, 2003**).

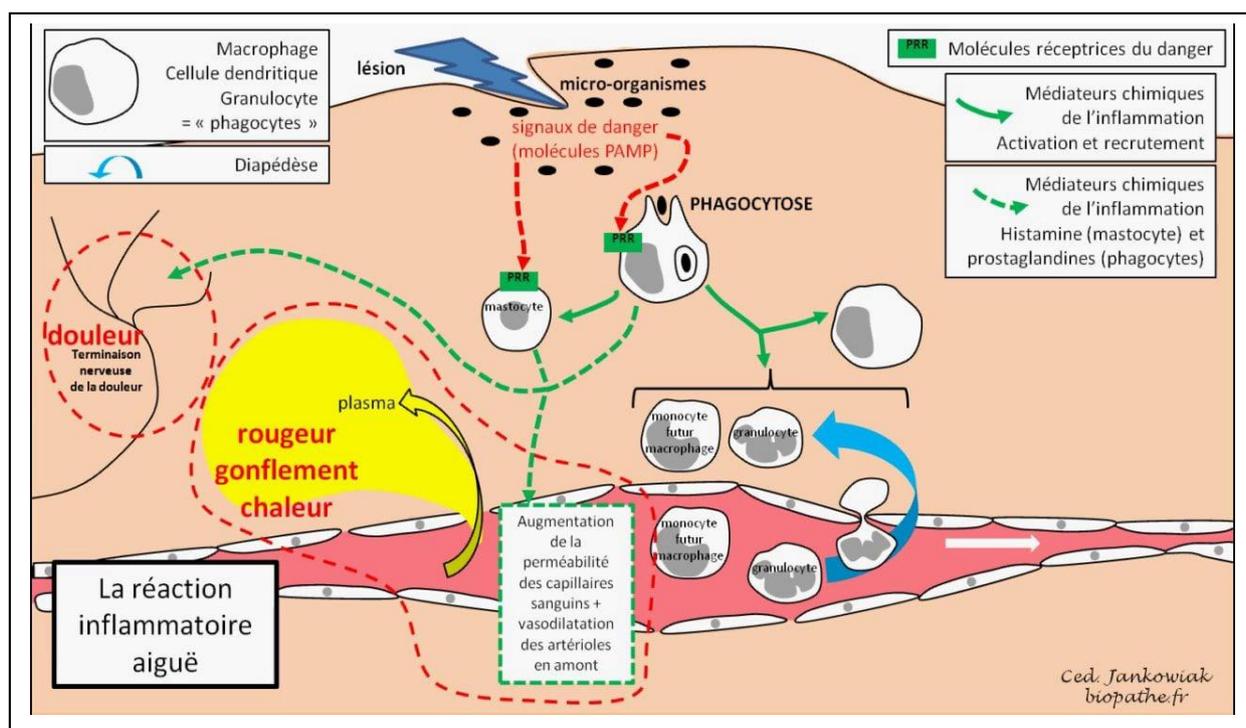


Figure 1 : La phase précoce du processus inflammatoire suite à une infection (Parham, 2003).

c) La phase de réparation

Elle est caractérisée par le rétablissement de l'homéostasie après une agression mais nécessite d'abord l'arrêt de la réaction immunitaire et ensuite la réparation des tissus lésés. L'arrêt de l'inflammation fait intervenir plusieurs médiateurs tels que les cytokines anti-inflammatoires et l'apoptose des cellules inflammatoires. La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Eming *et al.*, 2007).

I.4.2. Inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules

endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (**Charles et al., 2010**).

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 l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (**Weill et al., 2003**). Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (**Fauve et Hevin, 1998 ; Weill et al., 2003**).

I.5. Les cellules de l'inflammation

Les cellules qui interviennent dans les mécanismes de l'inflammation sont à la fois des cellules circulantes qui migrent vers le tissu interstitiel et des cellules résidentes des tissus interstitiels.

I.5.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Les polynucléaires neutrophiles sont les principaux agents cellulaires impliqués dans le mécanisme inflammatoire qui a pour but de recruter rapidement les leucocytes sur le lieu d'une lésion ou d'une infection (**Wagner, 2005**). Elles sont également impliquées dans la réparation tissulaire (**Eming et al., 2007**).

I.5.2. Les mastocytes

Les mastocytes sont principalement localisés au niveau des tissus vascularisés tels que les muqueuses et les épithéliums, et particulièrement au niveau des surfaces exposées à l'environnement comme le tractus digestif, la peau et les voies aériennes. Cependant, ils se retrouvent également dans d'autres tissus comme le système nerveux où ils sont très nombreux, la membrane synoviale ou l'os. De plus, ils jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie par son phénomène de dégranulation (**Frenzel et Hermine, 2013 ; Da Silva et al., 2014**). Ils se caractérisent par la présence dans leur cytoplasme de très nombreuses granulations (50 à 200) contenant des médiateurs inflammatoires, y compris l'histamine, l'héparine, une variété de cytokines, le sulfate de chondroïtine et des protéases neutres (**Krystal-Whittemore et al., 2015**).

I.5.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires

Constituent le système des phagocytes mononuclées qui complète les fonctions du système phagocytaires des neutrophiles (**Galask et Larsen, 2012**). De nombreuses situations

engendrent l'activation des macrophages rencontre avec un micro-organisme, avec une particule inerte, avec un produit de dégradation tissulaire ou liaison avec un ligand naturel pour un de leurs récepteurs : anticorps, thrombine, fibrine, facteurs de croissance, cytokines (**Rankin, 2004**).

I.5.4. Les plaquettes sanguines

Sont un élément clé liant les processus de l'hémostase, de l'inflammation et de la réparation tissulaire (**Klinger et Jelkmann, 2002**). Elles sont reconnues comme des acteurs clés dans les réponses immunitaires innées et adaptatives (**Herter et al., 2014**). Les plaquettes contiennent un certain nombre de médiateurs inflammatoires des peptides et des protéines, tandis que d'autres sont stockés et sécrétés à partir de granules (granules denses, α -granules ou lysosomes). La libération de ces cytokines et chimiokines, ainsi que les eicosanoïdes, lors de l'activation permet aux plaquettes de recruter des leucocytes au site d'inflammation ou de blessure (**Shi et Morrell, 2011 ; Arman et al., 2015**).

I.5.5. Les Polynucléaire basophiles

Elles sont les plus rares des polynucléaires (moins de 1 % des cellules inflammatoires). Elles présentent également un cytoplasme qui contient de très nombreuses granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Les basophiles sont des cellules phagocytaires qui interviennent principalement dans les réactions allergiques (**Rankin, 2004**).

I.5.6. Les polynucléaires éosinophiles

Sont des granulocytes circulants produits dans la moelle osseuse. Ce sont les principaux types de cellules qui peuvent être recrutés sur des sites de réponses immunologiques ou inflammatoires (**Huang et al. 2009 ; Isobe et al. 2012 ; Uhm et al. 2012**). La fonction effectrice des éosinophiles est liée à leur libération de protéines granulaires toxiques, d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), de cytokines et de médiateurs lipidiques (**Liu et al. 2006**). Bien que les éosinophiles aient été traditionnellement considérés comme des cellules effecteurs cytotoxiques, de nouvelles connaissances sur les voies moléculaires ont permis une meilleure compréhension des fonctions immunomodulatrices de ces cellules (**Rosenberg et al., 2013**).

I.5.7. Les fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules du tissu conjonctif extrêmement versatiles qui présentent une capacité remarquable à se différencier des autres membres de la famille des tissus conjonctifs, notamment le cartilage, les os, les adipocytes et les cellules musculaires lisses (**Buckley et al.,**

2004); ils régulent l'inflammation, la cicatrisation des plaies et ils secrètent des composants fibrillaires de la matrice extracellulaire (MEC) (comme les collagènes de types I, III, IV) (**Naguib et Cui, 2014**).

I.5.8. Les lymphocytes

Sont la troisième lignée de leucocytes et sont divisés en deux sousgroupes principaux, les lymphocytes T qui se différencient dans le thymus et les lymphocytes B acquièrent leur maturation dans la moelle osseuse. Les lymphocytes T médient la réponse immunitaire retardée (immunité à médiation cellulaire) en régulant les fonctions des lymphocytes B et des phagocytes macrophages. En revanche, les lymphocytes B ne jouent aucun rôle dans l'immunité à médiation cellulaire. Ils se transforment en cellules B productrices de plasma ou de mémoire, et grâce à la libération de divers cytokines par exemple; IF- γ , IL-2 et TGF- β), elles améliorent la fonction des macrophages (**Chaplin, 2010**).

I.5.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux

Jouent un rôle important dans l'initiation, l'amplification et la résolution de la réponse inflammatoire (**Xiao et al., 2013**). L'endothélium vasculaire qui tapisse les vaisseaux sanguins forme une barrière restrictive continue et semi-perméable permettant le passage de macromolécules, de cellules inflammatoires et de liquide entre le sang et l'espace interstitiel (**Mittal et al., 2014**). Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (**Aggarwal et Shishodia, 2006**).

I.6. Les médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (**Rankin, 2004**).

I.6.1. Histamine (b-Imidazolethylamine)

Synthétisé à partir des mastocytes et basophiles à partir de l'appareil de Golgi suite à la décarboxylation de l'histidine (acide aminé), qui sera ensuite stocké avec l'héparine ou des protéines à l'intérieur des granules sécrétoires. Sa libération est déclenché par la fixation de l'antigène sur l'IgE des mastocytes et basophiles, il sera ensuite dissocié et libéré dans l'espace extracellulaire suite à l'entrés des ions Na⁺. Cette contraction conduit à la vasodilatation des muscles lisses des tubes respiratoire et digestif (**White, 1999 ; Male, 2005**). Le rôle de

l'histamine consiste donc en la stimulation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, mucus respiratoire et sécrétion d'acide gastrique (**Male, 2005**).

I.6.2. Sérotonine 5-HT (5-hydroxytryptamine)

C'est une amine biogène, neuromédiateur sécrété par le système nerveux central et système gastro-intestinal. Elle est synthétisée par les mastocytes et plaquettes sanguines à partir d'hydroxylation et décarboxylation du tryptophane (**Foret, 2006**). Elle joue un rôle dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire et contraction des muscles lisses (**Male, 2005**).

I.6.3. Bradykinines

Polypeptides formés à partir du kininogène plasmatique grâce à l'action d'enzymes (les kalllicréines). Ils sont synthétisés par les tissus et les fluides du corps pendant l'inflammation (**Rousselet et al., 2005 ; Foret, 2006**). Leur rôle consiste en l'augmentation de vasodilatation, contraction des muscles lisses, augmentation de la perméabilité vasculaire et douleur (**White, 1999 ; Foret, 2006**).

1.6.4. Leukotrienes

Sont produits par la plupart des types cellulaires qui participent dans la réaction inflammatoire comprenant les mastocytes, basophiles, éosinophiles, neutrophiles, et monocytes (**White, 1999**). Leurs rôles : contraction des muscles lisses, augmente la perméabilité vasculaire, attire les leucocytes, agrégation des plaquettes, chimiotactisme des neutrophiles (**Male, 2005 ; Foret, 2006**).

I.6.5. Facteurs d'activation des plaquettes PAF

Produit par la plupart des cellules impliqué dans la réaction inflammatoire ; mastocytes, macrophages, neutrophiles, et éosinophiles. Sa synthèse nécessite l'intervention de phosphorylase C et acetyltransférase (**White, 1999**).

Les activités biologiques de PAF incluent l'activation de plaquette et des neutrophiles, contraction du muscle lisse, accumulation des éosinophiles à la surface endothéliale, afin de libérer les protéines de base, menant aux dommages épithéliaux de cellules (**White, 1999 ; Male, 2005**).

I.6.6. Chimiokines

Sont des molécules synthétisées par les mastocytes, leucocytes, tissus et endothélium, ils sont impliqués dans la transduction de signal entre cellules et le système immunitaire (**Male, 2005**). Ce sont des cytokines qui fonctionnent principalement en tant que molécules chemoattractant pour des macrophages, neutrophiles, lymphocytesT, granulocytes et leucocytes de la circulation mais peuvent produire d'autres effets inflammatoires tels que la libération de l'histamine par les basophiles et mastocytes, ainsi que l'activation des éosinophiles (**White, 1999**). Elle regroupe les lymphokines, interféron, facteurs de nécrose tumorale (TNF) (**Male, 2005**).

I.6.7. Prostaglandines

Constituent avec les thromboxanes les médiateurs de douleur et d'œdème causés par l'inflammation, ils sont induits à partir du métabolisme de l'acide arachidonique par les cyclooxygénases. L'acide arachidonique des phospholipides est libéré après activation de PLA2 par les produits libérés par des mastocytes et les macrophages, ce qui va stimuler l'activité de COX et de LOX (**Garrido et al., 2004**).

L'action des prostaglandines inclue la modulation de la contraction du muscle lisse, la perméabilité vasculaire, vasodilatation, sensation de douleur et de prurit, ainsi que l'agrégation et la dgranulation des plaquettes (**White, 1999 ; Male, 2005**).

I.7. Caractères morphologiques communs aux inflammations aiguës et chroniques

I.7.1. Inflammation congestive et œdémateuse

Elle est caractérisée par une vasodilatation intense et un exsudat particulièrement abondant.

- réaction allergique au niveau de la muqueuse nasale ou du larynx (hypersensibilité de type I anaphylactique)
- œdème aigu du poumon au cours d'une infection virale (**Garden et Moller, 2006**).

I.7.2. Inflammation hémorragique

Extravasation de globules rouges (érythrodiapédèse) par augmentation exagérée de la perméabilité capillaire et altération des cellules endothéliales ou bien ulcérations d'une muqueuse et de ses vaisseaux. Exemples :

- infections virales (pneumonies, encéphalite, etc.).

- purpura d'une septicémie à méningocoque.
- poussée aiguë d'une rectocolite ulcéro-hémorragique (**Wake et al., 2013**).

I.7.3. Inflammation fibrineuse

Elle est caractérisée par un exsudat très riche en fibrinogène qui se coagule en un réseau de fibrine. L'aspect macroscopique est celui de filaments blanchâtres, très fins ou épais (appelés aussi « fausses membranes »), souvent déposés à la surface d'une séreuse. Dans le poumon, les dépôts de fibrine forment les « membranes hyalines » tapissant l'intérieur des parois alvéolaires dans diverses pneumonies aiguës (**Wake et al., 2013**).

I.7.4. Inflammation thrombosante

Des caillots sanguins oblitérant les petites veines et artères sont possibles dans tout foyer inflammatoire et tout particulièrement quand il existe une lésion directe des parois vasculaires ou de l'endocarde. Exemples :

- vascularite systémique : atteinte vasculaire des rejets aigus de greffe rénale.
- endocardites infectieuses : les valves cardiaques sont ulcérées et recouvertes de thrombus friables et septiques (appelés végétations) (**Wake et al., 2013**).

I.7.5. Inflammation gangréneuse

La gangrène est caractérisée par une nécrose tissulaire extensive due à des bactéries anaérobies (libération de toxines, de collagénases) et/ou à des thromboses dans le foyer inflammatoire (source de nécrose ischémique), les deux mécanismes étant souvent étroitement intriqués. Généralement, l'altération de l'état général est sévère. Exemples :

- cholécystite gangréneuse ou appendicite gangréneuse, avec un risque important de perforation de ces organes et de péritonite.
- gangrène gazeuse par infection d'une plaie (**Garden et Moller, 2006**).

I.8. Certains organes touchés par l'inflammation.

I.8.1. Gingivite

Les gingivites provoquées par la plaque bactérienne représentent l'atteinte gingivale la plus fréquente. Elle peut survenir à tout âge (enfants et adultes) avec une prévalence pouvant atteindre 50 à 100% dans la population adulte (**INSERM, 1999 ; Struillou, 2002**). Le rôle

étiologique de la plaque bactérienne est reconnu puisque chez des patients présentant un parodonte sain, l'arrêt du contrôle de plaque entraîne tout d'abord l'apparition d'une inflammation discrète au niveau de la gencive marginale, puis de plus en plus marquée dans le temps (INSERM, 1999).

I.8.2. Pharyngite

La pharyngite est une inflammation du pharynx, le plus souvent due à une **infection bénigne**, causée par un virus ou une bactérie. Lorsque l'inflammation concerne également les muqueuses nasales, on parle de rhino-pharyngite (Deeks, 2004).

I.8.3. Hépatite

Le terme générique d'hépatite désigne toute inflammation aiguë ou chronique du foie. L'inflammation endommage les cellules du foie et entrave finalement les fonctions de cet organe.

Le symptôme le plus évident est la jaunisse (ictère), qui se produit par l'accumulation d'un pigment biliaire, la bilirubine, dans le sang. La jaunisse n'est cependant pas obligatoire, la plupart du temps l'hépatite ne présente d'ailleurs aucun symptôme. Elle est finalement détectée surtout sur la base du taux plus élevé d'enzymes du foie, appelées transaminases. De nombreuses hépatites aiguës guérissent sans laisser de séquelles ; les évolutions chroniques sont cependant à craindre à cause des complications tardives comme la cirrhose du foie et le cancer du foie. L'hépatite est dite chronique lorsqu'elle persiste au-delà de six mois après le début de la maladie (Hopp et Baltensweiler,).

I.8.4. Dermatite

C'est la présence sur la peau des quatre points cardinaux de l'inflammation : la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur (fig.2).

Les causes de l'inflammation de la peau sont nombreuses :

- Les infections, que celles-ci soient localisées ou plus étendues. Elles peuvent toucher toutes les régions de la peau sans exception.
- Les inflammations des articulations. Celles-ci provoquent pratiquement toujours une inflammation de la peau en regard.
- L'inflammation des vaisseaux : en particulier des veines et des vaisseaux lymphatiques.
- Les allergies.

- Les réactions inflammatoires à des agressions mécaniques ou chimiques ou encore aux rayonnements ou aux radiations (soleil, rayons X, etc.) (Cazivassilio, 2013).

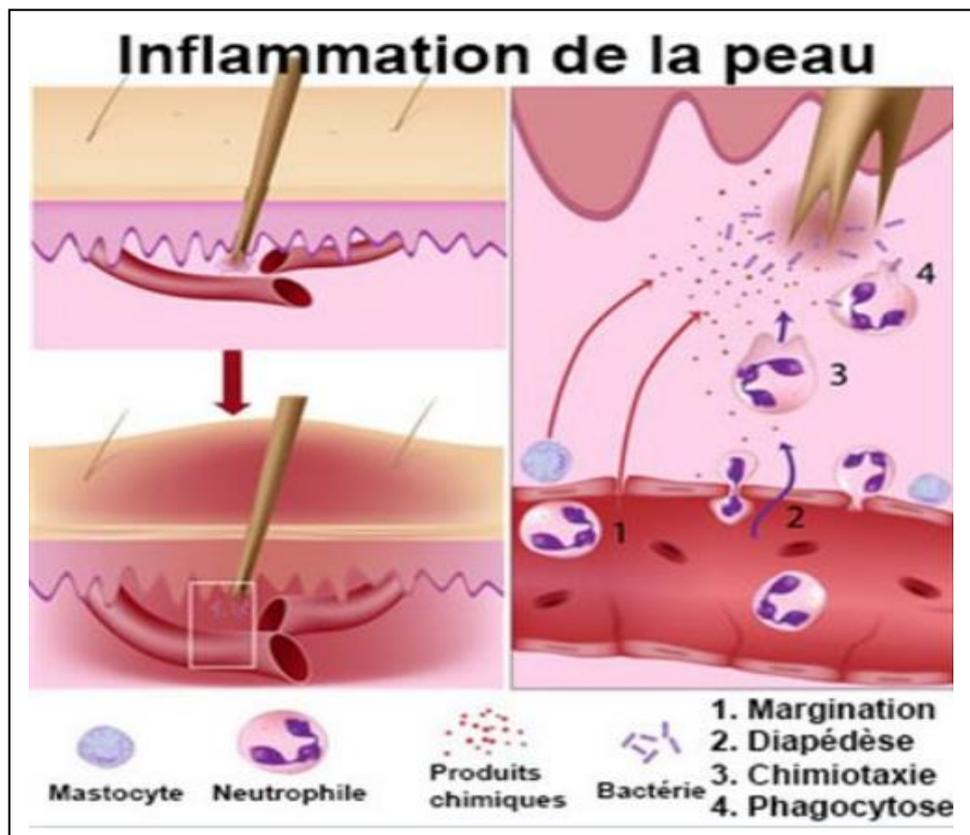


Figure 2 : Inflammation de la peau (Anonyme, 2016)

CHAPITRE II

«ANTI- INFLAMMATOIRES »

II.1. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui peuvent réduire la douleur, l'inflammation et dans certaines cas la fièvre (**Chebira, 2014**).

La thérapeutique anti-inflammatoire 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) (**Das, 2011**).

II.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Actuellement, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi l'une des classes thérapeutiques les plus couramment utilisés dans le monde, que ce soit dans le cadre de la prescription médicale ou de celui de l'automédication (**Jouzeau et al., 2004**). Les AINS sont un large groupe d'inhibiteurs de la biosynthèse des prostaglandines par la cyclooxygénase (COX), soit en modifiant de manière covalente l'enzyme, soit en rivalisant avec le substrat actif (**Carbone et al., 2013 ; Ambriz-Pérez et al., 2016**).

a) Classification des AINS

Les AINS peuvent aussi être classés selon le degré de sélectivité (et donc d'inhibition) de l'AINS pour l'une ou l'autre COX. Quatre catégories se distinguent :

- Groupe 1 correspond aux inhibiteurs sélectifs de la COX-1. C'est le cas de l'aspirine à faible doses (100 à 300 mg), à visée antiagrégant plaquettaire.
- Groupe 2 est celui des inhibiteurs non spécifiques de la COX, représenté par les AINS classiques.
- Groupe 3 renferme les inhibiteurs préférentiels de la COX-2, représentés par le méloxicam et le nimésulide. Cette propriété antiCOX-2 est cependant perdue lorsque ces produits sont utilisés à fortes doses.
- Groupe 4 comporte les inhibiteurs spécifiques de la COX-2. Leurs représentants sont le célécoxib et l'étoricoxib (**Blain et al., 2000**).

b) Mécanisme d'action

A l'échelle cellulaire, des stimuli variés (mécaniques, chimiques) activent les phospholipases A2 contenues dans les membranes cellulaires entraînant la transformation des phospholipides

membranaires en acide arachidonique. Ce dernier est métabolisé en prostaglandines et thromboxane A2 (TXA2) grâce à une enzyme, la cyclo-oxygénase ou COX (Blain *et al.*, 2000).

II.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde (GC) qui sont des hormones stéroïdes produites par la glande surrénale et régulées par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (Faure, 2009 ; Ayroldi *et al.*, 2012). Les glucocorticoïdes (GC) sont les agents anti-inflammatoires et immunomodulateurs les plus couramment utilisés. Leur valeur thérapeutique est énorme dans un large éventail de maladies auto-immunes / inflammatoires, et ils sont largement utilisés pour traiter les inflammations aiguës et chroniques, y compris la polyarthrite rhumatoïde, la maladie intestinale inflammatoire, la sclérose en plaques, le psoriasis et l'eczéma, ainsi que dans le traitement de certaines leucémies et dans les régimes immunosuppresseurs après une greffe d'organe. (Barnes et Adcock, 1998 ; Riccardi *et al.*, 2000 ; Rhen et Cidlowski, 2005 ; Simons, 2008 ; Coutinho et Chapman, 2011).

a) Classification

Il existe plusieurs variétés d'anti-inflammatoires stéroïdiens : le prednisone, le méthylprednisolone, le prednisolone, le dexaméthasone, le bêtaméthasone, etc. Chaque classe d'anti-inflammatoires se distingue par la durée de leur effet (court/intermédiaire/prolongé) (Hawkey, 1999).

b) Mécanisme d'action

Les AIS comme les glucocorticoïdes agissent en se fixant sur leurs récepteurs intracellulaires distribués de façon ubiquitaire, il s'ensuit une translocation intranucléaire du récepteur ainsi activé ce qui aboutit à la modulation positive ou négative des gènes cibles qui codent les protéines responsable de l'action des glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes agissent sur tous les types cellulaire et tissulaire de l'organisme dans le cadre de la réaction inflammatoire, ils inhibent la migration leucocytaire vers le site inflammatoire (Blétry *et al.*, 2006).

II.1.3. Effets secondaires des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens.

a) Effets indésirables digestifs

Les AINS, en agissant sur les COX, inhibent la formation des PG qui ont une activité protectrice sur la muqueuse gastro-intestinale. Les troubles fonctionnels (gastralgies, dyspepsies, nausées,

diarrhées...) sont ainsi fréquents et réversibles à l'arrêt du traitement .Ils favorisent également la survenue d'ulcères gastroduodénaux, 3 à 5 fois supérieurs, pouvant se compliquer de manifestations sévères comme des perforations ou des hémorragies digestives parfois létales **(Nagata N et al., 2016)**.

b) Réactions cutanéomuqueuses et allergiques

Elles peuvent apparaître sous forme de prurit, d'urticaire, d'éruptions diverses ; mais également de rhinite, de bronchospasme voire d'œdème de Quincke ou de choc anaphylactique. Il existe également un risque, bien que rare, de dermites graves comme les syndromes de Lyell ou Stevens-Johnson.Le syndrome de Widal a été décrit comme associant allergie à l'aspirine, asthme et polyposé nasosinusienne **(Brunton L et al., 2016)**.

c) Troubles rénaux

Les COX 1 interviennent dans la perfusion rénale et le débit de filtration glomérulaire (DFG), alors que les COX 2 jouent un rôle dans l'excrétion du sodium et de l'eau .Leur blocage par les AINS va donc avoir des conséquences sur la fonction rénale. Il peut s'agir d'une rétention hydro-sodée, à l'origine d'œdèmes des membres inférieurs, d'une hausse de la pression artérielle ou d'une décompensation cardiaque **(Brunton L et al., 2016)**.

d) Troubles cardiovasculaires

Les EI cardiovasculaires (CV) des AINS ont commencé d'être rapportés au début des années 2000, notamment avec les coxibs. Ces anti-COX 2 sélectifs, développés au départ pour réduire la toxicité digestive, se sont avérés associés à un risque augmenté d'événements vasculaires thrombotiques. Le rofécoxib a même été retiré du marché en 2004. Ces risques ont également été décrits chez d'autres AINS comme le diclofénac ou l'ibuprofène à fortes doses de 2400 mg par jour **(Meek IL, 2010)**.

e) Troubles infectieux

En supprimant la réponse inflammatoire produite par une infection, les AINS peuvent en masquer les premiers signes, retarder le diagnostic et en assombrir le pronostic. Des cas d'aggravation d'infections dentaires, ORL, cutanées, de pneumopathies, de varicelles ou zonas ont été décrits chez des patients sous AINS **(Ninove et al., 2017)**.

f) Autres effets indésirables

D'autres effets indésirables plus rares sont rapportés à travers la littérature. Certains peuvent être soulignés comme les troubles hématologiques (cytopénies, effets antiagrégants plaquettaires notamment avec l'aspirine à faible dose), neurosensoriels (céphalées, vertiges, acouphènes...) ou encore hépatiques (**Nagata et al., 2016**).

II.2. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% de la population mondiale ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé (**Sangeeta et al., 2016**). Dans le domaine de soin par les plantes, deux tendances majeures se distinguent :

- La phytothérapie moderne : Ce concept s'appuie sur des connaissances biochimiques, cherchant à soulager des symptômes grâce à des principes actifs identifiés, testés cliniquement et contenus dans les plantes médicinales.
- La phytothérapie traditionnelle : Cette approche reprend des usages ancestraux, empiriques et qui repose sur une démarche holistique, elle utilise les effets de la plante totale sur l'individu dans sa globalité (**Carillon, 2009**).

II.2.1. Certaines plantes médicinales pourvues de propriétés anti-inflammatoire

Le nombre des composés phytochimiques trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoires (Tab.1), beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (**Barnes, 1998**).

Tableau 1 : Quelques exemples des plantes pourvues d'activités anti inflammatoire (**Barnes, 1998**)

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingerberaceae	Rhizome	Gingembre	Arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<i>Hellebrus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Cedèmes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs goutte
<i>Laurocerasus officinalis R</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Phœnix dactylifera L</i>	Palmacées	Le fruit	datte	propriétés anti-inflammatoires Cedèmes

CHAPITRE III

"LA PLANTE MÉDICINALE CHOISIE »

III.1. Le palmier dattier

III.1.1. Généralités

Le nom du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) provient du mot "Phœnix" qui signifie dattier chez les phéniciens, et dactylifera dérive du terme grec "dactulos" signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (**Djerbi, 1994**). Le palmier dattier était cultivé depuis 6,000 à 8,000 ans, ce qui en fait un des arbres fruitiers les plus anciennement domestiqués (**Daher, 2010**). Comme toutes les espèces du genre Phoenix, il existe des arbres mâles appelés communément dokkars ou Pollinisateurs et des arbres femelles dénommés Nakhla (fig.3) (**Chaibi, 2002**).



Figure 3 : Palmier dattier (Larbi, 2012)

III.1.2. Classification

D'après Nixon en 1950, le genre Phoenix comporte au moins douze espèces, parmi elles ; *dactylifera* (tab.2).

Tableau 2 : la classification du palmier dattier.

Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Arecales
Famille	Acéracées
Sous-famille	Coryphoidées
Tribu	Phoenicées
Genre	Phoenix
Espèce	<i>dactylifera</i>

III.1.3. Répartition géographique du Phoenix *dactylifera* L

➤ Dans le monde

La culture du palmier dattier est concentrée dans les régions arides au Sud de la Méditerranée et dans la frange méridionale du proche Orient de puis le Sud de l'Iran à l'Est jusqu'à la côte atlantique de l'Afrique du Nord à l'Ouest, entre les altitudes 35° Nord et 15° Sud (fig.4). L'Espagne reste le seul pays d'Europe à produire des dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche, située à l'Ouest d'Alicante à 39° Nord. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine, en Australie et aux Etats-Unis d'Amérique (Bougoudoura et al., 2015).



Figure 4 : Distribution géographique du palmier dattier dans le monde (Abdrabo, 2013).

➤ En Algérie

L'origine du Palmier Dattier en Algérie, vient de la « péninsule arabe » ; à travers les commerçants qui ont propagé du Palmier autour de la Méditerranée, il était introduit spécialement dans les lieux disposant d'eau dans le Sahara. C'est ainsi que sont apparues les premières palmeraies de Oued Righ et des Ziban par le biais des bédouins nomades arabes, venus d'Orient, pour le commerce (Jaradat, 2011). Le patrimoine phoenicicole national est concentré dans toutes les régions situées sous l'Atlas saharien dans la partie septentrionale est et centre du Sahara Algérien (Nahili, 2006).

Selon les données de ministère de l'agriculture et du développement rural ; la phoeniciculture en Algérie s'étale sur une superficie de plus de 160 mille hectares avec un patrimoine phoenicicole qui dépasse les 18 millions pieds. Bien que ce patrimoine soit reparti sur 17 wilayas du pays, Néanmoins il est concentré principalement dans les wilayas Sud- Est et Sud-Centre du pays (Fig.5). La première place est occupée par Biskra avec plus 23 % du patrimoine national, Suivie par la wilaya d'Adrar de près de 21% et la wilaya d'El Oued avec plus de 20% (Benziouche, 2012).

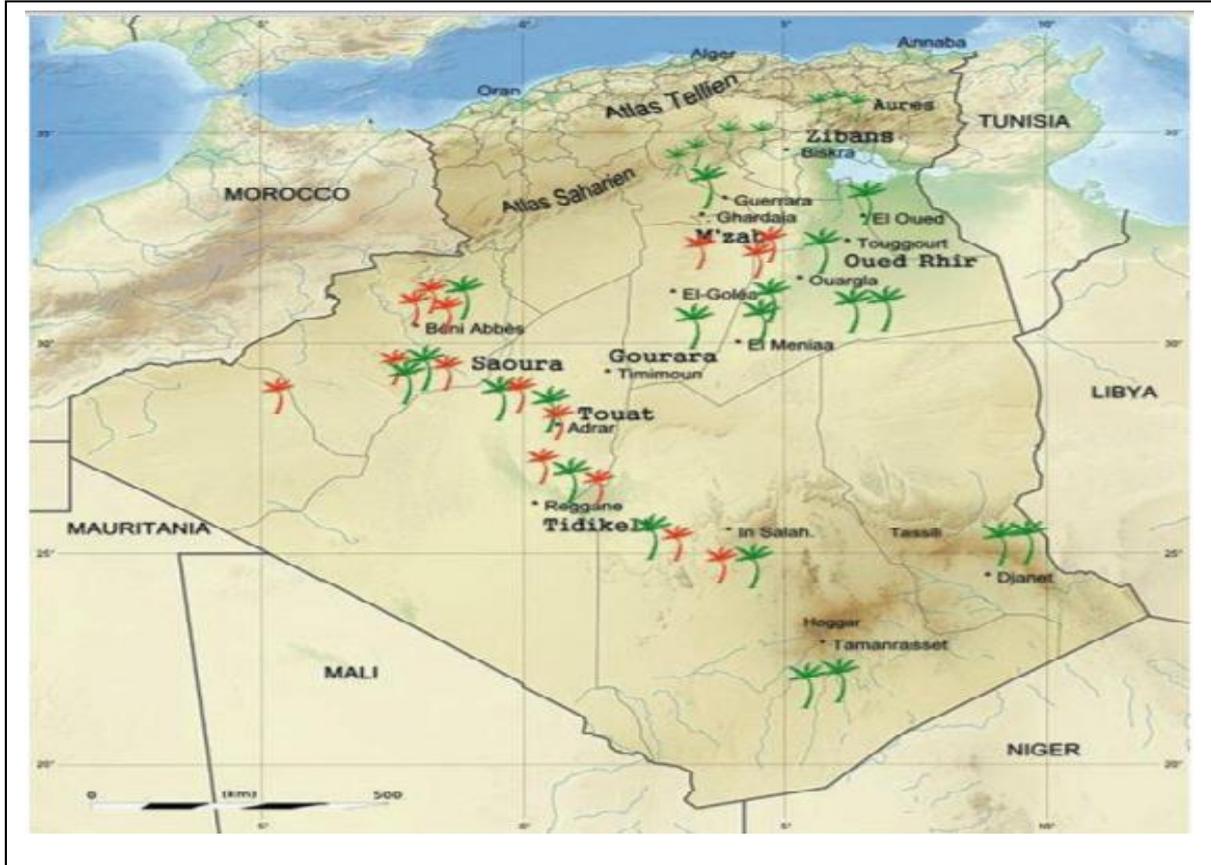


Figure 5 : Carte d'Algérie, indiquant les différentes zones phoenicicole.
(Bougedoura et al., 2015).

III.1.4. La production et le rendement du palmier dattier

➤ Dans le monde

La production mondiale annuelle des dattes dépasse 7, 416,000 tonnes. Environ 35 pays sont enregistrés comme producteurs de dattes, mais 09 pays produisent plus de 100,000 Tonnes et totalisent 43% de la production mondiale (Fig.6) (CACI, 2015).

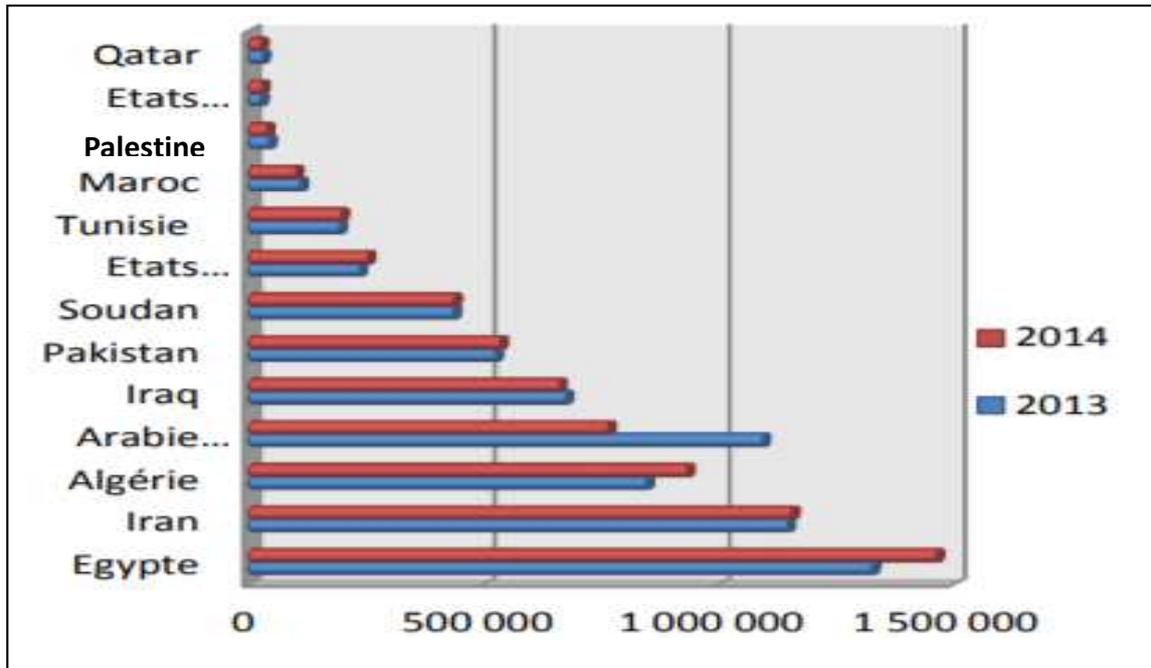


Figure 6 : Les principaux pays producteurs de dattes en quantité moyenne (2013-2014) (CACI, 2015).

➤ En Algérie

La Deglet Nour a représenté 53% de la production totale de dattes en 2015 (Fig.7). Avec 51% à Biskra, 31% à El-Oued et 13% à Ouargla. Ces trois wilayas elles seules représentent plus de la moitié de la production totale de datte en Algérie (MADR, 2015).

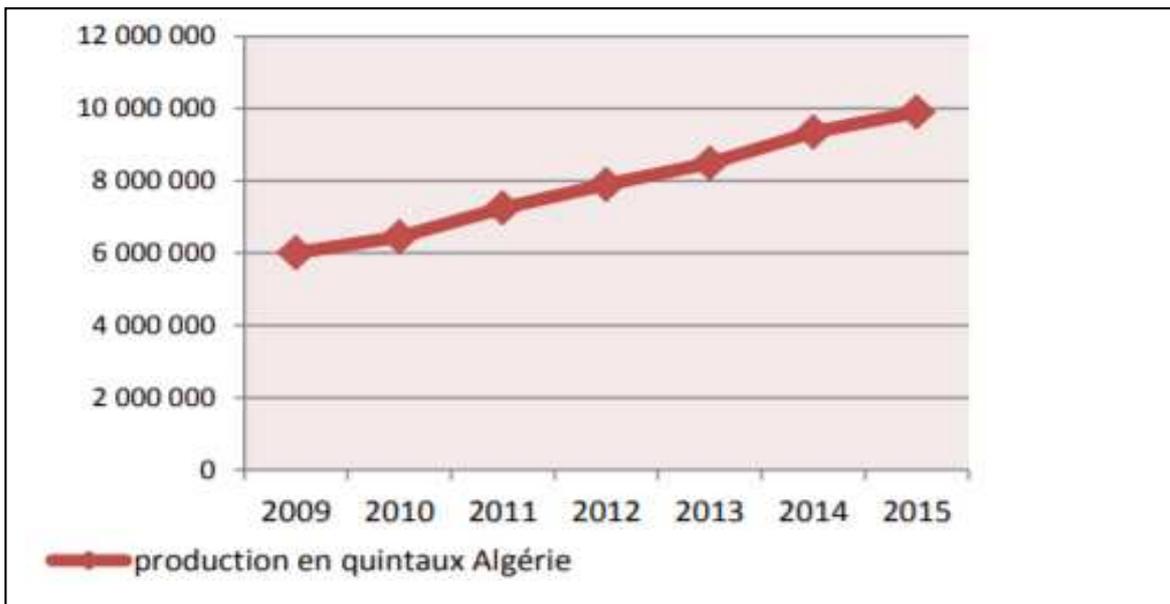


Figure 7 : L'évolution de la production totale de datte de l'Algérie en Qx (MADR, 2015)

III.2. Le noyau de datte

Le noyau est la partie non comestible de la datte. Elle est de forme allongée, plus au moins volumineuse, lisse ou pourvue de protubérances latérales en arêtes ou en ailettes, avec un sillon ventral assez profond et un embryon dorsal, sa consistance est dure et cornée (**Derleen et al., 2010**).

Le noyau possède un albumen (endosperme) dur et corné dont l'embryon dorsal est toujours très petit par rapport à l'albumen (2 à 3mm) (Fig.8). Les dimensions du noyau sont très variables, de 2 à 8cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouge, brune plus au moins foncées (**Djerbi, 1994**).

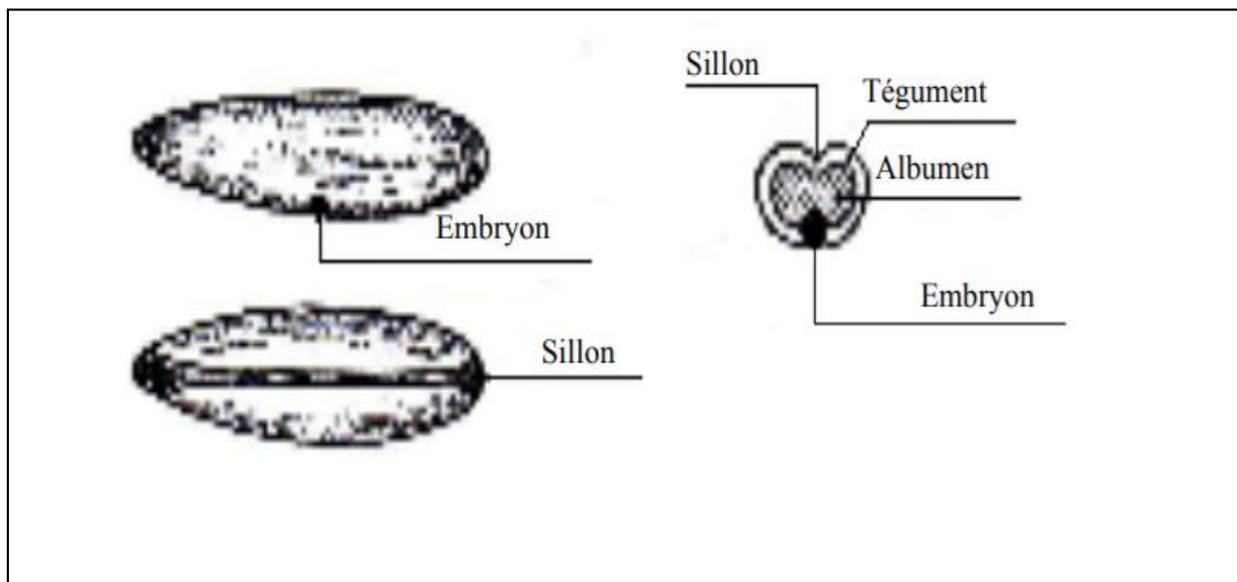


Figure 8 : Noyau de dattes (Munier, 1973).

III.2.1. Composition biochimique du noyau

Le noyau présente 7 à 30 % du poids de la datte. Plusieurs études concernant les caractérisations du noyau de la datte ont relevé sa richesse en diverses substances biochimiques et minérales. Le tableau 3 montre la composition biochimique des noyaux de dattes

Tableau 3 : Composition biochimique des noyaux de dattes (Alhooti et al., 1998)

Constituants	Teneurs
Sucres	5-6%
Protéines	2,3 -6,4%
Fibres diététiques	22,5 -94%
Composés phénoliques	3102 -4430 mg/100g
Matières grasses	7 – 13 %
Acides gras	
• Acide Oléique	56,1%
• Acide linoléique	11,6%
• Acide laurique	8,3%
• Acide myritique	6,0%
Cendres	0,9 – 1,8%

Le Tableau 4 résume la composition en éléments minéraux des noyaux de dattes de deux variétés différentes (ALhooti et al., 1995 ; Marshall, 2003).

Tableau 4 : la composition en éléments minéraux des noyaux de la datte (ALhooti et al., 1995).

Eléments minéraux	Teneur en (mg /100g) du poids sec
Potassium	107.3
Phosphore	53.3
Magnésium	53.2
Calcium	37.8
Sodium	2.5
Fer	0.9
Zinc	0.4

Ce tableau montre que le potassium est le plus abondant dans le noyau de la datte, suivi par le phosphore, le magnésium, le calcium et le sodium vient en dernier. Pour les microéléments, le Fer présente la teneur la plus élevée suivie par le Zinc (ALhooti et al., 1995 ; Marshall, 2003).

III.2.2. Phytochimie du noyau

Plusieurs résultats obtenus par réactions colorées montrent que les noyaux de dattes contiennent des composés phénoliques à savoir les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les terpènes, les alcaloïdes, coumarines et saponosides. Ces substances naturelles sont des antioxydants possèdent des propriétés biologiques et pharmacologiques diverses (**Abdul et Allaith, 2008 ; Faquir et al., 2012**).

III.2.3. Activités thérapeutiques du noyau

a) Activité hépato protectrice

Les extraits des noyaux de dattes ont l'aptitude de reconstituer les fonctions normales des foies empoisonnés (**Al-Qarawi et al., 2005**). Les noyaux de dattes ont un effet de diminution l'hépatotoxicité (**Abdlazize et al., 2014**), après les tests sur des souris à une intoxication du foie, et après un traitement par les noyaux de dattes l'intoxication diminue significativement.

b) Activité antivirale

Les études réalisées par Jassim et Naji (**2007**) montrent qu'une faible concentration d'un extrait cétonique (100 – 1000 µg/ml) du noyau de dattes (variété Abu Dhabi) est capable d'inhiber les états infectieux viraux.

c) Activité antioxydant

Les agents antioxydants rencontrés dans le noyau de dattes sont la vitamine E, les caroténoïdes, les composés phénoliques (des phénols simples comme l'hydroxytyrosol et des phénols complexes comme l'oleuropéside), des stérols et des tocophérols (**Besbes et al., 2004**). L'activité a été vérifiée in vitro et in vivo par Dammak en 2007. Rappelons que la vitamine E est un mélange de α , β , γ et σ tocophérol (**Wilfred et Ralph, 2008**).

d) Activité antidiabétique

L'étude réalisée par Marghoob en 2015 confirme la propriété anti diabétique de noyau de datte. Des traitements prolongés à l'extrait de noyau rétablissent la fonction du foie et des reins et équilibrent l'état de stress oxydatif chez les rats diabétique.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE

EXPÉRIMENTAL

**MATÉRIELS ET
MÉTHODES**

Notre recherche est basée sur deux volés ; le premier correspond à la préparation des extraits aqueux et cétonique de noyaux de dattes suivie d'analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives. Le second concerne l'évaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits *in vivo*. Une étude histologique est effectuée à la fin de cette expérimentation.

Nos travaux sont réalisés au niveau du laboratoire de recherche « pharmacognosie et Api phytothérapie » et l'animalerie de l'université de Mostaganem.

I. Etude phytochimique des extraits de noyaux de dattes

I.1. Matériel végétal

Les dattes utilisées dans notre étude proviennent de la région de Tolga de la wilaya de Biskra.

La variété choisie est « Deglet noir » récoltées en décembre 2018 (fig.9).

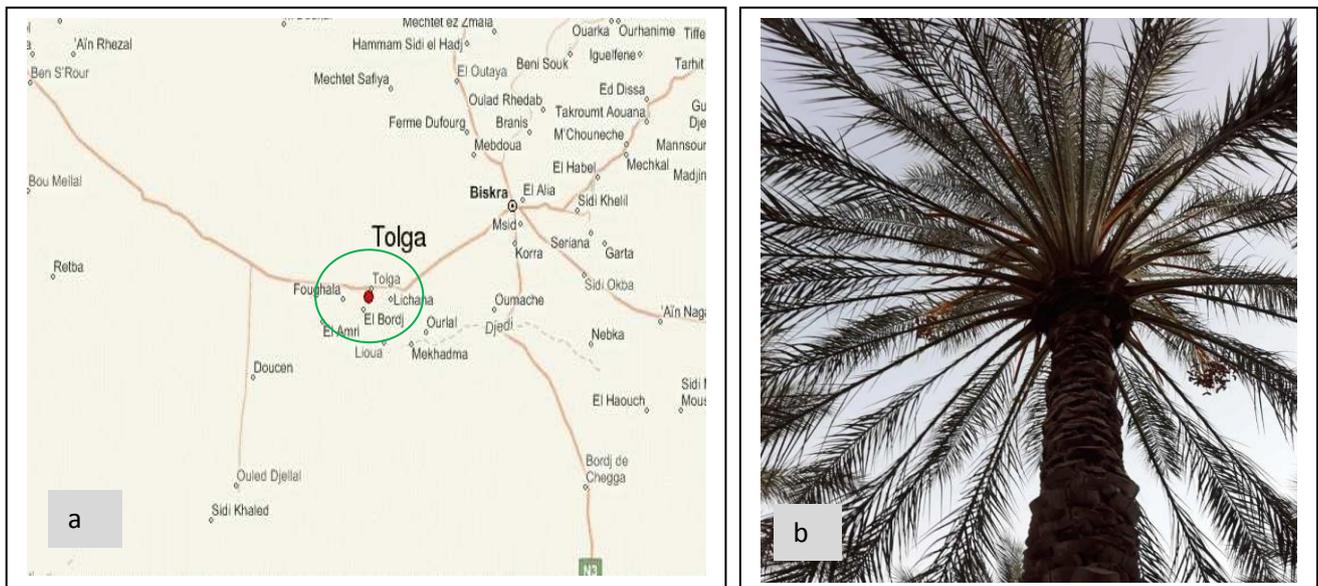


Figure 9 : a. Carte géographique de la région de Tolga (Biskra) (Google earth). b. Palmier dattier *Phoenix dactylifera* L

I.2. Analyse morphologique

Pour effectuer cette analyse 10 noyaux de dattes de la variété de Deglet-nour ont été triés. Cette opération consiste à mesurer les dimensions (longueur et largeur), le poids et la détermination de la couleur du noyau appréciée visuellement.

I.3. Préparation des extraits bruts de noyaux de dattes.

Pour préparer les deux extraits, les noyaux ont été séparés des dattes puis lavés afin d'enlever les traces de pulpes et toutes sortes d'impuretés qui collent dessus. Ensuite, séchés pendant 7 jours à 60°C suivant le protocole de Diab 2012.

Les noyaux sont broyés par un mixeur afin d'obtenir une poudre fine (Fig.10).



Figure 10 : a : les noyaux. b : la poudre de noyaux

I.3.1. Extraction aqueuse

Pour cette extraction une macération à froid a été effectuée selon le protocole d'El Quarawi (2004).

Une mesure de poudre de noyaux de dattes est ajoutée à 3 mesures d'eau distillée (1:3 ratio w/v). Après 48h de macération à froid (4°C), le mélange a subi une centrifugation de 4000 tours pendant 20 min. Le surnageant récupéré a été concentré par évaporateur rotatif à 40°C, puis lyophilisé afin d'être conservé pour des analyses ultérieures (Fig.11).

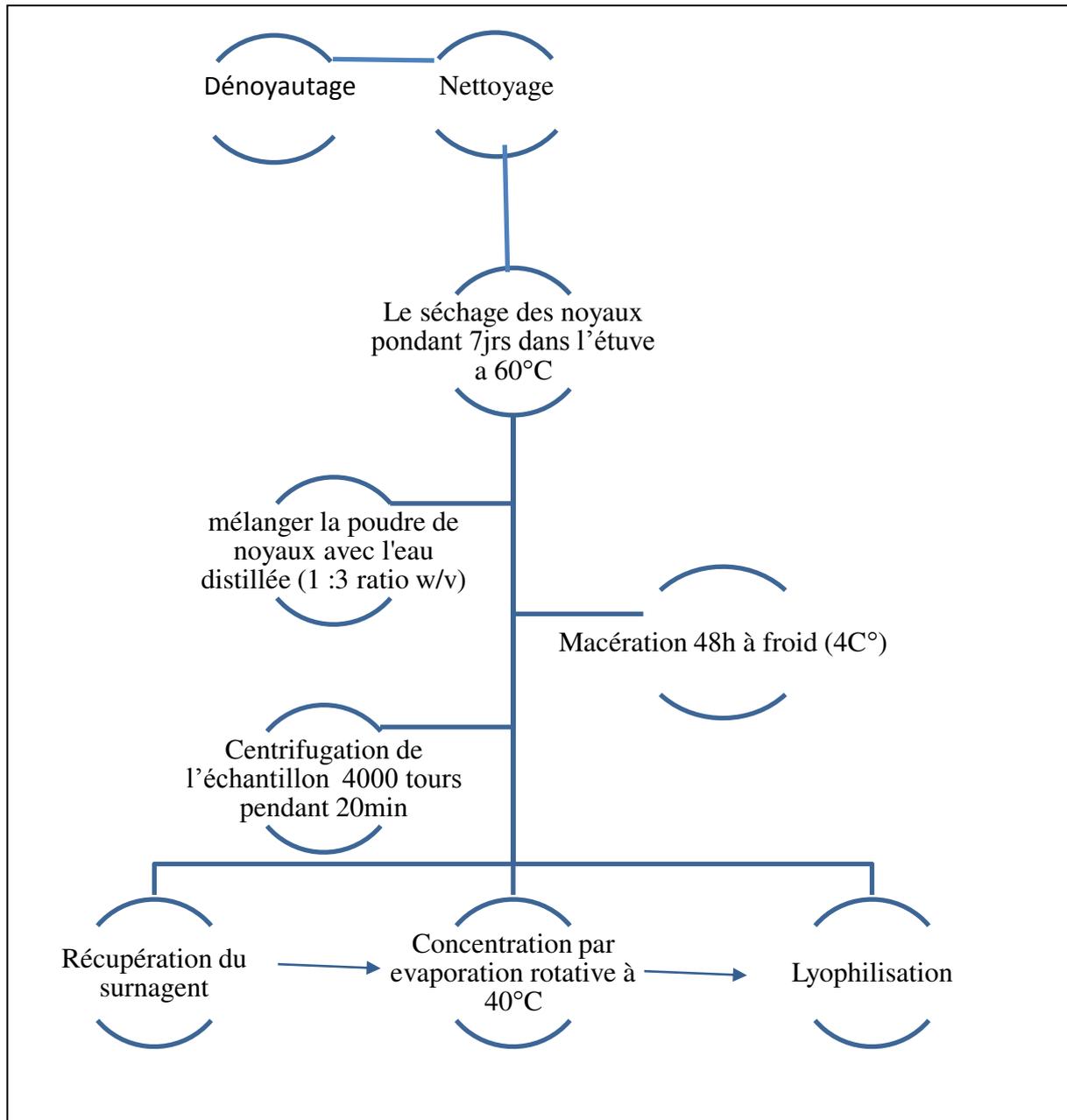


Figure 11 : schéma représentatif de l'extraction aqueuse de noyaux de dattes

I.3.2. Extraction cétonique

La poudre de noyaux est mélangée avec de l'acétone à 50%, le mélange réalisé subit une agitation pendant 1h à 45°. Après cette opération l'extrait est centrifugé à 1000 tours pendant 10 min (Fig.12). Une fois le surnageant récupéré, il est filtré par un entonnoir de verre à filtre (POR.1). À la fin de cette opération, le filtrat est concentré à 40°, puis lyophilisé et conservé jusqu'à utilisation (Al farisi, 2008).

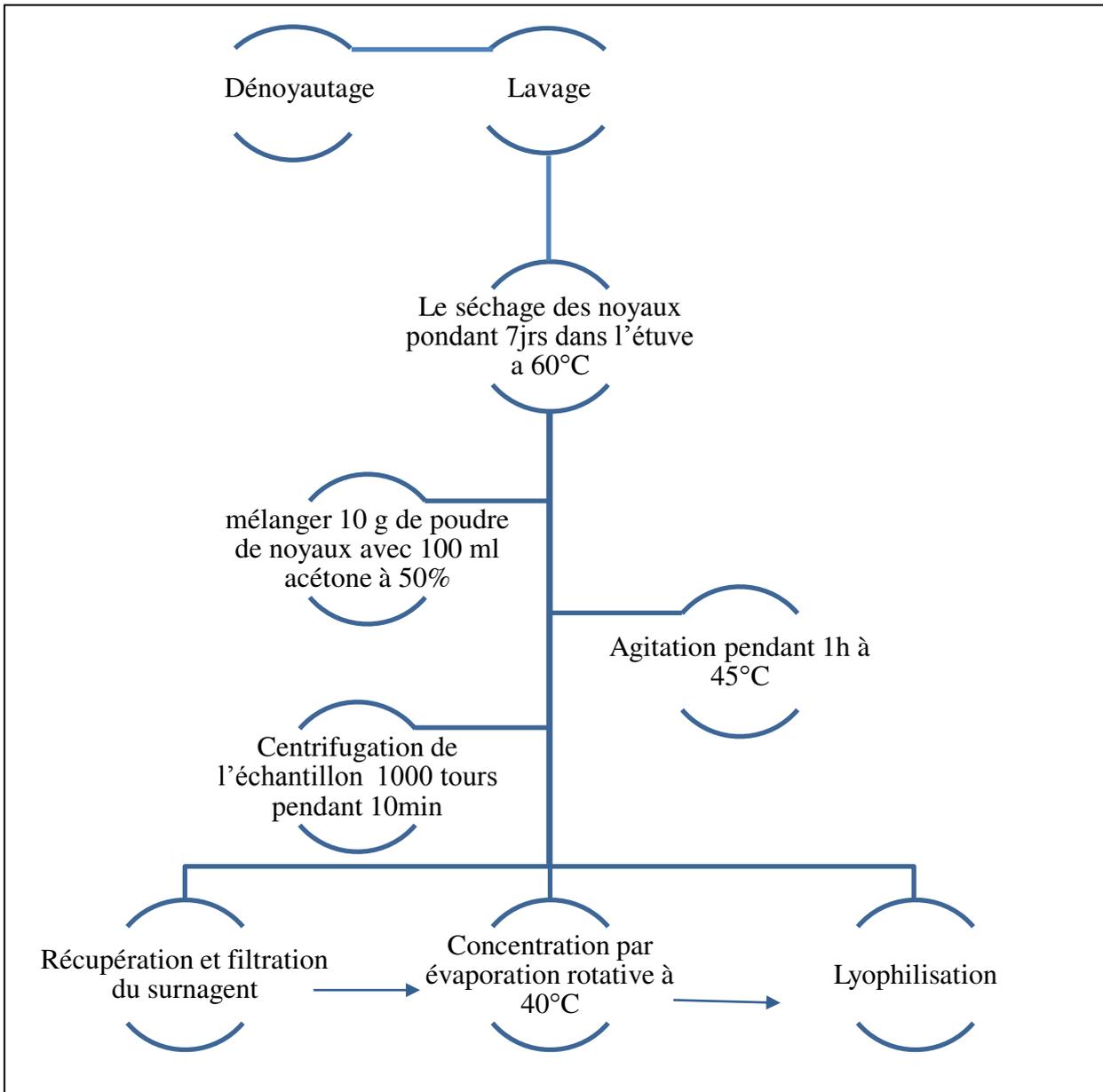


Figure 12 : schéma représentatif de l'extraction cétonique de noyaux de datte

I.4. Etude phytochimiques

I.4.1 analyses phytochimiques qualitatives (screening phytochimique)

Ces tests phytochimiques consistent en la détection des différentes familles de composants phytochimiques existants dans les extraits aqueux et cétonique de noyaux .Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**Hagerman et al., 2000**).

I.4.1.1 Détection des tanins

La présence des tanins a été mise en évidence à partir d'un mélange de 2ml d'extrait et quelques gouttes de solution de FeCl₃ (3%). Après agitation, l'apparition d'une couleur bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques ou bleu-vert indique la présence de tanins catéchiques (**Hussain et al., 2011**).

Afin de confirmer la présence des tanins galliques ou catéchiques un deuxième test a été effectué.

- **Test de stiasny**

Le test est réalisé à partir d'un mélange de 2ml d'extrait avec 2ml de réactif Stiasny (1ml de formol+1ml de HCl) avec un chauffage au bain marie à 90°C pendant 15 minutes. La formation d'un précipité rouge indique la présence des tanins catéchique, ainsi que l'apparition d'une teinte bleu noir indique la présence des tanins gallique (**Diallo, 2005**).

I.4.1.2. Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été révélés par un mélange de l'extrait et chlorure d'aluminium à 1%. La formation d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes (**Khan et al., 2011**).

Un autre test a été effectué, pour cela 2ml d'extrait ont été mélangés avec 1ml de Hcl à 2% et quelques gouttes de FeCl₃ (3%). La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur verdâtre ou un précipité jaune est apparu (**Bhandary et al., 2012**).

I.4.1.3. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer, Dragendroff ou Wagner :

L'extrait est mélangé avec HCl (1%). Après agitation, le mélange a été traité par le réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité jaune indique la présence d'alcaloïdes (**Chitravadiya et al., 2009**).

La création d'un précipité blanc jaunâtre après l'addition de quelques gouttes de réactif de Wagner à l'extrait révèle la présence d'alcaloïdes (**Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001**).

La formation d'un précipité rouge orange après l'ajout de quelques gouttes de réactif de Dragendroff à l'extrait, confirme la présence des alcaloïdes (**Wagner, 1983**).

I.4.1.4 Détection des saponosides

Les saponosides ont été révélés par une agitation de l'extrait pendant 15 secondes. L'apparition d'une mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (**Hussain et al., 2009**).

I.4.1.5. Détection des terpénoïdes

Le test a été réalisé par un mélange de l'extrait, de chloroforme et d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couche de couleur brun-rougeâtre à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (**Agarwal et al., 2011**).

I.4.1.6 Détection des anthocyanes

Les anthocyanes ont été caractérisés par un mélange de 2ml, de H₂SO₄ à 10% et de NH₄OH à 10%. L'apparition d'une couleur bleue en milieu basique, indique la présence des anthocyanes (**Senhaji et al., 2005**).

I.4.1.7 Détection des coumarines

Les coumarines ont été révélées à partir de 2 ml d'extrait 3 ml de NaOH à 10% ou 1 ml de NH₄OH à (10%). La formation d'une couche jaune indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

I.4.1.8 Détection des stérols

Pour ce test, Un volume de 0.5ml d'extrait est additionné à 0.5ml de d'anhydride acétique ($C_4H_6O_3$) avec une agitation puis chauffage jusqu'à ébullition. L'apparition d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche surnageante de vert ou de violet, traduit la présence de stérols et de triterpènes (**Roopalatha et Nair, 2013**).

I.4.1.9 Détection des carbohydrates

Pour la mise en évidence de sucre réducteur, 2 ml d'extraits ont été mélangés à 2ml de solution (A+B) du réactif de Fehling. Après un chauffage au bain marie pendant 10 minutes, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des Carbohydrates (**Roopalatha et Nair, 2013**).

I.4.2 Analyse phytochimiques quantitatives

I.4.2.1 Détermination de teneurs en phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode Folin-Ciocalteu décrite par **Singlton et al., (1999)**.

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), (**Ribéreau et Gayon, 1972**).

Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

- **Mode opératoire**

Pour effectuer cette analyse 1ml de chaque extrait de noyaux a été introduit dans 3 flacons opaques pour 3 répétitions, en suit 5ml de réactif de Folin-Ciocalteu ont été rajouté suivi par 4ml de carbonate de sodium à 7.5% après agitation. La lecture d'absorbance a été menée après une heure d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante.

Les polyphénols totaux sont quantifiés en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire de la forme $y = a x + b$ réalisée en utilisant l'acide gallique comme référence (Annexe 1). Les

résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme de lyophilisa (mg EAG/g)

I.4.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

- **Principe :**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ben abbes, 2011**).

- **Mode opératoire**

Afin d'établir cette opération un volume de 2 ml de chaque extrait de noyaux a été mélangé avec un volume égal d' AlCl_3 (2%) dans des flacons opaques. Les densités optiques ont été lues à 430nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, contre un courbe étalon préalablement tracée avec la quercétine comme substance de référence (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent quercétine (EQ) par gramme de lyophilisa (mg EQ/g).

II. Etude de l'activité anti-inflammatoire des extraits de noyaux de dattes

II.1. Matériel animal

Dans Cette étude, nous avons travaillé sur des souris femelles de souche NMRI ; ayant un poids moyen variant entre $28\pm 2g$ (Fig.13). Ces animaux proviennent du centre animalier de l'institut Pasteur d'Alger.

Les souris ont bénéficié d'une période d'adaptation et de préparation durant laquelle elles ont reçu un régime alimentaire standard (Annexe 3) et un accès libre à l'eau de robinet.

L'élevage des souris a été réalisé au niveau de l'animalerie de l'université de Mostaganem, avec une mise à disposition d'un éclairage respectant le cycle nyctéméral de ces animaux (12 /12h lumière/obscurité). Les conditions climatiques étaient adéquates pendant la période d'expérimentation, car la température ambiante et l'aération étaient favorables.



Figure 13 : Souris de la souche NMRI

II.2. Test de toxicité

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser un test de toxicité (**OCDE (2008), Essai n°425**).

Le principe de ce test est d'observer l'apparition des signes de toxicité, changement de comportement, autres manifestations ou bien mortalité. Les souris sont privées de nourriture mais pas d'eau, 15 heures avant d'entamer ce test. Elles sont observées individuellement dès les 30 premières minutes suivant l'administration des extraits et régulièrement durant les premières 48 heures, puis quotidiennement, la période d'observation totalisant les 14 jours (**Chan et Hayes, 1994**).

Pour réaliser ce test les souris ont été réparties en 2 groupes (A,B), chacun contient trois lots de souris correspondant à trois doses d'extraits (300,1000 et 2000mg/kg), ces solutions sont dissoutes dans NaCl (0,9%) et administrées par gavage gastrique.

Groupe A : Extrait aqueux de noyau de datte

Lot 1 : reçoit une dose de 300mg/kg.

Lot 2 : reçoit une dose de 1000mg/kg.

Lot 3 : reçoit une dose de 2000mg/kg.

Groupe B : l'extrait cétonique de noyau de datte

Lot 1' : reçoit une dose de 300mg/kg.

Lot 2' : reçoit une dose de 1000mg/kg.

Lot 3' : reçoit une dose de 2000mg/k.

II.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire des extraits de noyau de datte, un modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris induit par la carragénine a été sélectionné. La méthode utilisée est décrite par Winter et *al* (**1962**). Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration du produit de référence et des extraits anti-inflammatoires à tester.

II.3.1. Prétraitement par les extraits

Pour effectuer cette étude un effectif de 40 souris a été réparti en 04 groupes. L'administration des solutions est réalisée par gavage gastrique, une heure avant l'induction de l'inflammation, selon la répartition suivante (Fig.14) :

Groupe 1 : Témoin positif

➤ **Lot T+** (n=5 souris) : reçoit une solution de NaCl (0,9%)

Groupe 2 : Standard

➤ **Lot STD** (n=5 souris) : reçoit le diclofénac (Voltarène®) à 50 mg/Kg dissous dans du NaCl à 0.9%

Groupe 3 : Extrait aqueux de noyau de datte dissous dans du NaCl à 0.9% (E₁).

➤ **Lot E₁D₁** (n=5 souris) : reçoit une dose de 100mg/kg de poids corporel (D₁).

➤ **Lot E₁D₂** (n=5 souris) : reçoit une dose de de 200mg/kg de poids corporel (D₂).

➤ **Lot E₁D₃** (n=5 souris) : reçoit une dose de 300mg/kg de poids corporel(D₃).

Groupe 4 : Extrait cétonique de noyau de datte dissous dans du NaCl à 0.9% (E₂).

➤ **Lot E₂D₁** (n=5 souris) : reçoit une dose 100mg/kg de poids corporel (D₁).

➤ **Lot E₂D₂** (n=5 souris) : reçoit une dose 200mg/kg de poids corporel (D₂).

➤ **Lot E₂D₃** (n=5 souris) : reçoit une dose 300mg/kg de poids corporel (D₃).



Figure 14 : Répartition des lots

II.3.2. Induction de l'inflammation

Les souris utilisées sont privées de nourriture pendant les 12 heures avant l'expérience. Un œdème au niveau de la patte arrière droite de souris est induits après injection sub-plantaires (intra articulaire) d'une solution de 0,1 ml de carragénine (fraichement préparée) à 1% dissous dans NaCl, une heure après l'administration intra-gastrique des extraits (Fig.15).

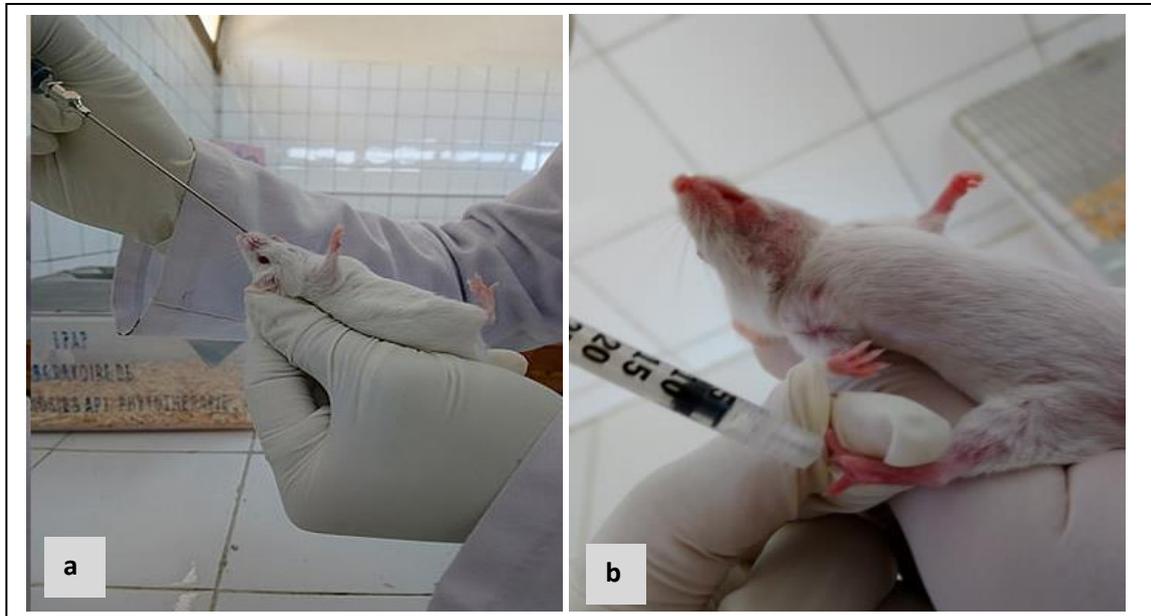


Figure 15 : **a** : Voie d'administration. **b** : induction de l'inflammation par la carragénine.

II.3.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

➤ Mesure de l'œdème

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un pied de coulisse avant et après l'induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant six heures (Fig.16).

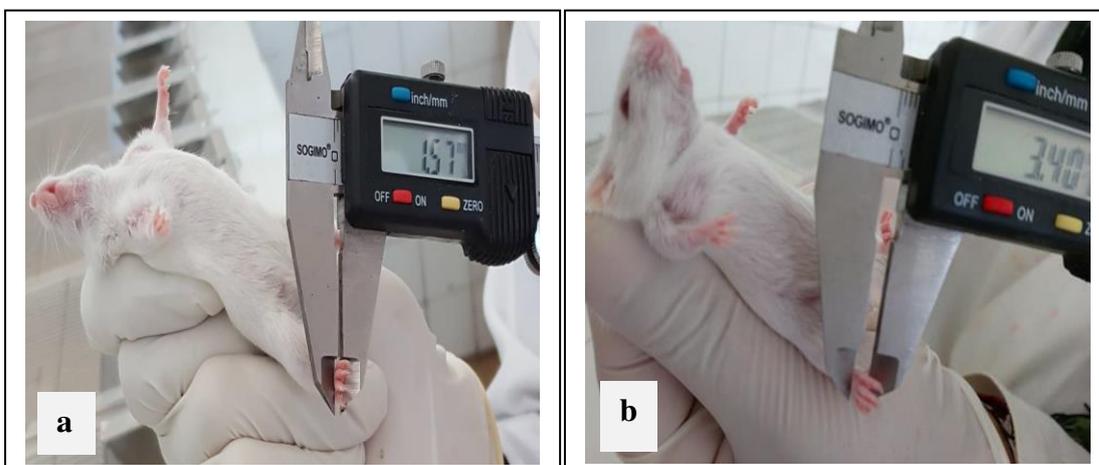


Figure 16 : **a** : mesure de l'œdème avant l'injection de la carragénine. **b** : après l'injection de la carragénine

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

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque souris. Il est donné par la formule suivante (Ndiaye *et al.*, 2006) :

$$\%AUG = (Dn - D0) \times 100 / D0$$

Dn : diamètre de la patte la 1^{ère} heure après l'injection de la carragénine.

D0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

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

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traitées par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante (Ndiaye *et al.*, 2006) :

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

II.4. Etude histologique

Avant le sacrifice les souris sont anesthésiées par le chloroforme, et les pattes sont prélevées puis fixés dans une solution de formol à 10% pour l'étude histologique.

Cette étude est réalisée à la fin des expérimentations sur les tissus de pattes des souris, au niveau de laboratoire de recherche de « Pharmacognosie et Api Phytothérapie » à l'université de Mostaganem.

L'étude histologique a été établie suivant le manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie (Marck, 2010) :

a) Fixation

Les pattes prélevées sont fixées avec du formol dilué à 10%.

b) Décalcification

La dureté du tissu osseux nécessite un traitement à l'aide d'agents chimiques permettant de chélater le calcium. La décalcification facilite l'obtention de coupes fines exploitables d'un point de vue microscopique. Durant cette étape, les pattes sont introduites dans une solution de décalcifiant (acide nitrique).

c) Macroscopie

- La réalisation de fragments pour chaque patte.
- Introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord au crayon.

d) Circulation

Introduction des cassettes dans des bains durant 7 heures en passant par 5 bacs comme suit (Fig.17) :

1-Déshydratation

- 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure.
- 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure.
- 1 bac d'acétone durant 2 heures.

2- Substitution

- 1 bac de toluène / xylène durant 2 heures.

3-Imprégnation

- 1 bac de paraffine à 70°C durant 1 heure



Figure 17 : Circulation

e) Inclusion et enrobage

Le paraffinage à lieu grâce à un bain marie pour faire couler la paraffine (70°C), et d'une plaque refroidissante sur laquelle les moules métallique contenant les cassettes sont mises. Une fois le bloc préparé, il est stocké dans un congélateur.

f) Microtomie

Les coupes sur le bloc sont réalisées à l'aide d'un microtome (Fig.18). L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4µm). Le ruban fractionné est porté sur une lame en verre.

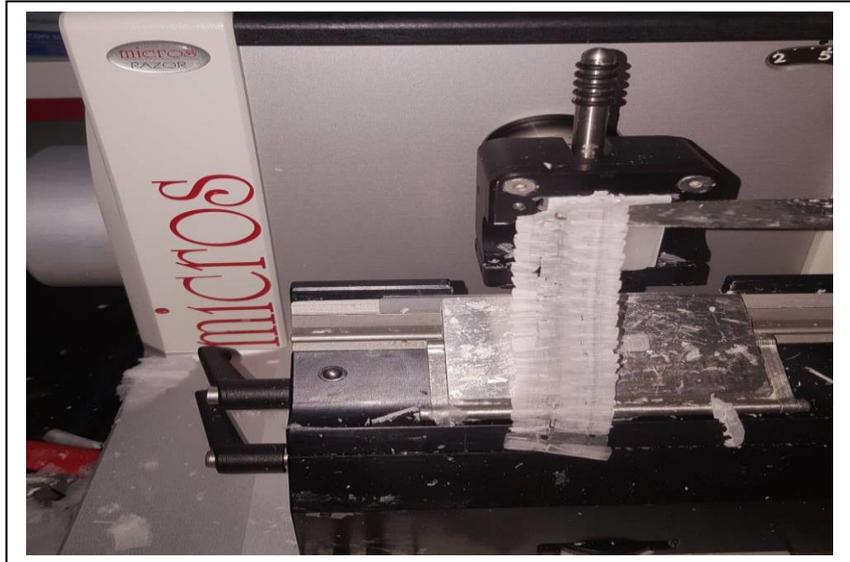


Figure 18 : Microtomie

g) Déparaffinage

La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer.

- 1 bac de toluène / xylène durant 10 mn.

h) Réhydratation

Consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol pour amener à l'eau (Fig.19)

- 1 bac d'éthanol à 70% durant 5 mn
- 1 bac d'éthanol à 80% durant 5 mn
- 1 bac d'éthanol à 96% durant 5 mn
- Rinçage à l'eau durant 10 mn

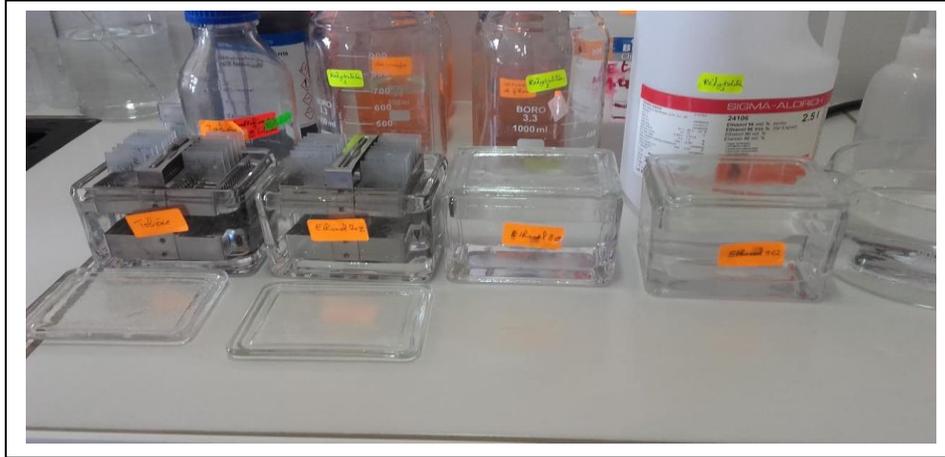


Figure 19 : déparaffinage et réhydratation

i) Coloration

La coloration est réalisée avec de l'Hématoxyline Eosine pour les échantillons des pattes des souris (Fig.20).

.

- 1 bac d'hématoxyline de Harris durant 5-10mn
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage
- 1 bac d'eau acidifié, juste pour un trempage
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage
- 1 bac d'eau mélangé au carbonate de lithium, juste pour un trempage 2 à 3 fois
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage
- 1 bac d'éthanol 96% durant 2 mn
- 1 bac d'éosine durant 5 mn
- 1 bac d'acétone, juste pour un trempage afin de nettoyer les lames
- 1 bac d'acétone, juste pour un trempage afin de nettoyer les lames
- 1 bac de toluène/xylène, juste pour un trempage
- 1 bac de toluène/xylène, en laissant les lames dans le bac pour le montage



Figure 20 : Coloration

j) Montage

Une goutte d'une solution (EUKITT) est déposée permettant l'adhésion sur la lame, en présence d'une lame propre et sèche en inclinant progressivement cette dernière de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'air. La lamelle est adhérente et la préparation est prête pour l'observation microscopique (Fig.21).



Figure 21 : Montage

k) Lecture microscopique

La lecture est effectuée à l'aide un microscopique photonique.

II.5. analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée par le test de *Student*. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SEM. Les valeurs de $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ ont été considérés comme significatifs (*), très significatifs (**) et hautement significatif (***) respectivement.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats de l'étude phytochimiques des extraits de noyaux de datte

III.1 Caractérisation morphologique des noyaux de *Deglet-Nour*.

Les résultats des analyses morphologiques de quelques aspects externes de noyaux sont rapportés dans le tableau suivant (tab.5).

Tableau 5 : Les résultats des analyses morphologiques

Caractérisation morphologique	Résultats obtenus	
	Structure	Forme
Taille		moyenne
Couleur		marron
Surface		lisse a ridée
Pore germinatif		central
Mesures	Poids (g)	0,881±0,128
	longueur (mm)	25,31±1,497
	largeur (mm)	7,584±0,444



III.2 Analyses phytochimiques

III.2.1 Screening phytochimique (Analyses phytochimiques)

Le criblage phytochimique réalisé a montré la présence de la majorité des groupes chimiques recherchés dans nos deux extraits aqueux et cétonique.

Le tableau 6 ci-dessous illustre les résultats obtenus.

Tableau 6 : Différents groupes phytochimiques mis en évidence dans les deux extraits.

(+++ : Très abondant. ++ : Abondant. + : Faible. - : Non détecté.)

Groupes chimiques	Tests	Extrait aqueux	Extrait cétonique
Alcaloïdes	Mayer	-	-
	Wagner	+	-
	Dragendorff	-	-
Anthocyanes		-	-
Carbohydrates	Fehling	-	-
Coumarines		+	±
Flavonoïdes	AlCl ₃	++	++
	FeCl ₃	+	++
Tanins		++	+++
Tanins gallique	stiasny	-	-
Tanins catéchique	stiasny	+	+
Terpenoïdes	Salkowski	+	++
Stérols et triterpènes	Libermann-Burchard	-	-
Saponosides	Indice de mousse	±	-

III.2.2 Analyse phytochimiques quantitatives

a. Teneur en phénols totaux

La spectrophotométrie a permis de quantifier le taux des polyphénols dans les deux extraits ; aqueux et cétonique. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Les résultats de dosage de phénols totaux

Extrait	Aqueux	Cétonique
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g).	183,35 ± 10,80	517,66 ± 26,92

b. Teneur en flavonoïdes

Après le traçage de la courbe d'étalonnage par mesure d'absorbance de différentes concentrations de la quercétine, on détermine les teneurs en flavonoïdes des deux extraits (tab.8).

Tableau 8 : Les résultats de dosage des flavonoïdes

Extrait	Aqueux	Cétonique
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)	1,92 ± 0,13	3,09 ± 0,01

IV. Résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits de noyaux de dattes**IV.1 Test de toxicité**

L'observation de comportement des souris traités par les deux extraits (aqueux et cétonique) à des différentes doses 300, 1000 et 2000 mg /kg dès les 30 premières minutes suivant l'administration et quotidiennement jusqu'à 14 jours, n'a révélé aucun signe de toxicité, de changement comportemental, ni de mortalité.

IV.2. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) des extraits aqueux et cétonique :

- Une heure après l'injection de la carragénine une augmentation remarquable du %AUG du volume de la patte est observée chez toutes les souris. Cependant une légère diminution de volume de la patte des souris témoins est observée au cours de l'expérimentation.
- L'anti-inflammatoire Diclofénac (50mg/kg) entraîne une diminution très significatives du volume de la patte des souris à partir de la 3^{ème} heure, en passant par une différence

hautement significative à la 5^{ème} heure puis s'estompe à la 6^{ème} heures comparativement aux souris témoins.

- Le traitement par l'extrais aqueux de la dose 100 mg /kg entraine au niveau des pattes des souris une diminution très significative à partir de la 2^{ème} heure par rapport aux souris témoins. Cette diminution s'accroît durant la 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} heure et devient par la suite très significative à la 6^{ème} heure de l'expérimentation. Cependant la dose de 300mg/kg entraine une diminution significative à la 2^{ème}, 3^{ème} et 6^{ème} heure par rapport aux témoins, puis augmente progressivement à la 4^{ème} et 5^{ème} heure respectivement On note également que la dose 200mg/kg affiche une diminution très significative du %AUG des souris qu'à partir de la 4^{ème} heure (fig.22).

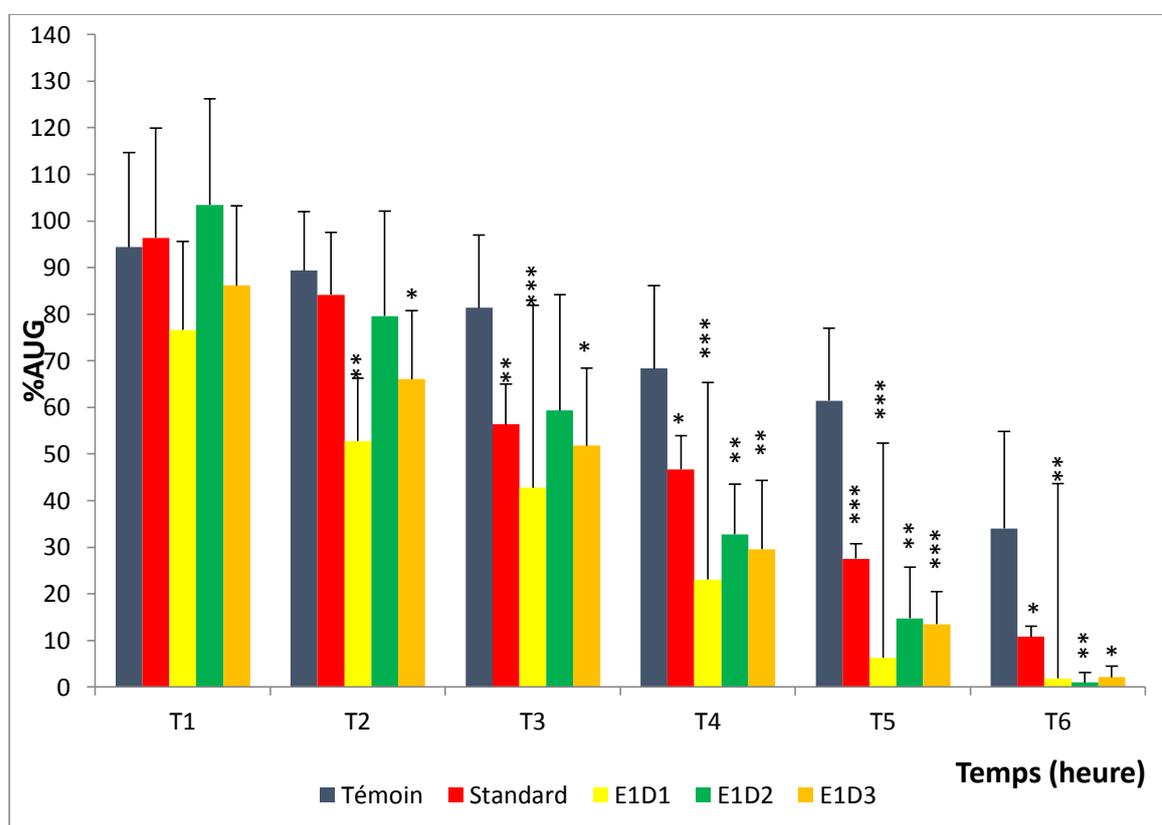


Figure 22 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg) et les souris traitées par l'extrais aqueux avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparant aux souris témoins .

Significative *(p<0,05) ; très significative ** (p<0,01) ; hautement significative *** (p<0,001)

- Concernant l'extrait cétonique, on constate une différence significative du %AUG dès la deuxième heure chez les souris traitées avec la dose 300mg/kg par rapport aux souris témoins. Néanmoins cette dose rejoint la dose de 200mg/kg pour afficher une différence hautement significative de la 3^{ème} heure jusqu'au dénouement de l'expérimentation. Le traitement avec la dose de 100 mg/kg expose également une diminution progressive de pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes de souris à partir de la 3^{ème} heure jusqu'à la 6^{ème} heure (fig.23).

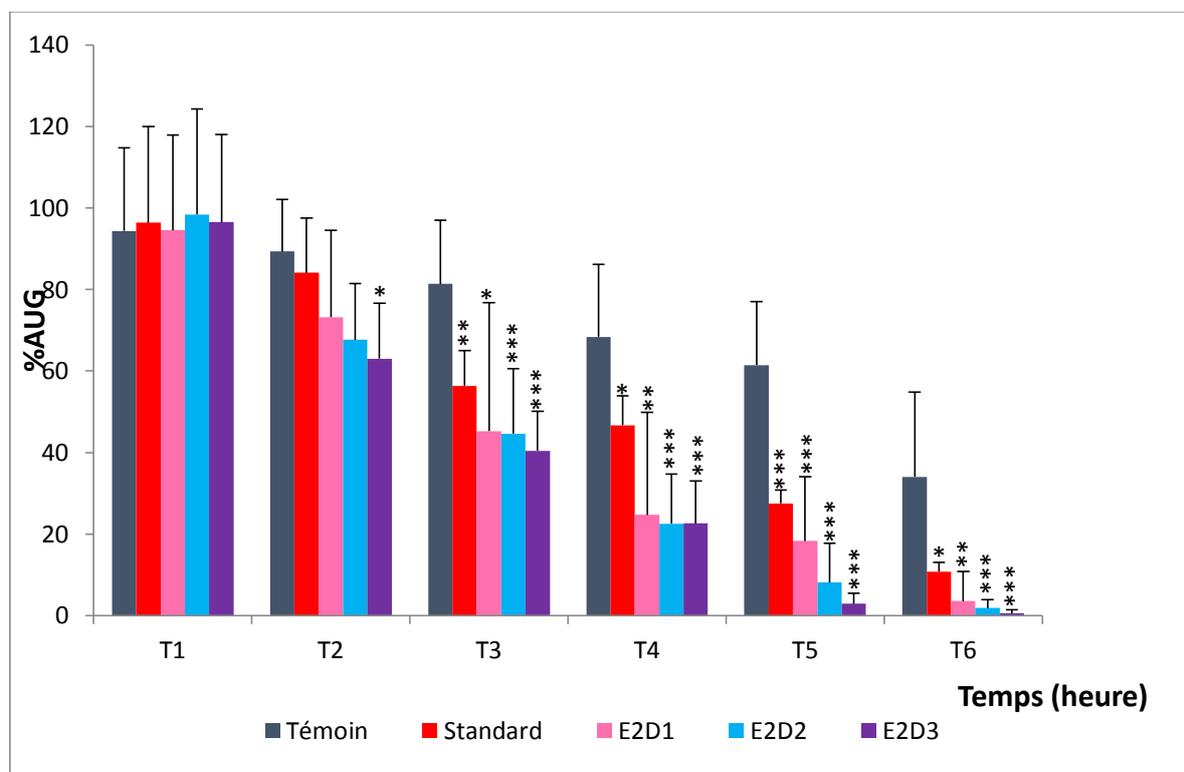


Figure 23 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg) et les souris traitées par l'extrait cétonique avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de poids corporel comparant aux souris témoins.

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative *** ($p < 0,001$)

- D'après les résultats obtenus, il s'avère que les souris traitées avec l'extrait aqueux à 100mg/kg indiquent une diminution hautement significative à partir de la 2^{ème} heure comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac à 50mg/kg, et qui persiste tout le long de l'expérimentation. Par contre les doses 200 et 300mg/kg semblent entrainer une diminution appréciable du %AUG qu'à la 4^{ème} heure par rapport aux standards. Différence significative (fig.24).

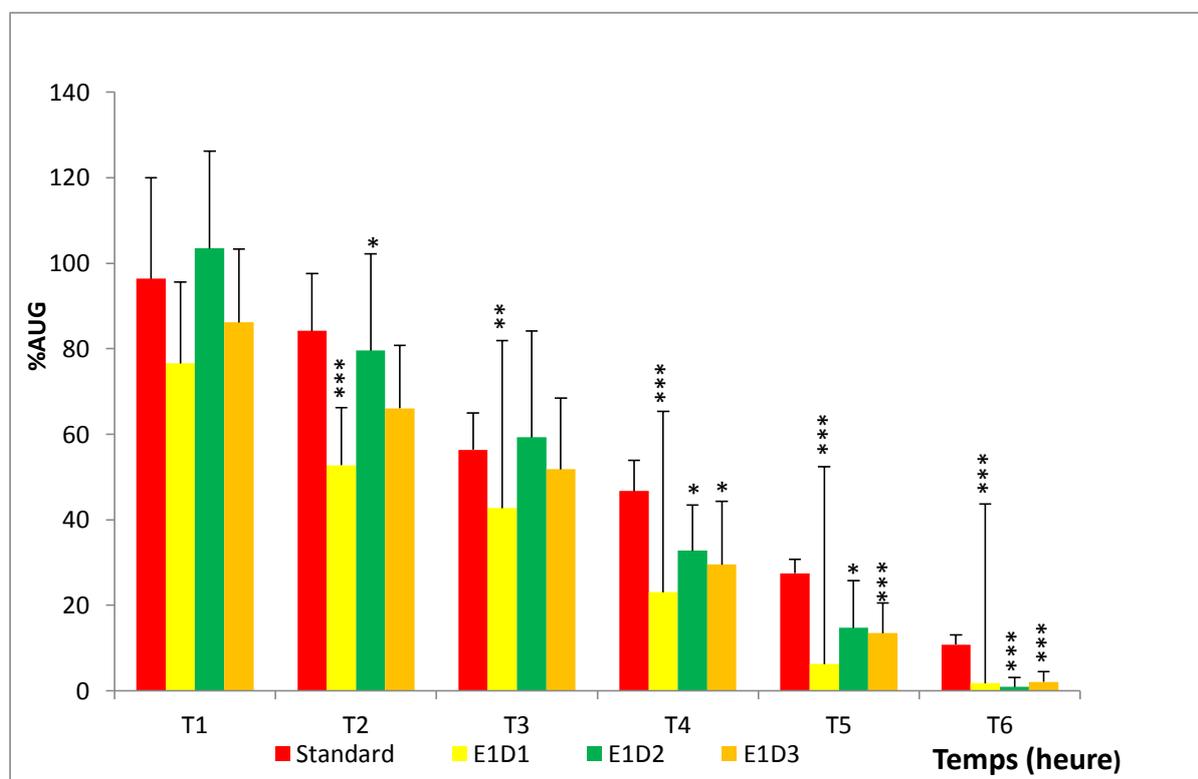


Figure 24 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par l'extrait aqueux avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparativement aux souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg).

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative *** ($p < 0,001$)

- Les valeurs du pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec l'extrait cétonique à 300mg/kg démontrent une diminution significative à la 3^{ème} heure après l'induction de l'inflammation par rapport à la souris traitées avec le Diclofénac. On constate qu'à la 4^{ème} heure les doses 200 et 300mg/kg se rejoignent pour afficher une différence très significative, qui augmente à la 5^{ème} et 6^{ème} heure de l'expérimentation (fig.25).

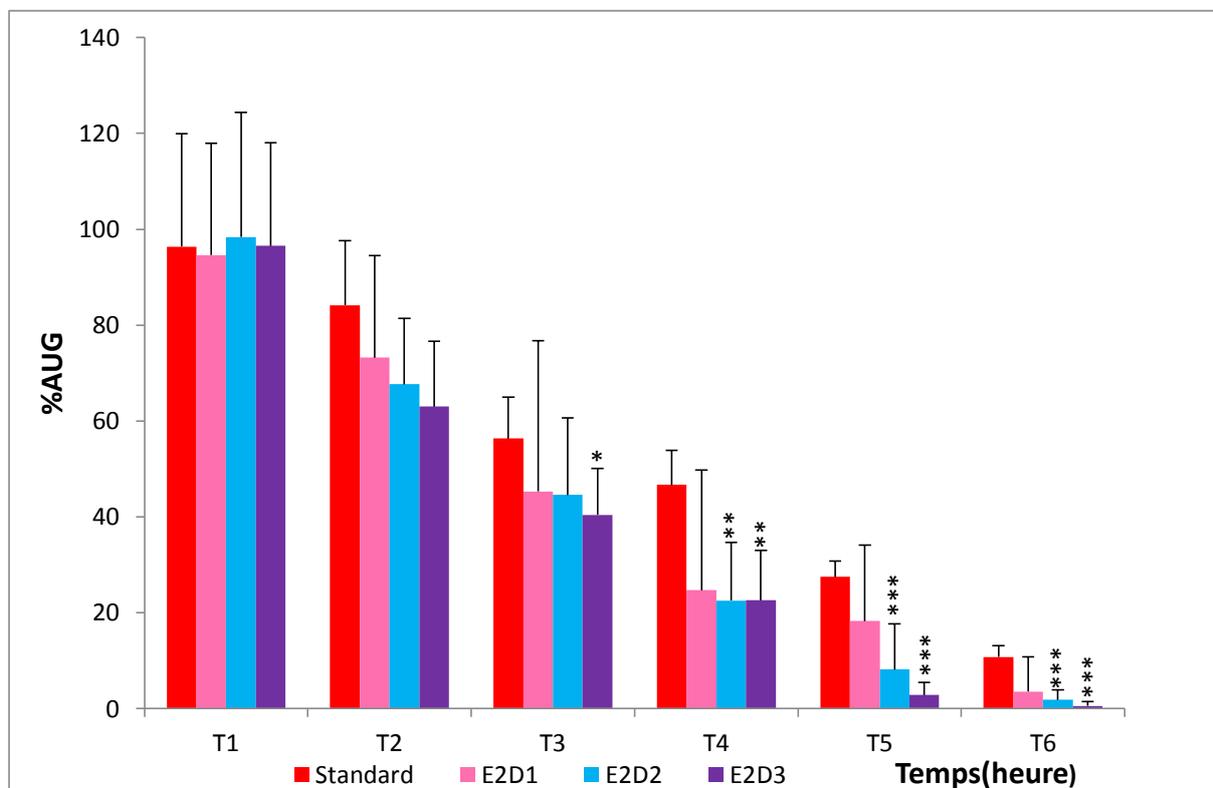


Figure 25 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées par l'extrait cétonique avec les doses 100, 200 et 300mg/kg de Poids corporel comparativement aux souris traitées par le Diclofénac (50mg/kg).

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative *** ($p < 0,001$)

IV.3. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (% INH) des extraits aqueux et cétonique :

- Les résultats du pourcentage d'inhibition de volume de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux confirment ceux du pourcentage d'augmentation AUG. En effet, les valeurs du %INH chez les souris traitées avec la dose 100mg/kg révèle une différence hautement significative par rapport aux souris standards dès la 2^{ème} heure jusqu'au dénouement de l'expérimentation. Contrairement à la dose 200mg/kg qui expose une différence significative à la 4^{ème} et 5^{ème} heure et hautement significative à la 6^{ème} heure d'expérimentation. Cependant les souris traitées avec la dose 300mg/kg, leur pourcentage d'inhibition affiche des irrégularités au cours de l'expérimentation ; différence hautement significative à la 2^{ème} heure, ensuite significative à la 4^{ème} heure et enfin devient hautement significative à la 5^{ème} et 6^{ème} heure comparativement aux standards (fig.26).

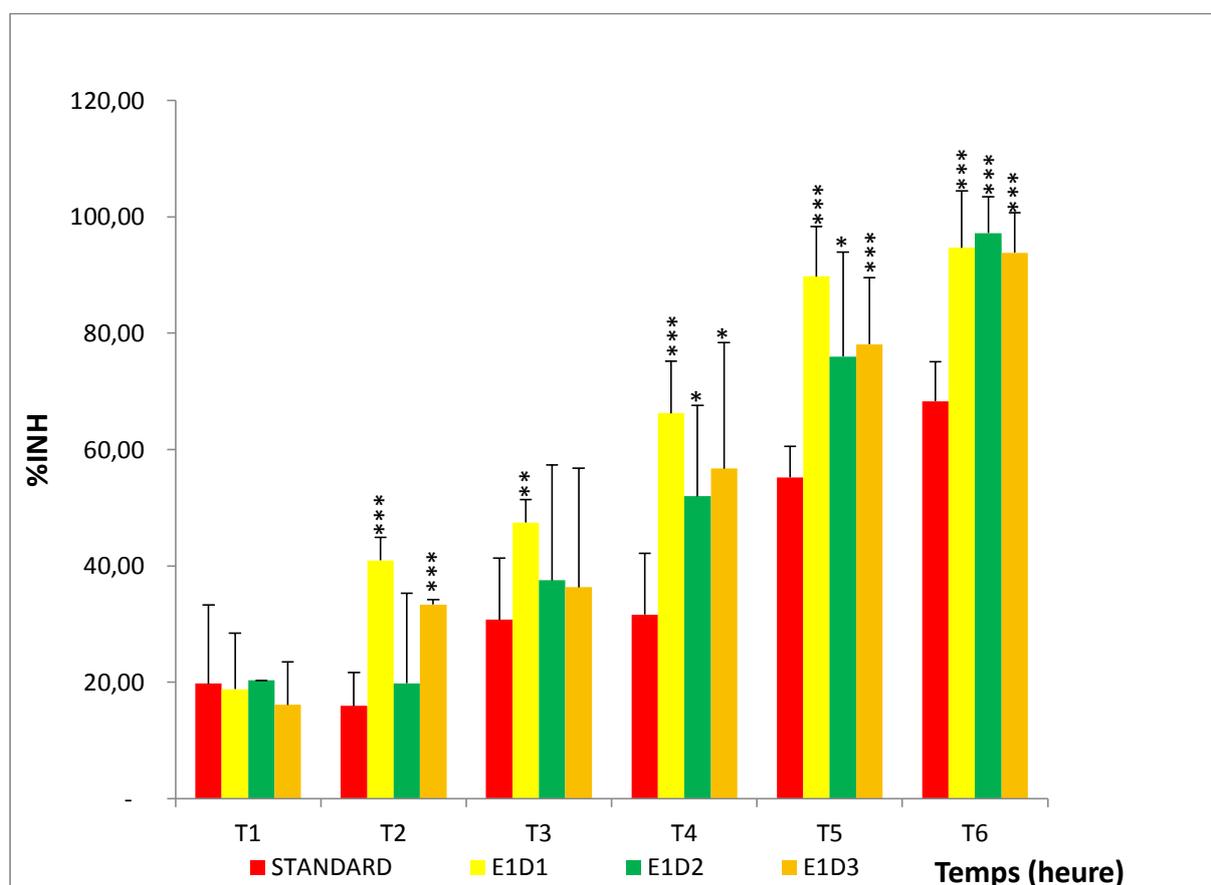


Figure 26 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées avec l'extrait aqueux avec les doses 100, 200 et 300mg/kg comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg).

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative *** ($p < 0,001$)

- En ce qui concerne le traitement avec l'extrait cétonique, le pourcentage d'inhibition du volume de la patte des souris démontre une différence très significative à partir de la 3^{ème} heure pour la dose 300mg/kg et à la 4^{ème} heure pour 200mg/kg par rapport aux souris traitées avec le Diclofénac. Ensuite ces diminutions s'accroissent à la 5^{ème} et 6^{ème} heure, Différence hautement significative. Par contre le traitement avec la dose 100mg/kg conduit à une seule différence très significative du %INH à la 3^{ème} heure par rapport aux standards, qui disparaît par la suite (fig.27).

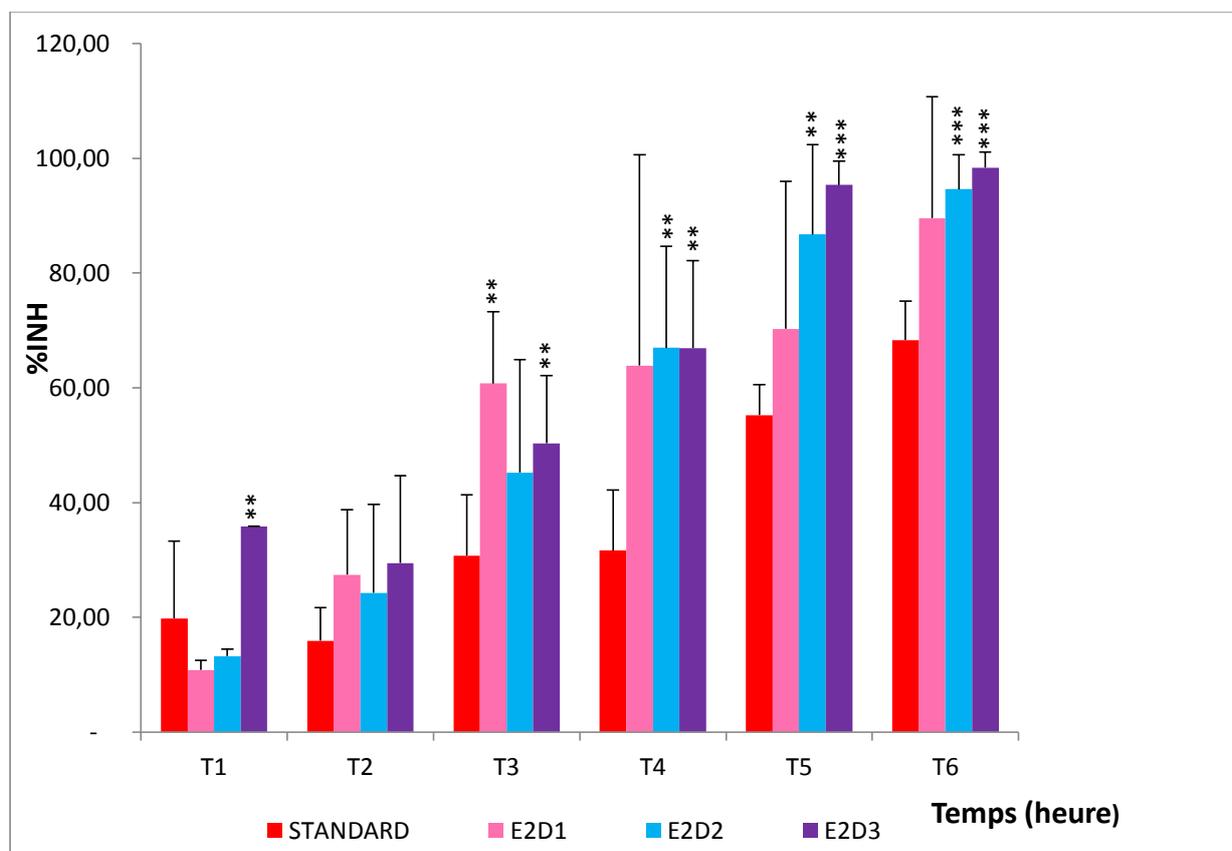


Figure 27 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées l'extrait cétonique avec les doses 100,200 et 300mg/kg comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac (50mg/kg).

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative ***($p < 0,001$)

- En comparant les résultats du pourcentage d'inhibition de la patte des souris traitées avec l'extraits cétonique et l'extrait aqueux, on constate que la dose 100mg/kg de l'extrait aqueux démontre une légère augmentation (%INH) par rapport à l'extrait cétonique tout le long de l'expérimentation. Cependant les doses 200 et 300mg/kg affichent une augmentation supérieure du %INH pour l'extrait cétonique a partir de la 2ème heure qui a suivie l'induction de l'inflammation (fig.28).

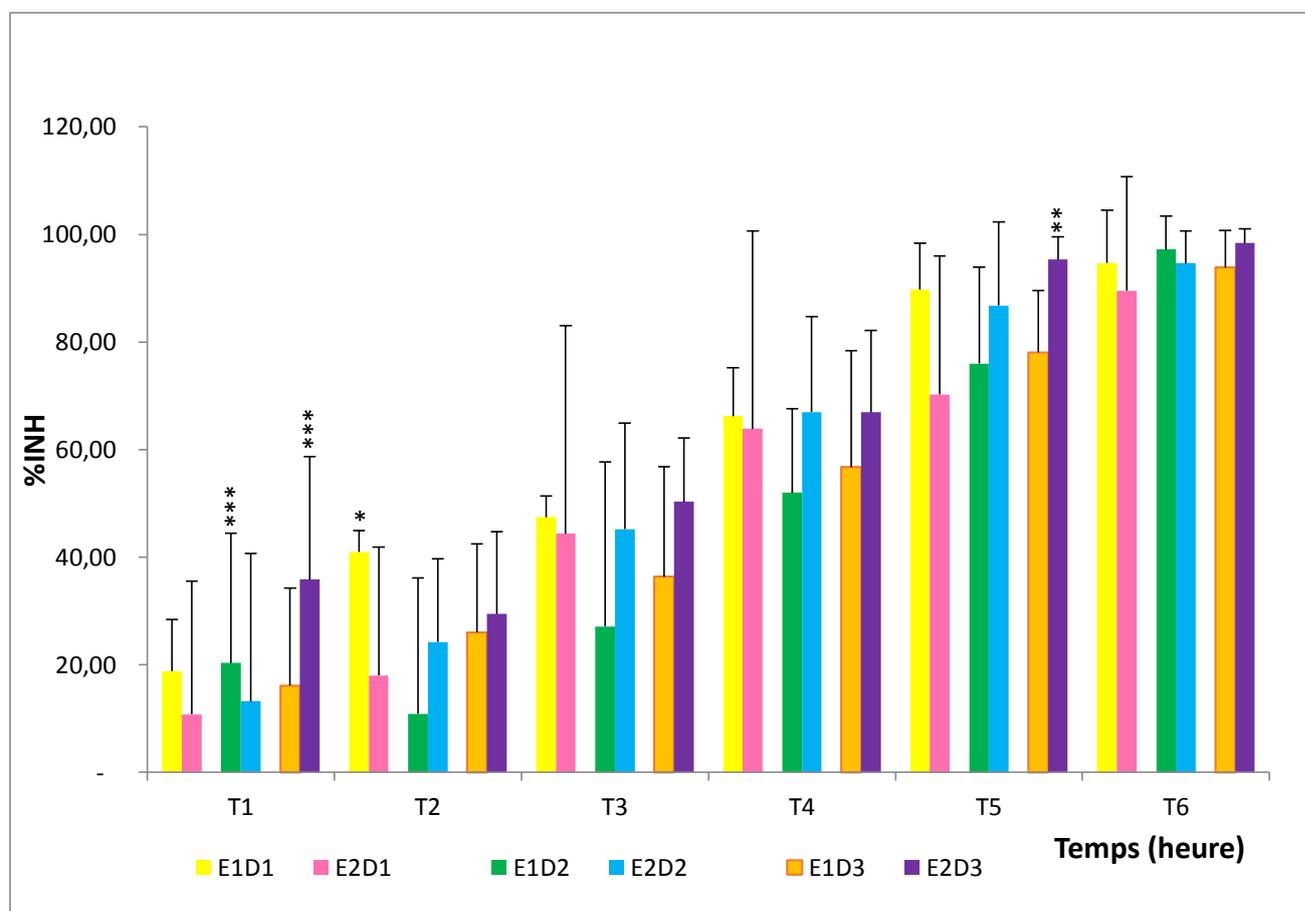


Figure 28 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux comparativement aux des souris traitées par l'extrait cétonique avec les dose 100, 200 et 300 mg/kg.

Significative *($p < 0,05$) ; très significative ** ($p < 0,01$) ; hautement significative ***($p < 0,001$)

V Etude histologique

V.1 Histologie du tissu cutané chez les témoins négatifs

L'examen microscopique du tissu cutané des souris témoins négatifs ; qui n'ont reçues aucune injection de carragénine, ni prétraitement, démontre un aspect physiologique de la peau qui constitue dans notre étude le critère de normalité.

Ce tissu comporte une répartition épidermique régulière en plusieurs couches (corné, granuleuse, corps muqueux et basal), une partie dermique contenant un tissu conjonctif ferme richement vascularisés, des fibres de collagène, des élastines et de la substance fondamentale. Ces deux principales parties sont séparées par une jonction dermo-epidermique (fig.29).

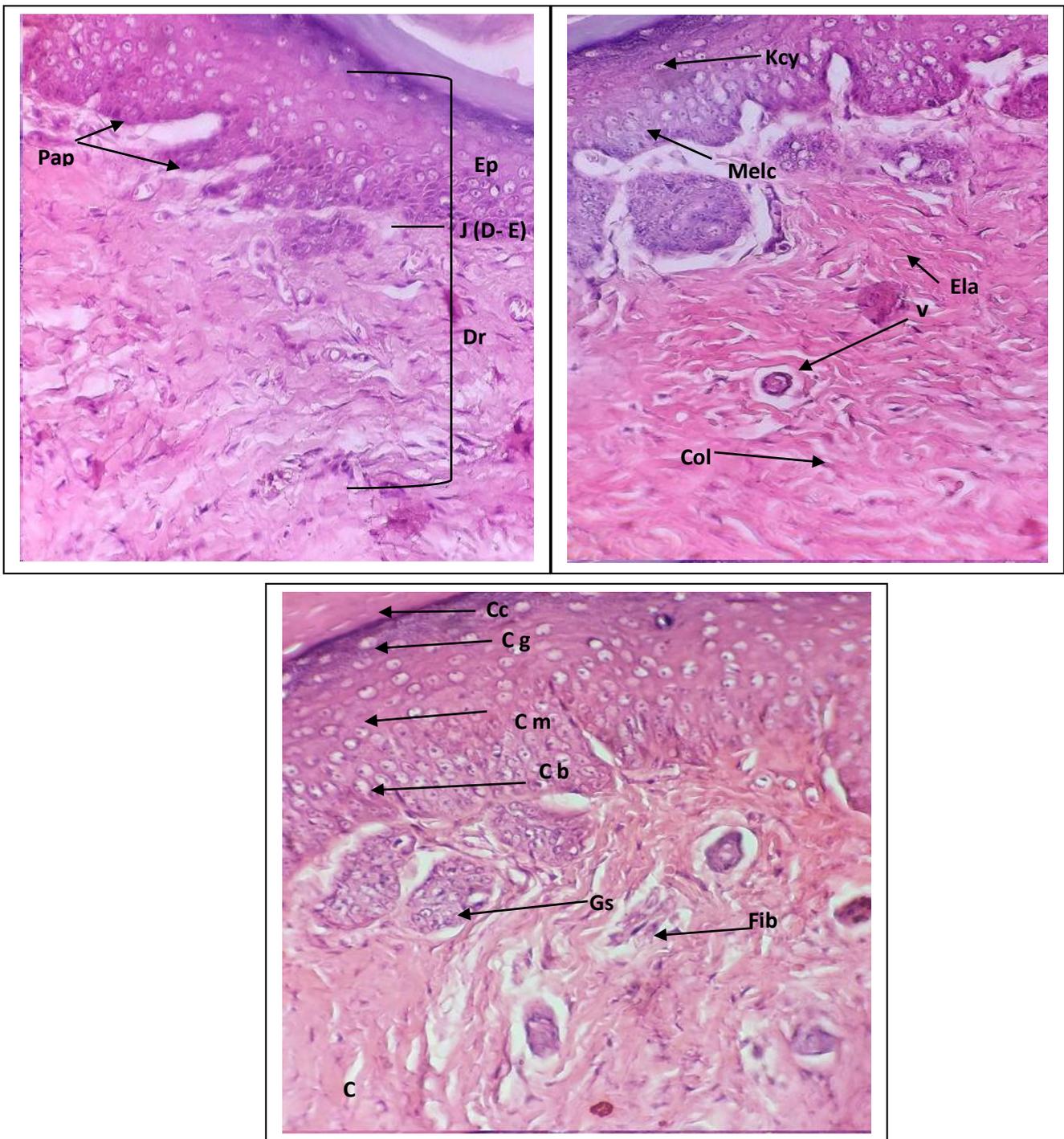


Figure 29 : Coupes histologiques d'un tissu cutané (hématoxyline + éosine, X40).

Ep : Epiderme. Dr : Derme. Cc : Couche cornée. Cg : Couche granuleuse. Cm : Corps muqueux. Cb : Couche basale. Jonc D-Ep : J (D- E) (Dermo-Epidermique). Gs : glonde sébacé. V : Vaisseaux. C : Capillaire. Col : collagène. Ela : Elastine. Kcy : Kératinocyte. Mel : Mélanocyte. Fib : Fibroblaste. Pap : papilles.

V.2 Histologie de tissu cutané chez les témoins positifs

L'histologie des tissus cutanés de la patte des souris ayant reçues une injection de la carragénine démontre une matrice lâche, très claire, dissociant les fibres de collagène, avec des filaments de fibrine et quelques leucocytes au niveau du derme interstitiel. Cette description fait appel à un exsudat (fig.30).

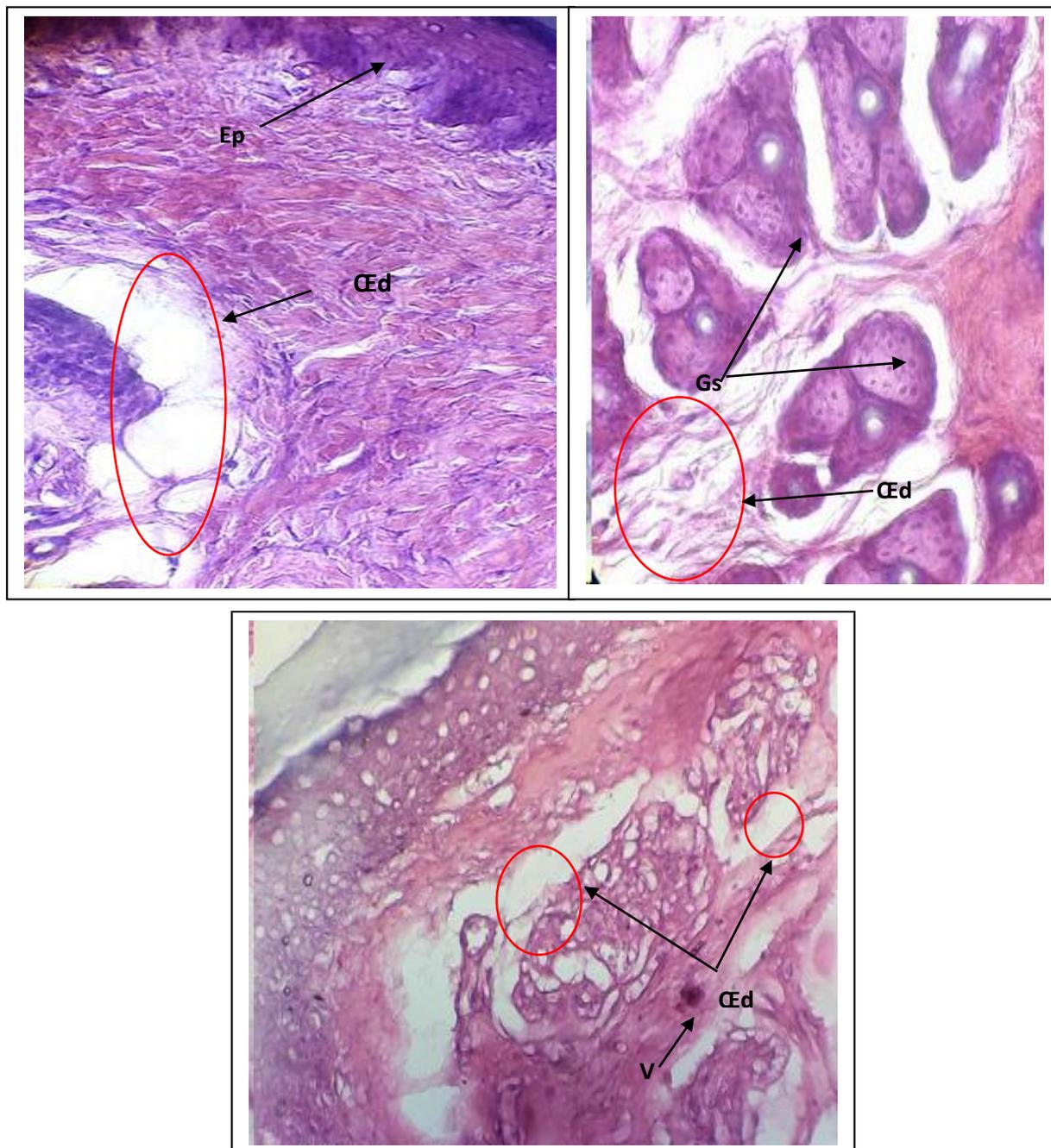


Figure 30 : Coupes histologiques d'un tissu cutané enflammé (hématoxyline + éosine, X40).

Ep : epiderme. Ced : œdème du derme moyen et profond. V : Vaisseaux. Gs : glande sébacé.

V.3 Histologie du tissu cutané des souris traitées avec le Diclofénac

L'examen histopathologique de la patte des souris enflammées traitées avec le Diclofénac® (50mg/km), Révèle une légère dissociation du tissu conjonctif résultant d'un œdème dispersé et persistant au niveau du derme profond (fig.31).

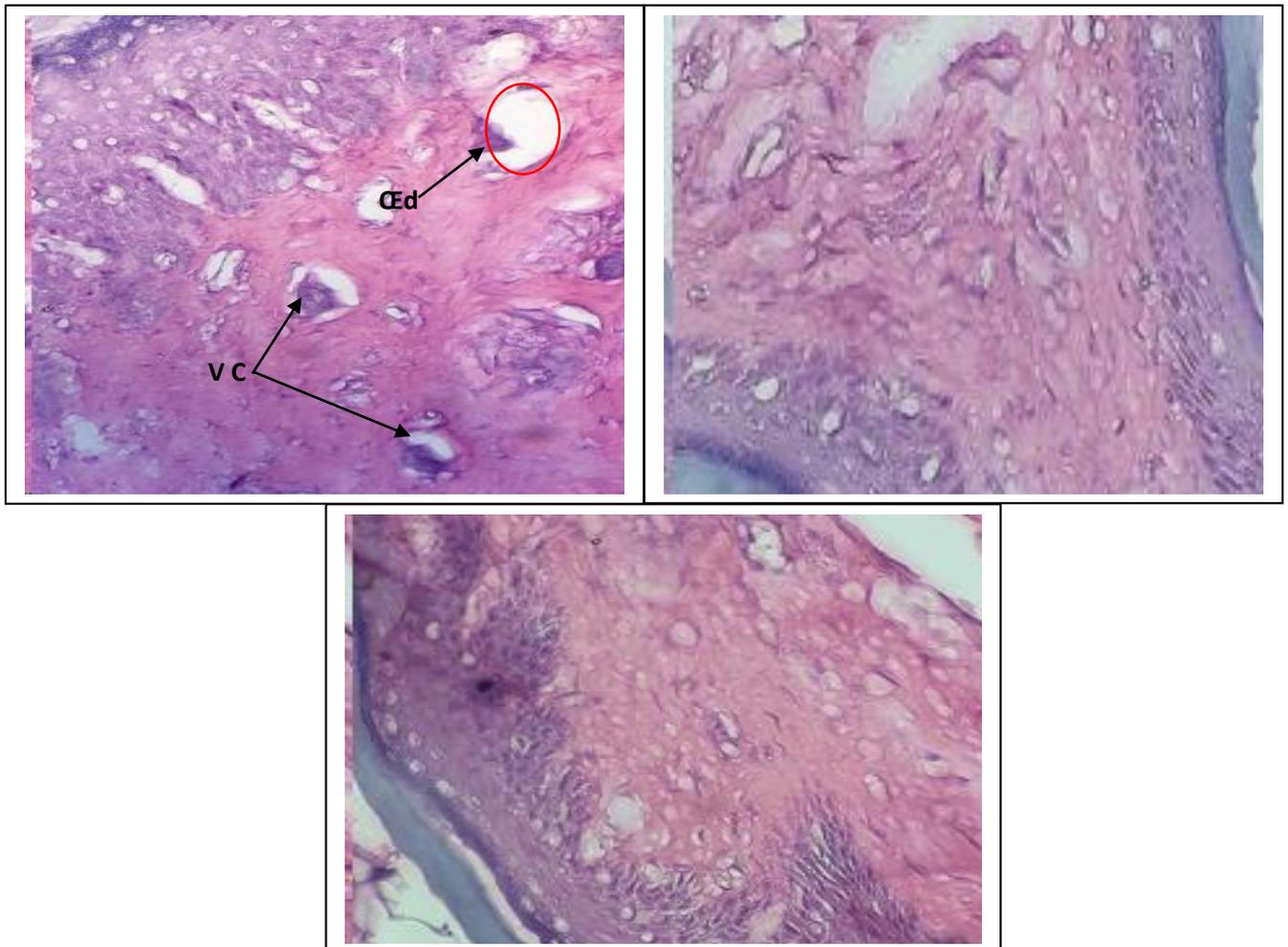


Figure 31 : Coupes histologiques d'un tissu cutané enflammé traité avec le Diclofénac (hématoxyline + éosine, X40). Odm : œdème du derme moyen. Vc : vaisseau congestionnés gorgées en hématies. G Seb: glande sébacée.

V.4 Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec l'extrait aqueux de noyau de datte

L'histopathologies du tissu cutané chez les souris traitées avec l'extrait aqueux de noyau de datte exprime ; une rétrogradation distingue de l'œdème, un rétablissement considérable des tissus au niveau du derme pour la dose 300mg/kg. Les doses 100 et 200mg/kg montrent cependant une certaine persistance de quelques sites inflammatoires (fig.32).

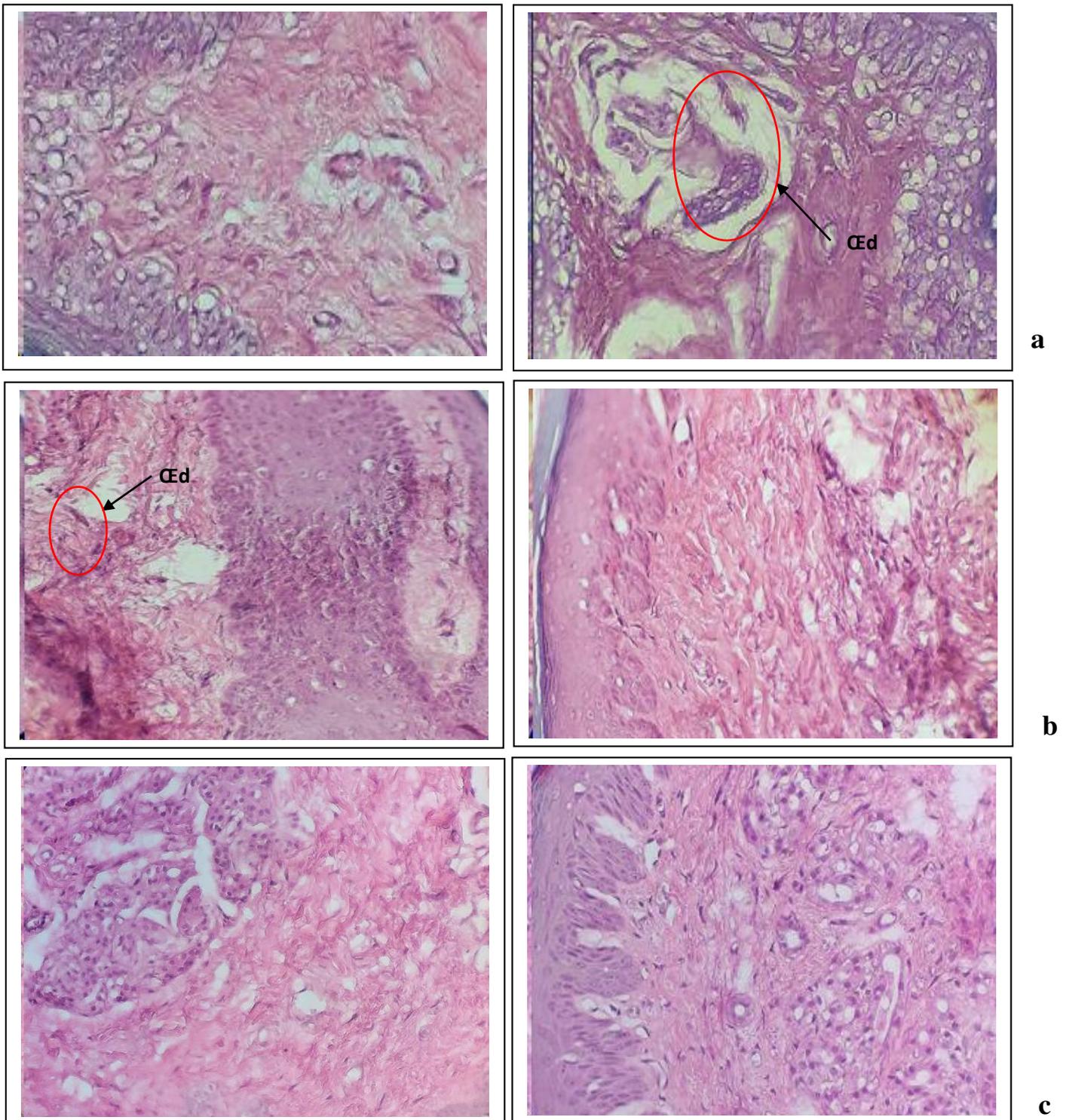


Figure 32 : coupes histologiques des tissus cutanées des pattes de souris traitées avec de l'extrait aqueux de noyaux de datte (100,200 et 300 mg/kg). œd : œdème discret.

V.5 Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec l'extrait cétonique de noyau de datte

L'analyse microscopique des tissus cutanés chez les souris traitées avec l'extrait cétonique à 100 mg/kg démontre un aspect pale de tissu conjonctif, suivit d'une dispersion des cellules leucocytaires.

Des œdèmes très modérés et dispersés sont retrouvés sur quelques foyers inflammatoires sans avoir objectivé des leucocytes au niveau des tissus cutanés des souris traités avec les doses 200 et 300mg/kg (fig.33)

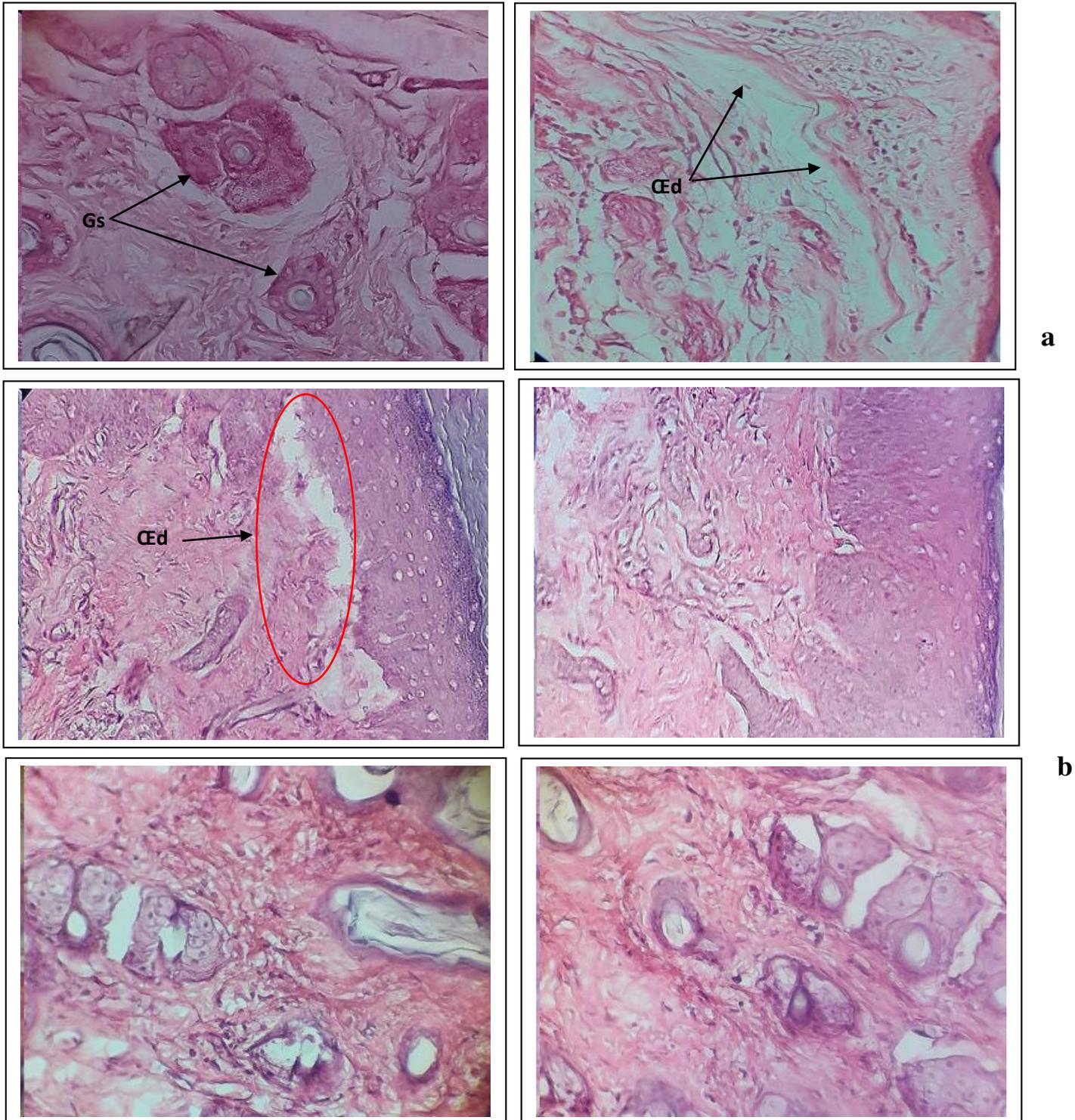


Figure 33 : coupes histologiques des tissus cutanées des pattes de souris traitées avec de l'extrait cétonique de noyaux de dattes (100,200 et 300 mg/kg). œd : œdème discret. G Seb: glande sébacée.

L'homme s'est toujours donné les moyens de combattre la maladie ; ces moyens sont souvent fournis par son environnement naturel et sont essentiellement à base de plantes (**Diallo et al., 2000**).

Face aux limites thérapeutiques de médicaments chimiques relatives aux effets secondaires ou toxiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments (**Mohammedi, 2013**).

Le travail que nous avons mené sur le noyau du fruit du palmier dattier «*Phoenix dactylifera*» a pour but principal d'évaluer *in vivo* l'activité anti inflammatoire des deux extraits aqueux et cétonique de dattes de la variété « Deglete Nour ».

Une analyse morphologique de quelques aspects a été effectuée au début de l'expérimentation, les résultats de cette dernière concernent, la couleur, l'aspect de la surface et les dimensions de noyaux de dattes. Nous avons déterminé une coloration marron et une surface lisse à ridée, ces résultats concordent avec la description de **Debabache (2010)** et celle de **Munier (1973)**. Pour les dimensions, les mesures obtenues sont $25,31 \pm 1,49$ mm de longueur et $7,58 \pm 0,44$ mm de largeur. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Ayachi (2002)** chez la variété "Deglet noir" (26,2 mm de longueur, 7,6 mm de largeur). **Debabache (2010)** ; **Douib et Douba (2012)** ont trouvé également les valeurs de dimensions de la graine voisines à celle obtenues dans notre étude.

Les résultats du poids trouvés par **Debabache (2010)** ; **Douib et Douba (2012)** (entre 0,85g et 0,8g) sont semblables à ceux que nous avons obtenu $0,88 \pm 0,12$ g.

Les analyses phytochimiques des extraits des plantes médicinales est une étape préliminaire et importante, puisqu'elle met en évidence les différents groupements chimiques responsables de vertus thérapeutiques (**Hagerman et al., 2000**).

Les résultats du criblage phytochimique effectué sur les deux extraits consignés dans le tableau 5, dévoilent que nos extraits de noyau de datte contiennent des tanins, flavonoïdes, terpénoïdes, saponosides et alcaloïdes, ce qui est trouvé par **Abiola et al. (2015)**, **Sundar (2017)**. Ces valeurs sont aussi soutenues par les travaux réalisés par **Saryono et al (2018)** et **Ardekani et al (2010)**. En comparant les deux extraits on a détecté que l'extrait cétonique révèle une forte présence en tanins, flavonoïdes et terpénoïdes que l'extrait aqueux, cet analyse est confirmée par l'étude **d'Al-Farsi (2008)**.

L'analyse quantitative a appuyé le screening phytochimique par le dosage des phénols totaux et les flavonoïdes. De ce faite, on constate que les deux extraits aqueux et cétonique de noyau de dattes sont quantitativement riche en composés phénoliques ($183,35 \pm 10,80$ mgEAG/g et $517,66 \pm 26,92$ mgEAG/g respectivement), par contre leur concentration en flavonoïdes demeure relativement faible ($1,92 \pm 0,13$ mgEQ/g et $3,09 \pm 0,01$ mgEQ/g respectivement). Cependant ces valeurs sont supérieures à ceux rapportés par **Zhishen, et al (1999)**, et approximatives avec ceux **d'Al-Farsi (2008)**.

Toutefois, l'extrait cétonique de noyau de dattes présente des teneurs supérieures en phénols totaux et en flavonoïdes comparativement à l'extrait aqueux ce qui a été prouvé précédemment par **Pinelo et al (2005)** ; **Durling et al (2007)** ; **Cacace et Mazza (2003)** et **Al-Farsi (2008)**.

En amont de l'expérimentation *in vivo*, un test de toxicité des deux extraits aqueux et cétonique de noyaux de dattes à différents doses 300, 1000 et 2000 mg/kg a été effectué. Aucun changement de comportement ni mortalité n'a été observé au cours de la période de 14 jours. Ce qui signifie que nos extraits étudiés ne présentent aucun effet toxique.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est réalisée selon le modèle de l'inflammation induite par la carragénine. Cet agent phlogogène induit au niveau de la patte des souris un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés. Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation (développement de l'œdème dans l'heure qui suit l'injection, avec un effet maximal au bout de 6 heures) et également en raison de sa reproductibilité.

L'évolution du volume de l'œdème suite à l'injection de la carragénine évolue de manière temps dépendante. En effet l'injection de la carragénine induit une augmentation de synthèse de la cyclooxygénase 2 (COX-2) d'où une élévation de la concentration de cette enzyme avec un pic à partir d'une heure. Cette élévation est accompagnée par une augmentation de la synthèse des prostaglandines (PGs), essentiellement la prostaglandine E2 (PGE2) impliquée dans les processus de la douleur et de l'inflammation **Zhu et al. (2011)**.

Ceci explique l'effet tardif des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme le Diclofénac qui n'a pas un grand effet à 1heure. Ceci est en relation avec leur mode d'action qui passe par l'inhibition des PGs en inhibant les deux enzymes COX-1 et COX-2.

Le traitement anti-inflammatoire non stéroïdien « Diclofénac » considéré comme référence dans notre étude est utilisé pour comparer son effet avec les deux extraits aqueux et cétonique de noyaux de dattes à différentes doses (100 ,200 et 300mg/kg) chez les souris.

Les résultats obtenus une heure après l'injection de la carragénine montrent une augmentation remarquable du volume de la patte chez toutes les souris. Ceci affirme l'effet inflammatoire de la carragénine qui par conséquent engendre l'œdème. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Zhu et al. (2011)**.

Concernant les mesures de la patte des souris traitées avec les deux extraits aqueux et cétonique à 100, 200 et 300mg/kg, elles révèlent une diminution considérable du pourcentage d'augmentation (%AUG) par rapport aux souris témoins à partir de la deuxième heure suivant l'induction de l'inflammation jusqu'à six heures. Cette constatation nous permet de mettre en évidence l'effet thérapeutique de nos deux extraits étudiés.

Par ailleurs, on constate que la dose 100 mg/kg de l'extrait aqueux de noyaux de dattes entraîne un effet anti-inflammatoire assurant une réduction très significative de l'œdème comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac à partir de la deuxième heure jusqu'à la fin de l'expérimentation. Par contre la dose de 200 mg/kg induit une réponse positive d'inhibition de l'œdème qu'à partir de la 4^{ème} heure puis augmente à la sixième heure pour devenir hautement significative par rapport aux souris témoins. Cependant le traitement à 300mg/kg est plus actif et exprime une différence significative en comparaison aux souris standards à la deuxième heure puis à partir de la quatrième heure jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation. Ces observations prouvent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de noyau de datte exprime un effet-dose indépendant.

En ce qui concerne le traitement avec l'extrait cétonique, comparativement au Diclofénac le pourcentage d'inhibition du volume de la patte des souris démontre que les souris ont répondu positivement au traitement pour les trois doses 100, 200 et 300mg/kg d'une manière progressive. Ceci favorise la théorie de l'effet-dose dépendant.

Une simple comparaison entre le pourcentage d'inhibition du volume de la patte des souris durant les 6 heures d'expérimentation des deux extraits étudiés démontre une différence non négligeable du %INH chez les souris traitées avec l'extrait aqueux à 100mg/kg comparativement à l'extrait cétonique. Contrairement au traitement avec les doses de 200 et 300mg/kg qui semblent plus actives chez l'extrait cétonique par rapport à l'extrait aqueux à partir de la deuxième heure. La différence d'efficacité des doses entre les deux extraits aqueux

et cétonique pourrait s'expliquer par les affinités des substances bioactives présentes dans le noyau de dattes avec les solvants utilisés dans l'extraction.

L'évaluation des deux extraits aqueux et extraits cétoniques des noyaux de dattes par le modèle de l'œdème induit par la carragénine, a permis de mettre en évidence un traitement anti-inflammatoire intéressant. Des résultats similaires ont été obtenus par **Saryano et al (2018)** qui ont révélé le même pourcentage d'inhibition par le test anti-inflammatoire. Ces résultats pourraient être expliqués par l'analyse phytochimique qui a quantifiée une riche teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux ($183,35 \pm 10,80$ mgEAG/g) et l'extrait cétonique ($517,66 \pm 26,92$ mgEAG/g).

Aucune étude *in vivo* n'a été réalisée préalablement sur l'activité anti-inflammatoire des noyaux de dattes de la variété « Deglet noir ». Ceci permet de considérer nos résultats comme une éventuelle référence pour cette activité biologique.

Avant de discuter les résultats obtenus par l'étude histopathologique, il est nécessaire de comprendre le processus inflammatoire qui se déroule au niveau cellulaire et moléculaire. En effet, l'inflammation aiguë se traduit par trois phénomènes ;

- Une congestion active par une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement et consiste dans une vasodilatation capillaire il en résulte une augmentation de l'apport sanguin (hyperémie), les vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématie, bordés d'un endothélium turgescent cette congestion est déclenchée par un mécanisme nerveux (stimulation des nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques ;
- Un œdème inflammatoire qui se traduit par le passage du plasma du sang dans le tissu conjonctif interstitiel ou dans les cavités séreuses détermine la formation de l'exsudat inflammatoire sous l'effet de médiateurs chimiques produits par les mastocytes dont l'histamine ;
- Une diapédèse leucocytaire due à la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel, elle intéresse d'abord les polynucléaires, puis un peu plus tard les lymphocytes **Gonzalez et al. (2010)**.

Les résultats obtenus dans l'étude histologique montrent que l'injection de la carragénine induit une réaction inflammatoire aiguë très importante chez les souris du groupe témoin positif, qui se traduit par un tissu conjonctif clair représenté par l'œdème et accompagné

d'infiltrat leucocytaire avec congestion des capillaires. Ces résultats confirment ceux retrouvés par **Gonzaleztel-Callego et al. (2010)**.

Les aboutissements de l'histologie obtenus pour le groupe standard traité avec le médicament anti-inflammatoire non stéroïdiens qui est le Diclofénac correspondent à ceux rapportés par **Rahmani et al. (2012)** et montrent que le Diclofénac réduit à titre préventif l'œdème et prévient l'apparition de la congestion tissulaire, il diminue l'intensité de l'infiltrat et réduit la taille des follicules.

L'histopathologique de la patte des souris traitées avec les deux extraits aqueux et cétonique de noyau de dattes confirme les résultats rapportés ci-dessus concernant la diminution de l'œdème de la patte des souris. Effectivement, une phase de réparation semble apparaître pour les groupes traités avec nos extraits étudiés, qui se traduit par un bourgeon constitué de leucocytes du tissu de granulation et des néo-vaisseaux sanguins dont la croissance est dirigée vers la surface des lésions conduisant à un tissu sain dépourvu de toute altération inflammatoire.

L'effet antiinflammatoire des deux extraits aqueux et cétonique de noyau de dattes est probablement lié à la composition biochimique de noyaux en molécules bioactives telles que les composés phénoliques mis en évidence et quantifiés dans notre étude. Le choix du solvant joue également un rôle d'optimisation de l'effet antiinflammatoire de nos extraits étudiés.

CONCLUSION
ET
PRESCRIPTIVES

Le fruit dattier est considéré comme un aliment principal en raison de sa teneur élevée en polysaccharide. La poudre de noyaux de dattes est utilisée en médecine traditionnelle comme un remède pour traiter les maladies du foie, le diabète et les troubles gastro-intestinaux. Plusieurs travaux investiguent de nouvelles approches thérapeutiques de noyaux de datte. Ce qui fait partie de l'objectif principal de notre étude.

Des analyses morphologiques de certains aspects de noyaux de dattes ont été mesurées, tels que le poids, la couleur et les dimensions (longueur et largeur).

Quelques analyses phytochimiques ont été réalisées en amont de l'évaluation de l'activité biologique. Une mise en évidence de quelques métabolites secondaires a permis d'identifier les tanins, flavonoïdes, terpénoïdes, saponines et alcaloïdes contenus dans les deux extraits aqueux et cétoniques de noyau de dattes. Les résultats de la détermination des teneurs en composés phénoliques ont révélé que les deux extraits étudiés sont quantitativement riche phénols totaux, par contre leur concentration en flavonoïdes demeure relativement faible.

Un test de toxicité établie avec trois doses testées (300, 1000 et 2000 mg/kg) chez les souris durant 14 jours affirme que nos extraits étudiés sont dépourvus d'effet toxique.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux de noyaux de dattes ont démontré une diminution du pourcentage de l'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées à 100mg/kg à partir de la 2^{ème} heure après l'induction de l'inflammation comparativement aux souris témoins. Cette même dose possède un effet inhibiteur de l'inflammation supérieur à celui induit par le traitement antiinflammatoire « le Diclofénac », qui se traduit par une différence du %INH hautement significative à partir de la 2^{ème} heure de l'expérimentation.

Par ailleurs, les souris traitées avec l'extrait cétonique de noyaux de dattes, les valeurs du %AUG révèlent des différences hautement significatives pour les trois doses étudiées (100, 200 et 300mg/kg) à partir de la troisième heure en comparaison avec les souris témoins. Cependant le traitement avec la dose de 300mg/kg entraine une inhibition de l'œdème de la patte avec une différence significative à la 1^{ère} heure après l'injection de la carragénine par rapport aux souris traitées avec le Diclofénac. Cette différence évolue progressivement jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation.

D'après les résultats obtenus par les pourcentages d'augmentation et d'inhibition de l'œdème de la patte chez les souris, on constate que les extraits aqueux et cétonique de noyaux de datte possèdent

des propriétés antiinflammatoires, égales au diclofénac et pouvant même le dépasser parfois (selon la dose).

Dans ce présent travail, l'histopathologie appuie les résultats obtenus préalablement. En effet, l'analyse microscopique démontre une atténuation de l'inflammation avec restitution de la microcirculation (disparition de la dilatation des capillaires) ainsi que la résorption des infiltrats leucocytaires chez les souris traitées avec les extraits aqueux et cétonique comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac.

Notre étude nous a permis d'évoquer une éventuelle perspective de traitement prophylactique contre l'inflammation aigüe à base d'extrait aqueux et cétonique de noyau de dattes. Ces résultats néanmoins sont obtenus dans un cadre expérimentale *in vivo*.

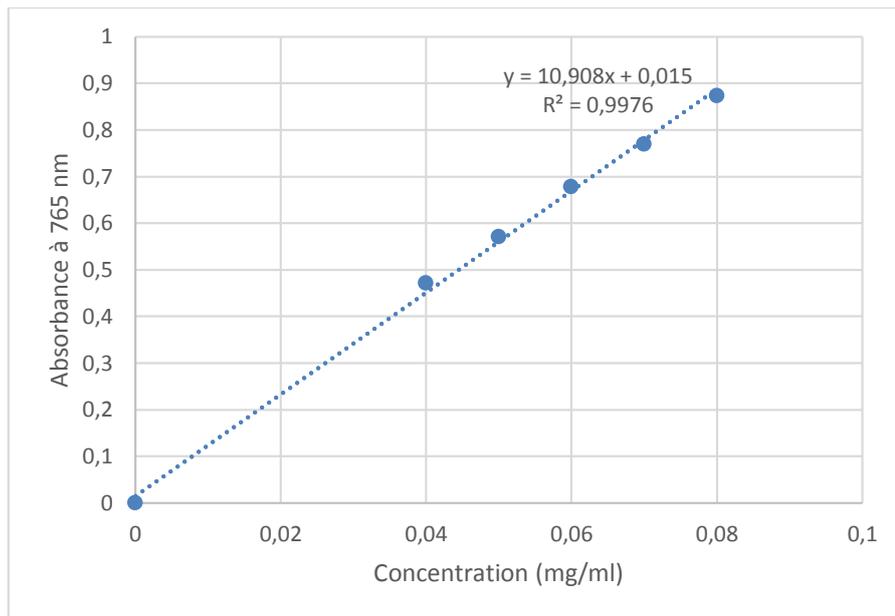
Afin d'approfondir nos recherches et d'établir de nouvelles approches thérapeutiques de noyau de dattes, il serait intéressant de proposer certaines perspectives telles que :

- Investigation par des examens complémentaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de l'action antiinflammatoire de noyau de dattes.
- Analyser, identifier et quantifier les composants de noyaux du fruit dattier par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)
- Isolement, identification et caractérisations des substances bioactives et l'évaluation de leurs effets sur les signalisations impliqués dans le processus inflammatoire.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des autres genres de dattes Algériennes.
- Déterminer des paramètres biologiques tels que : FNS, dosage de la CRP ou électrophorèse des protéines sériques.
- Etablir d'autres voies d'administration du traitement
- Tester des doses inférieure à celles étudiées dans notre recherche (< 100mg/kg)
- Confirmer nos résultats *in vivo* avec une étude *in vitro* de l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire.

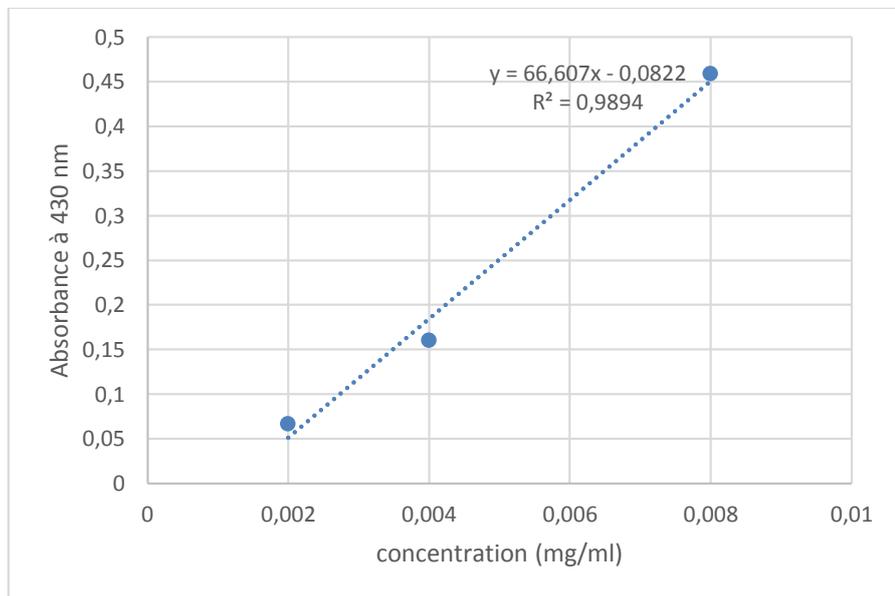
RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Annexe 01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 02 : Courbe d'étalonnage de quercétine



Annexe 03 : Composition de l'aliment (EPE Groupe Avicole de l'Ouest) : Céréales, tourteaux de soja, calcaire, phosphate, sel, acides aminés, oligo-éléments, polyvitamines antioxydant, anticoccidien, facteur de croissance (antibiotiques).

Annexe 04 : pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) chez les souris non traités (témoin positifs) et les souris traités par le Diclofénac (500mg/kg) et les trois doses 100,200et 300 mg/kg Poids corporel de l'extrait aqueux.

MOYENNE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Témoin	94,37± 20,34	89,33±12,72	81,39 ±15,62	68,35±17,78	61,46±15,54	34,04± 20,76
Standard	96,39±23,55	84,14±13,46	56,37 ±8,64	46,71±7,17	27,50± 3,28	10,79±2,30
E1D1	76,60±9,07	52,75±3,55	42,76 ±3,21	23,07±6,11	6,30 ± 5,27	1,81± 3,34
E1D2	103,48±22,72	79,59±22,57	59,30 ±24,87	32,80±10,69	14,75±11,02	0,95 ± 2,13
E1D3	86,14±17,11	66,06±14,69	51,79 ±16,64	29,56±14,81	13,46 ± 7,03	2,10 ±2,34

Annexe 05 : pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) chez les souris non traitées (témoin positifs) et les souris traitées par le Diclofénac (500mg/kg) et les trois doses 100,200et 300 mg/kg Poids corporel de l'extrait cétonique.

MOYENNE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
témoin	94,37± 20,34	89,33±12,72	81,39 ±15,62	68,35±17,78	61,46±15,54	34,04± 20,76
Standard	96,39 ±23,55	84,14±13,46	56,37 ±8,64	46,71±7,17	27,50 ± 3,28	10,79 ±2,30
E2D1	94,58 ±23,37	73,23±21,34	45,28 ±31,50	24,69±25,13	18,28 ±15,82	3,55 ± 7,21
E2D2	98,39 ±25,96	67,66±13,79	44,59 ±16,02	22,57±12,12	8,14 ± 9,60	1,83 ± 2,05
E2D3	96,53 ±21,57	63,03± 13,65	40,44±9,64	22,59±10,38	2,86 ± 2,57	0,55 ± 0,92

Annexe 06 : pourcentage de l'inhibition de l'œdème de la patte (%INH) des souris traitées par le Diclofénac (500 mg/kg) et les trois doses 100,200et 300 mg/kg Poids corporel de l'extrait aqueux.

MOYENNE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Standard	19,80±26,93	15,94± 8,16	30,75±10,62	31,65±10,49	55,25±5,33	68,31±6,77
E1D1	18,83± 9,61	40,96± 3,97	47,46±3,94	66,24±8,94	89,76±8,58	94,69±9,81
E1D2	20,35±	19,86±17,80	37,56±22,86	52,01±15,64	76,00±17,92	97,20±6,26
E1D3	16,12± 8,54	33,4±1,00	36,37±20,45	56,75±21,67	78,09±11,44	93,85±6,88

Annexe 07 : pourcentage de l'inhibition de l'œdème de la patte (%INH) des souris traitées par le Diclofénac (500mg/kg) et les trois doses 100,200et 300 mg/kg Poids corporel de l'extrait cétonique.

MOYENNE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Standard	19,80±26,93	15,94± 8,16	30,75±10,62	31,65±10,49	55,25±5,33	68,31±6,77
E2D1	10,83± 1,90	27,44±13,06	60,75±14,40	63,88±36,77	70,26±25,73	89,5±21,18
E2D2	13,23±1,76	24,26±15,44	45,21±19,68	66,98±17,74	86,76±15,62	94,63±6,02
E2D3	35,86±	29,45±15,28	50,32±11,84	66,95±15,19	95,34±4,19	98,37±2,69