



DEPARTEMENT DE BILOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenter par

M^{lle} HARRAT Zahira

M^{lle} BOUCHIBANE Cherifa

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Pharmaco-Toxicologie

THEME

**Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de
l'extrait Aqueux de *Cordyceps militaris*
« Etude expérimental chez les souris »**

Soutenance le 26 /06/2018

DEVANT LE JURY

Président

M^{me} MISSOUN .F

MCA U. Mostaganem

Encadreur

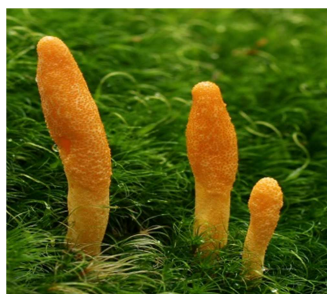
M^{me} AMARI.N

MCB U. Mostaganem

Examineur

M^{me} DOUCHEN .S

MCB U. Mostaganem



Année Universitaire : 2017/2018



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage de surmonter tous les problèmes.

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre promotrice M^{me} AMARI Nesrine, maître de conférence au département de biologie d'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordée, nous a permis de réaliser ce travail.

A M^{me} MISSOUN Fatiha, maître de conférence au département de biologie d'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, pour avoir accepté de présider le jury. Sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, nous vous prions de croire en notre éternel respect et nos sincères gratitude.

A M^{me} DOUICHENE Salima, maître de conférence au département de biologie d'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, pour nous avoir honoré d'examiner ce travail, nous vous sommes très reconnaissante de votre présence, et nous vous adresse nos vifs remerciements.

Le laboratoire de pharmacognosie et phytothérapie, de l'université de Mostaganem sous la direction du professeur DJEBLI Noureddine.

Le laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital militaire régional universitaire d'Oran.

Merci à tous

Dédicace

Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chères parentes, pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents pendant mes années d'études.

A toute ma famille, mes frères, mes sœurs, mes beaux-frères.

A M^{me} AMARI Nesrine qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

Enfin à toute personne qui m'ont encouragée ou aidée toute au long de mes études.

ZAHIRA

Dédicace

*En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la
Volonté, la Santé et le courage pour réaliser ce travail.*

Je dédie cette mémoire à ...

*Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à
mes chères*

*Parentes (**Ahmed et Mahdjouba**), pour leurs sacrifices et leurs
soutiens permanents*

*Pendant mes années d'études, A mes très chers frères **Lakhder,
Fethi et Said***

*A mes très chères sœurs **Saadia, Amina, Bakhta et Aicha***

*A tous les membres de la famille **Bouchibane**, petits et grands*

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection

*Je dédie aussi ce mémoire à tous mes amis (**Aicha, Halima et Naila**)*


*A ma chère collègue **Zahira***

*Je ne saurai terminer sans citer ma promotrice M^{me} **Amari***

Enfin à toute personne qui m'ont encouragée ou aidée toute au long de

Mes études.

CHERIFA



**TABLE DES
MATIERES**

Table des matières

| | |
|---|----|
| Introduction | 1 |
| 1^{ère} partie : Synthèse bibliographique | |
| Chapitre I. l'inflammation | |
| I. Généralité..... | 3 |
| I.1.La peau..... | 3 |
| I.2.Structure de la peau | 3 |
| I.2.1.L'épiderme..... | 4 |
| I.2.2.Le derme..... | 4 |
| I.2.3.L'hypoderme..... | 4 |
| II.L'INFLAMMATION..... | 5 |
| II.1.DEFINITION..... | 5 |
| II.2. LES FACTEURS DECLENCHANT L'INFLAMMATION..... | 5 |
| II.3. LES DIFFERENTS TYPES D'INFLAMMATION..... | 6 |
| II.3.1.L'inflammation aigue..... | 6 |
| II.3.1.1. Phase vasculaire..... | 6 |
| II.3.1.2. La phase cellulaire..... | 7 |
| II.3.1.3. La phase de résolution..... | 7 |
| II.3.2. L'inflammation chronique..... | 8 |
| II.4. CELLULES IMPLIQUEES DANS LA REACTION INFLAMMATOIRE..... | 9 |
| II. 4.1.Les lymphocytes..... | 10 |
| II.4.2. Les mastocytes et les polynucléaires basophiles..... | 10 |
| II.4.3. Les cellules phagocytaires et phagocytose..... | 10 |
| II.4.4. Les fibroblastes..... | 10 |
| II.5. LES MEDIEATEURS DE L'INFLAMMATION..... | 10 |
| II.6. LES ANTI-INFLAMMATOIRES (AI) | 13 |
| II.6.1. Les anti-inflammatoires d'origines médicamenteuses..... | 13 |
| II.6.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... | 13 |
| II.6.1.1.1. Définition | 13 |
| II.6.1.1.2. Classification des AINS | 13 |
| II.6. 1.1.3.MECANISME D'ACTION..... | 14 |
| II.6.1.2. Anti-inflammatoire steroïdiens(AIS)..... | 14 |
| II.6.1.2.1. Definition..... | 14 |
| II.6.1.2.2. Classification..... | 15 |
| II.6.1.2.3. Mecanisme d'action..... | 15 |
| II.7. ANTI-INFLAMMATOIRES D'ORIGINE VEGETALE..... | 15 |
| Chapitre II. La phytothérapie | |
| I.1. INTRODUCTION..... | 17 |
| I.2. PHYTOTHERAPIE..... | 17 |
| I.3. DIFFERENTS TYPES DE LA PHYTOTHERAPIE..... | 17 |

| | |
|--|----|
| I.4. METABOLITES SECONDAIRES..... | 18 |
| I.5. UTILISATION DES PLANTES MEDICINALES..... | 19 |
| I.5.1. Les formes galéniques..... | 19 |
| I.5.1.1. Tisanes..... | 20 |
| I.5.1.2. Gélules et les capsules..... | 20 |
| I.5.1. 3. Les comprimés..... | 20 |
| I.5.1. 4. Les pommades et les crèmes..... | 21 |
| II.5.1.5. Autres formes liquides..... | 21 |
| I. 6. QUELQUE CHAMPIGNON MEDICINAL UTILISE POUR LE TRAITEMENT DE LA MALADIE INFLAMMATOIRE..... | 21 |
| I. 6.1. <i>Cantharellus Cibarius</i> | 21 |
| I. 6.2. <i>Grifola Frondosa</i> | 22 |
| I. 6.3. <i>Pycnoporus Cinnabarinus</i> | 23 |

Chapitre III. *Cordyceps militaris*

| | |
|---|----|
| I.1. GENERALITES | 25 |
| I.2. Description..... | 25 |
| I.3. Classification..... | 26 |
| I.4. Biologie et écologie..... | 27 |
| I.6. Composition chimique de <i>Cordyceps militaris</i> | 29 |
| I.7. Substances biologiquement actives dans <i>Cordyceps militari</i> | 29 |
| I. 8. Fonctions médicinales de <i>Cordyceps militaris</i> | 31 |

2^{ème} Partie : Partie expérimentale

Chapitre I. Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| I. Matériels et méthodes..... | 33 |
| I.1. Matériels..... | 33 |
| I.1.1. Matériel biologique..... | 33 |
| I.1.2. Matériel végétal..... | 33 |
| I.2. Méthodes..... | 33 |
| I.2.1. Test de toxicité..... | 34 |
| I.2.1.1. Principe..... | 34 |
| I.2.2. L'Activité anti-inflammatoire..... | 34 |
| I.2.2.1. Protocole expérimental..... | 34 |
| I.2.1.1. Prétraitement par les extraits..... | 34 |
| I.2.2.1.2. Induction de l'inflammation..... | 34 |
| III.2.2.1.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire..... | 36 |
| I. 3. Etude histologique..... | 37 |

| | |
|--|----|
| I.3.1. Echantillons..... | 37 |
| I.3.2. Méthodes..... | 37 |
| I.3.2. 1. Fixation..... | 37 |
| I.3.2.2. Décalcification..... | 37 |
| I.3.2.3. Macroscopie..... | 37 |
| I.3.2.4. Circulation..... | 38 |
| I.3.2.5. Inclusion et enrobage..... | 38 |
| I.3.2.6. Coupe..... | 39 |
| I.3.2.7. Coloration..... | 39 |
| I.3.2.8. Montage..... | 40 |
| I.3.2.9. Lecture microscopique..... | 40 |
| Chapitre II. Résultats et Discussion | |
| I .Résultats..... | 41 |
| I.1. Test de toxicité aigüe | 41 |
| I.2. L'activité anti-inflammatoire..... | 41 |
| I.2.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte(%AUG)..... | 41 |
| I.2.1.1. Groupes témoins..... | 41 |
| I.2.1.2. Groupes standards..... | 42 |
| I.2.1.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (100mg/kg Pc)..... | 43 |
| I.2.1.4. Groupe traité par extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (200mg/kg PC)..... | 43 |
| I.2.1.5. Groupe traité par extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (300mg/kg Pc)..... | 44 |
| I.2.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)..... | 45 |
| I.2.2.1. Groupe standard | 45 |
| I.2.2.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (100mg/kg PC)..... | 45 |
| I.2.2.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (200mg/kg PC)..... | 46 |
| I.2.2.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> (300mg/kg PC)..... | 47 |
| I.2.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> à la dose de 100,200 et 300 mg/kg PC..... | 47 |
| I.3. Etude histologique | 48 |
| I.3.1. Le groupe témoin négatif | 48 |
| I.3.1. Groupe Témoin | 49 |
| I.3.2. Groupe standard..... | 50 |
| I.3.3. groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordycepsmilitaris</i> (100mg/kg de PC)..... | 50 |
| I.3.4. groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordycepsmilitaris</i> (200mg/kg de PC)..... | 51 |
| I.3.5. groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Cordycepsmilitaris</i> (300mg/kg de PC)..... | 52 |
| II. Discussion..... | 53 |
| Conclusion..... | 56 |
| Référence bibliographiques..... | 57 |
| Annexes | |



**LISTE DES
ABREVIATIONS**

-----Liste des abréviations-----

- **% AUG** : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte
- **% INH** : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte
- **AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- **AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens
- **GC** : Glucocorticoïdes
- **COX**: Cyclooxygénase
- **H1** : première heure d'expérimentation
- **H6** : sixième heure d'expérimentation
- **IL** : Interleukines
- **LB, LT**: Lymphocyte B, T
- **PC** : poids corporel
- **PMN** : Polynucléaires neutrophiles
- **Tx** : Les thromboxanes
- **PG** : Les prostaglandines
- **IM** : intra-musculaire
- **St** : standard
- **Té** : témoin
- **ml** : millilitre
- **g** : gramme
- **kg** : kilogramme
- **dm** : décimètre



LISTE DES FIGURES

Liste des figures

-----Liste des figures-----

| | |
|---|----|
| Figure1 : Structure de la peau | 03 |
| Figure2 : La phase vasculaire | 07 |
| Figure 3 : Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux | 08 |
| Figure 4 : Mécanisme d'action de l'anti inflammatoire non stéroïdien | 14 |
| Figure 5 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes | 15 |
| Figure 6 : <i>Cantharellus cibarius</i> | 22 |
| Figure 7 : <i>Grifola frondosa</i> | 23 |
| Figure 8 : <i>Pycnoporus cinnabarinu</i> | 24 |
| Figure 9 : Aspect morphologique de <i>Cordyceps militaris</i> | 26 |
| Figure 10 : <i>Cordyceps militaris</i> sur un insecte mort | 28 |
| Figure 11 : les structures des composés | 30 |
| Figure 12 : représente l'extrait de Sk gold | 33 |
| Figure 13 : injection sub-plantaire de la carragénine | 35 |
| Figure 14 : l'administration des extraits par voie oral | 35 |
| Figure 15 : Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital..... | 36 |
| Figure 16 : les étapes de la macroscopie | 37 |
| Figure17 : Appareil de circulation / déshydratation..... | 38 |
| Figure18 : appareil de coloration | 40 |
| Figure19 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin | 42 |
| Figure20 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standar | 42 |
| Figure 21 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de <i>C. militaris</i> (100mg/kg de PC) | 43 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 22: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de <i>C. militaris</i> (200mg/kg de PC) | 44 |
| Figure 23: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de <i>C. militaris</i> (300mg/kg de PC) | 44 |
| Figure 24 : Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris standard traitées par Diclofénac | 45 |
| Figure 25 : Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>C.militaris</i> (100mg/kg PC) | 46 |
| Figure 26: Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>C.militaris</i> (200mg/kg PC) | 46 |
| Figure 27 : Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>C.militaris</i> (300mg/kgPC) | 47 |
| Figure 28 : pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes droites des souris, induit après les traitements lors du test de l'activité antiœdémateuse de l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> | 48 |
| Figure 29 : présentant les tissus de la patte de souris témoin négative | 49 |
| Figure 30 : présentant les tissus enflammés de la patte de souris témoin | 49 |
| Figure 31 : Présentant un revêtement cutané enflammé de la patte des souris standard | 50 |
| Figure 32 : présentant un revêtement cutané de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> 100mg/kg | 51 |
| Figure 33: Présentant un revêtement cutané de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> 200mg/kg | 51 |
| Figure 34 : présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> 300mg/kg | 52 |



**LISTE DES
TABLEAUX**

-----*liste des tableaux*-----

| | |
|--|----|
| Tableau1: Effets des principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoires..... | 11 |
| Tableau2: champignons à activité anti-inflammatoires..... | 16 |
| Tableau3: Classification botanique de l'espèce étudiée <i>Cordyceps militaris</i> | 27 |
| Tableau4: la composition chimique de <i>Cordyceps militaris</i> | 29 |
| Tableau5: valeurs médicinales de <i>Cordyceps militaris</i> | 32 |
| Tableau7: Test de toxicité aux doses de 100, 200 et 300mg/Kg PC de l'extrait aqueux de <i>Cordyceps militaris</i> au cours des 24 heures..... | 41 |



**LISTE DES
PLANCHES**

-----**Liste des planche**-----

| | |
|--|----|
| Planche1: Méthode de l'inclusion..... | 39 |
| Planche2: Réalisation des coupes fines..... | 39 |
| Planche3: Technique de Montage..... | 40 |



RESUME

Résumé

Cordyceps militaris, est un champignon médicinal chinois, utilisée traditionnellement comme antimicrobiens, anti-inflammatoires, antioxydants, antiviellissement, immunomodulateurs ou anti tumoraux. La présente étude a pour objectif d'étudier les effets anti-inflammatoires de *Cordyceps militaris*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème aigue de la patte des souris induit par la carragénine. Le modèle a été testé par les extraits aqueux de *Cordyceps militaris*, aux doses 100, 200 et 300mg/kg en administration par voie orale. Le gavage a été réalisé une heure avant l'induction d'une inflammation aiguë avec de la carragénine à 1%. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de Diclofénac et à ceux du contrôle physiologique. Après administration *per os* de l'eau physiologique, la carragénine entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris de $54,16 \pm 2,35\%$; $44,60 \pm 3,95\%$ et $32,15 \pm 3,70\%$ respectivement à 1h, 3h et 6h. L'administration de Diclofénac (50mg/kg, *per os*) prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris qui est de $52,14 \pm 4,40\%$; $8,61 \pm 1,73\%$ et $0,34 \pm 0,42\%$ respectivement à 1h, 3h et 6h après administration de la carragénine. L'administration *per os* de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100mg/kg prévient de façon significative l'œdème aigue de la patte des souris au bout de 1h, 3h et 6h ; les pourcentages d'augmentation du volume de la patte sont respectivement de $45,62 \pm 3,22\%$; $5,38 \pm 2,25\%$ et $0,34 \pm 0,85\%$, à la dose de 200mg/kg $37,88 \pm 2,87\%$; $3,13 \pm 1,80\%$ et $0,17 \pm 0,42\%$. Des résultats analogues ont été obtenus avec la dose de 300mg/kg. Les résultats de cette étude mettent en évidence les bases pharmacologiques de *Cordyceps militaris* en médecine traditionnelle pour prévenir les processus inflammatoires.

Mots clés : *Cordyceps militaris*, extrait aqueux, l'œdème.

Abstract

Cordyceps militaris, is a Chinese medicinal mushroom, traditionally used as antimicrobials, anti-inflammatories, antioxidants, anti-aging, immunomodulators and anti-tumors. The present study aims to study the anti-inflammatory effects of *Cordyceps militaris*. The experiments were carried out on the model of acute edema of the paw of mice induced by carrageenan. On this model we tested the aqueous extracts of *Cordyceps militaris* at doses of 100, 200 and 300mg/kg administered orally. Gavage was performed one hour before induction of acute inflammation with 1% carrageenan. In the other hand, the results obtained were compared with those of Diclofenac and those of physiological control. After oral administration of physiological saline, carrageenan significantly increases mice paw volume by $54.16 \pm 2.35\%$; $44.60 \pm 3.95\%$ and $32.15 \pm 3.70\%$ respectively at 1h, 3h and 6h. Administration of Diclofenac (50mg/kg, oral) significantly prevents the increase in mice paw volume of $52.14 \pm 4.40\%$; $8.61 \pm 1.73\%$ and $0.34 \pm 0.42\%$ respectively at 1h, 3h and 6h after administration of carrageenan. Oral administration of the aqueous extract of *Cordyceps militaris* at a dose of 100mg / kg significantly prevents acute paw edema of the mice after 1 h, 3h and 6h; the percentages of increase in the volume of the paw are respectively $45.62 \pm 3.22\%$; $5.38 \pm 2.25\%$ and $0.34 \pm 0.85\%$, at a dose of 200mg/kg $37.88 \pm 2.87\%$; $3.13 \pm 1.80\%$ and $0.17 \pm 0.42\%$. Similar results were obtained with the dose of 300mg/kg. The results of our study highlight the pharmacological basis of *Cordyceps militaris* in traditional medicine to prevent inflammatory processes.

Key words: *Cordyceps militaris*, anti-inflammatory, edema, aqueous extract.

ملخص

Cordyceps militaris هو فطر طبي صيني، ويستخدم تقليديا كمضاد للميكروبات، ومضاد للالتهابات، ومضاد للأكسدة، ومكافحة الشيخوخة، و مضاد للورم أو المناعية، وتهدف هذه الدراسة إلى التعرف على التأثيرات المضادة للالتهابات. أجريت التجارب على نموذج وذمة حادة من مخلب الفئران الناتج عن الكاراجينين. اختبرنا هذه المستخلصات المائية نموذجية ، بجرعات من 100, 200 و 300 ملغ / كغ عن طريق الفم. تم اعطاء المحلول قبل ساعة من تحريض الالتهاب الحاد مع 1 % من الكراجينين وتمت مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع ديكلوفيناك المحلول الفيزيولوجي. بعد تناوله عن طريق الفم ، يزيد الكراجينين بشكل كبير من حجم مخلب الفار بنسبة 54.16 ± 2.35 % ؛ 44.60 ± 3.95 % و 32.15 ± 3.70 % على التوالي في الساعة 1:00 و 3سا و 6سا . اعطاء ديكلوفيناك 50 ملغ / كغ حسب وزن الجسم منعت كثيرا من الزيادة في حجم مخلب الفئران وهو 52.14 ± 4.40 %، 8.61 ± 1.73 % و 0.42 ± 0.34 % على التوالي في الساعة 1 و 3 ساعات و 6 ساعات بعد إعطاء الكراجينين. تناوله عن طريق الفم من المستخلص المائي *cordyceps militaris* بجرعة 100 مغ / كغ حسب وزن الجسم منعت كثيرا من تورم حاد في مخلب الفار بعد 1سا، 3سا و6سا النسب المئوية للزيادة في حجم مخلب على التوالي 45.62 ± 3.22 %، 5.38 ± 2.25 % و 0.34 ± 0.85 % ، بجرعة 200 مغ / كغ 37.88 ± 2.87 % ؛ 3.13 ± 1.80 % و 0.17 ± 0.42 % . تم الحصول على نتائج مماثلة بجرعة 300 مغ / كغ. نتائج دراستنا تسليط الضوء على الأساس الدوائي *cordyceps militaris* في الطب التقليدي لمنع العمليات الالتهابية.

الكلمات المفتاحية: مستخلص مائي , *Cordyceps militaris* , نشاط مضاد للالتهاب, وذمة.



PREMIERE PARTIE
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE



INTRODUCTION

Introduction

La réponse inflammatoire est un processus habituellement bénéfique, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste, du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalies quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (**Weill et al., 2003; Medzhitov, 2010**).

Après une domination de la synthèse chimique un regain d'intérêt a été remarqué dans la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008, 80% de la population mondiale se repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires (**Pierangeli et al., 2009**).

Les composés médicinaux d'origine naturelle suscitent des intérêts pour plusieurs raisons, elles permettent de nous maintenir en meilleure santé. Un grand nombre de sociétés humaines vivent dans des régions richement dotées en biodiversité. Au cours de leur histoire, ces sociétés ont élaborées des modes de vie entretenant d'étroits rapports avec la nature. (**Wang, 1987**).

La Chine apparaît en évidence très tôt et ultérieurement dans les registres historiques des champignons sauvages. Les chinois ont pendant des siècles appréciés de nombreuses espèces, non seulement pour l'alimentation et le goût, mais aussi pour leurs propriétés médicinales. Ces valeurs et traditions sont encore fortement d'actualité aujourd'hui et sont confirmées par l'éventail varié de champignons sauvages récoltée dans les forêts et dans les champs et largement commercialisés (**Wang, 1987**). *Cordyceps militaris*, champignon qui parasite les larves et les pupes d'insectes lépidoptères et peut être trouvé dans le monde entier (**Sung et al., 2007**). *C. militaris* a été utilisé comme aliments de santé et à des fins médicinales en Chine pour des centaines d'années. En 2009, Le ministère de la Santé de la République populaire de Chine a nommé *C. militaris* une ressource alimentaire officielle.

Une étude bibliographique, réalisée sur cette espèce, a montré que l'on ne dispose que de peu d'informations de nature biologique. Pour pallier ce manque d'informations, l'étude s'est focalisée sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* par le modèle d'inflammation aiguë, chez la souris.

Les principales parties de ce travail se résument comme suit :

* La première a été essentiellement consacrée aux données bibliographiques.

* La deuxième partie traite la section expérimentale et les résultats obtenus à partir de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris*, ainsi, leurs interprétations, suivie de discussion.

Ce travail a été complété par une conclusion donnant une synthèse des résultats obtenus, suivis des perspectives devant faire l'objet de travaux programmés.



CHAPITRE I
L'INFLAMMATION

I. Généralité

I.1. la peau

La peau est un organe complexe, qui participe au maintien de l'homéostasie interne et est donc indispensable à la vie terrestre. Sa fonction essentielle est celle de barrière. Elle est assurée en majeure partie par l'épiderme, et regroupe en réalité plusieurs sortes de barrières, qu'elles soient chimique, biochimique, immunitaire, physique ou encore hydrique. La peau a d'autres rôles importants, comme le toucher, la production des annexes et la thermorégulation (Beckrich, 2012).

I.2. Structure de la peau

La peau est l'organe le plus important du corps, elle représente 12% du poids corporel d'un chien adulte et son épaisseur varie de 0,5 à 5mm. Des points de vue histologique et anatomique, la peau comprend trois parties principales: l'épiderme, partie la plus superficielle et la plus mince, le derme, partie la plus épaisse, et l'hypoderme, couche la plus profonde (Fig.1). L'ensemble de la peau et de ses phanères (ongles, poils) se nomme le tégument (Beckrich, 2012).

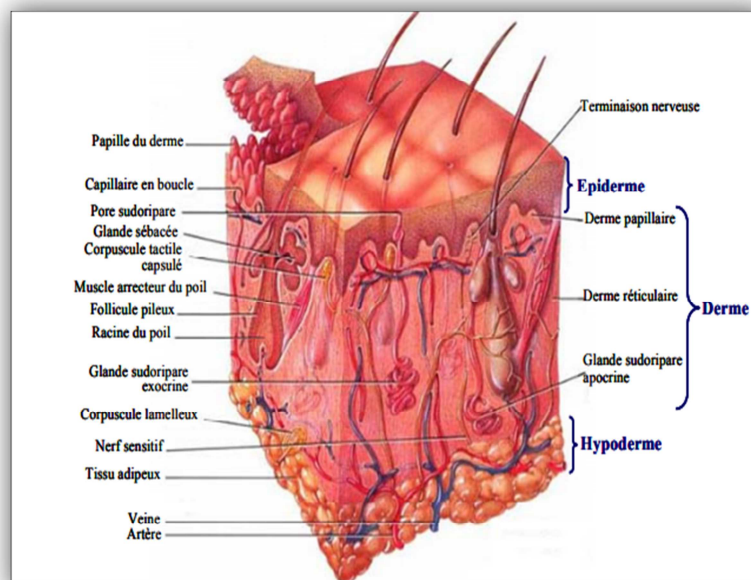


Figure1: Structure de la peau (Beckrich, 2012).

I.2.1.L'épiderme

L'épiderme mesure, suivant les zones de l'organisme, de 1 à 4 millimètres. Il est le plus fin au niveau des paupières où il mesure environ 0,1 millimètre, il est plus épais au niveau des paumes et plantes de pieds où là, il peut atteindre 1 millimètre. Le derme est 20 fois plus épais, il est le plus épais au niveau du dos où il peut atteindre 3 à 4 millimètres. Il est en constant renouvellement. C'est un épithélium stratifié pavimenteux orthokératosique. Les kératinocytes représentent 80% des cellules de l'épiderme et ont un rôle fondamental comme barrière cutanée. La restitution ad integrum de cette barrière cutanée est un des objectifs des traitements esthétiques. En effet, son rôle protecteur assuré par la couche cornée est la résultante de modifications biochimiques, métaboliques et immunologiques qui se font au niveau du kératinocytes tout au long de sa migration de la couche basale jusqu'à sa desquamation finale. Des études récentes soulèvent l'hypothèse que le stratum corneum assurerait un rôle régulateur de la prolifération et différenciation épidermique (**Dainichi et al., 2008**).

I.2.2.Le derme

Véritable charpente de la peau, il est constitué de cellules fixes que sont les fibroblastes et de cellules mobiles que sont les cellules sanguines. À ces cellules s'associent des fibres de collagène, d'élastine et de réticuline. La cohésion de l'ensemble est assurée par la substance fondamentale constituée essentiellement de muco polysaccharides et parmi eux l'acide hyaluronique identifiée par le bleu de toluidine. Au sein du derme se trouvent les vaisseaux qui s'arrêtent à la couche basale de l'épiderme, ce dernier ne contenant pas de vaisseaux, ce qui est important à savoir (**Won-Serk et al., 2009**).

I.2.3.L'hypoderme

Couche la plus profonde de la peau, elle constitue la graisse plus ou moins épaisse selon les individus, elle est contenue dans des lobules séparés les uns des autres par des fibres identiques à celles du derme, ces fibres assurant à la fois la nutrition et la tenue de l'hypoderme. Cette couche hypodermique a essentiellement une fonction d'amortisseur des chocs et de protection du froid par isolation. C'est la cible des fillers. Les cellules souches dérivées des cellules adipeuses apparaissent une cible de plus en plus intéressante pour le traitement du vieillissement cutané mais aussi d'autres pathologies du fait notamment de la production de facteurs de croissance comme le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF),

l'Insulin-Like Growth Factor (IGF), Hepatocyte Growth Factor (HGF), et le Transforming Growth Factorbeta1 (TGF- β 1). Elles auraient notamment un effet anti radicalaire, stimulant de la synthèse et de la migration des fibroblastes (**Won-Serk et al., 2009**).

II. L'inflammation

II.1.Définition

L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme en réponse à une agression d'origine exogène (brûlure, infection, allergie, traumatisme) ou endogène (cellules cancéreuses ou pathologies auto-immunes), dont le but d'éliminer l'agent pathogène, réparer les lésions tissulaires et favoriser le retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Ryan et Majno, 1977; Iwalewa et al., 2007; Barton, 2008**).

Les signes cliniques de ce processus sont : chaleur, rougeur, gonflement et douleur, de plus, une altération du fonctionnement de l'organe touché peut survenir. Au niveau tissulaire, la réponse inflammatoire se caractérise par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'augmentation de la dénaturation de protéines et l'altération de membranes cellulaires (**Scott et al., 2004; V Stankov, 2012**). Cette réponse, dénommée inflammation aiguë, est un phénomène bénéfique pour l'organisme. Ainsi, non contrôlée, l'inflammation persistante devient défavorable et peut être un facteur étiologique de diverses maladies chroniques comme l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, le cancer et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Weill et al., 2003; Medzhitov, 2010**).

II.2.Les facteurs déclenchant l'inflammation

Les facteurs qui déclenchent les phénomènes inflammatoires peuvent être très diverses: les éléments physiques comme la chaleur (brûlure), le froid (gelure), les rayonnements ionisants qui vont entraîner des lésions tissulaires et la libération des produits de dégradation comme le collagène, les éléments solides microbiens exogènes ou endogènes, un dard des insectes ou des microcristaux (cristaux d'urate), des produits chimiques (toxines), produits de dégradation tissulaire des composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines) (**Weill et Bteux, 2003**).

II.3. Les différents types d'inflammation

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

- L'inflammation aigue.
- L'inflammation chronique.

II.3.1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Barnes Peter J, 1998; Nicolas J et al., 2001; Nourshargh S et al., 2006; Han T et al., 2007**).

Les processus de dilatation capillaire (rougeur), d'exsudation des protéines plasmatique et aussi de liquide (œdème) due à des modifications de la pression hydrostatique et de la pression osmotique, l'accumulation des neutrophiles, sont collectivement appelés réponse inflammatoire aigue (**Roitt et Rabson, 2002**). L'inflammation aigue peut être divisée en 3 grandes phases :

- Une phase vasculaire.
- Une phase cellulaire.
- Une phase de résolution et de cicatrisation.

II.3.1.1. La phase vasculaire

C'est une phase immédiate, de l'ordre de la minute. Caractérisé par des modifications de la microcirculation locale. La vasodilatation est due à une action sur les artérioles en amont du réseau capillaire. Cela conduit, localement, à une diminution de la vitesse du sang et à une augmentation de son volume (hyperémie). Ce phénomène est couplé à une augmentation de la perméabilité vasculaire facilitée par l'ouverture réversible des jonctions serrées entre cellules endothéliales (**Espinosa et Chillet, 2010**). Elle implique la fuite de liquide proche du plasma appelé exsudat du sang vers les tissus (**Fig.2**). De plus l'afflux massif de sang dans les capillaires provoque une augmentation de la pression hydrostatique. Ces phénomènes aboutissent à une fuite d'eau et de molécules vers les tissus : Il y a formation d'un œdème (**Espinosa et Chillet, 2006**).

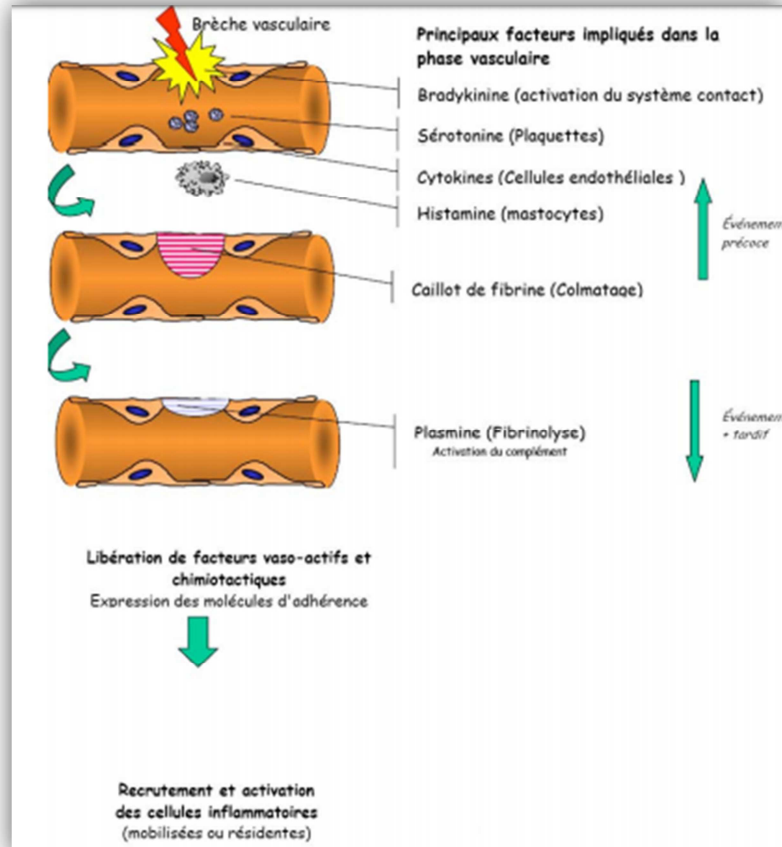


Figure 2 : La phase vasculaire (Prin et al., 2009).

II.3.1.2. la phase cellulaire

La migration extra vasculaire (diapédèse) des leucocytes et la libération de cytokines sont à l'origine de l'activation cellulaire et de la libération de médiateurs. Dès lors une succession d'évènements au sein de la lésion inflammatoire entraîne : la phagocytose d'agents extérieurs, la captation et la présentation d'antigènes, la production de radicaux libres. Les cytokines en outre agissent au niveau systémique pour augmenter la défense de l'hôte sous forme de fièvre (Kidd et Urban, 2001).

II.3.1.3. Phase de résolution

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire (Fig.3). Le retour à un état

physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).

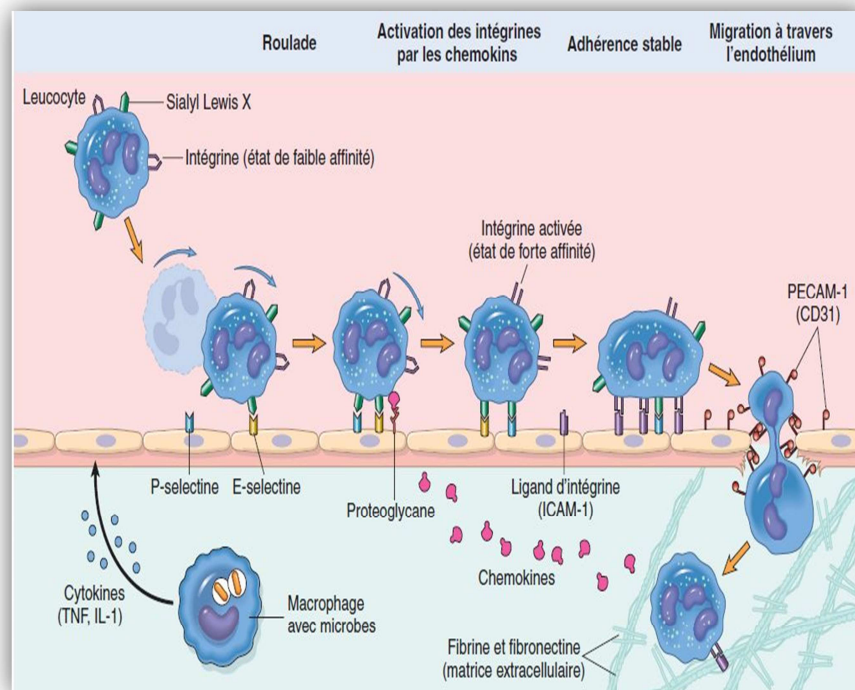


Figure3: Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

II.3.2.L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est caractérisée par la persistance de la lésion tissulaire, due en général aux cellules inflammatoires de l'infiltrat, la présence d'un infiltrat inflammatoire chronique et l'existence d'une fibrose (Stevens *et al.*, 2004).

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse

inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la béryllose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (**Charles et al., 2010**). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (**Nourshargh et al., 2006; Charles et al., 2010**).

L'inflammation chronique est divisée en trois types :

- L'inflammation chronique non spécifique : Elle fait suite à une inflammation aigüe non guéri.
- L'inflammation chronique spécifique (primaire) : Elle survient d'emblée en réponse à certains types d'agressions.
- L'inflammation granulomateuse: C'est un sous-type d'inflammation chronique spécifique caractérisé par la présence de granulomes (**Stevens et al., 2004**).

II.4. Cellules impliquée dans la réaction inflammatoire

Les cellules de l'inflammation comprennent :

- les lymphocytes,
- les cellules phagocytaires (polynucléaires - neutrophiles et monocytes macrophages),
- les mastocytes et les polynucléaires basophiles,
- les fibroblastes.

II.4.1. Les Lymphocytes

Les lymphocytes, cellules de l'immunité spécifique, humorale et cellulaire, sont de type B(CD20), T(CD3) ou ni B ni T (NK pour natural killer) Parmi les lymphocytes T, certains sont dits auxiliaires « helper » (CD4), d'autres, cytotoxiques (CD8). Ces lymphocytes sont la mémoire de l'immunité acquise et servent à son expression : les plasmocytes, par exemple, étape finale de la maturation de la lignée B, sécrètent les anticorps. Les lymphocytes T sécrètent des cytokines. Les lymphocytes NK peuvent avoir une action cytotoxique (Medzhitov, 2008).

II.4.2. Les Mastocytes et les polynucléaires basophiles

Les mastocytes et les polynucléaires basophiles comportent des granulations qui contiennent des médiateurs chimiques de l'inflammation, en particulier l'histamine et l'héparine (Charles *et al.*, 2010).

II.4.3. Les Cellules phagocytaires et phagocytose

Les cellules phagocytaires ou phagocytes comprennent les polynucléaires neutrophiles et les cellules du système monocyte-macrophage (incluant les histiocytes résidents, c'est à dire les macrophages des tissus comme les cellules alvéolaires du poumon ou les cellules de Küpffer du foie (Medzhitov, 2008).

II.4.4. Les fibroblastes

Ce sont les cellules qui produisent le collagène ; elles jouent un rôle important dans la cicatrisation (Medzhitov, 2008).

II.5. Les médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire est contrôlée par de nombreux médiateurs chimiques, pro ou anti-inflammatoires, qui peuvent être des substances protéiques plasmatiques, présentes dans le sang circulant, ou proviennent de cellules telles que les mastocytes, les thrombocytes, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages (Henrotin *et al.*, 2001; Iwalewa *et al.*, 2007). Les rôles de ces médiateurs sont résumés dans le **tableau (1)**.

Tableau 1: Effets des principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoires.

| Médiateurs de l'inflammation | Rôles dans le processus inflammatoire | Références |
|--|--|---|
| Histamine | Augmente la perméabilité vasculaire, permet la contraction des muscles lisses, provoque la sensation de douleur. | (Ryan et Majno, 1977; Mayol et al., 2013). |
| TNF-α et IL-1β | Stimulent l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales favorisant ainsi la migration des leucocytes vers le site enflammé, stimulent la libération des chimiokines, stimulent l'activation de la phospholipase A2, activent la production intracellulaire d'espèces réactives d'oxygène, stimulent l'expression des MMPs. | (Levy et Kelly, 1993; Koechlin Ramonatxo, 2006). |
| IL-6 | Induit localement l'activation des phagocytes, favorise le recrutement des monocytes sanguins vers les tissus enflammés, induit la production de protéine de la phase aigüe (protéine Créactive). | (Ostrowski et al., 1999; Mayol et al., 2013). |
| IL-8 | Possède des propriétés chimioattractantes pour les neutrophiles, les monocytes et les macrophages, favorisant leur diapédèse, induit la libération d'enzymes lysosomiales, d'oxydant et de médiateurs lipidiques. | (Henrotin et al., 2001; Mayol et al., 2013). |
| Prostaglandines | Inhibent la synthèse de cytokines activatrices des lymphocytes, puissants vasodilatateurs, participent à la formation de l'œdème et sont responsables de la douleur. | (Henrotin et al., 2001; Iwalewa et al., 2007). |

Tableau 1 (suite): Effets des principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoires.

| Médiateurs de l'inflammation | Rôles dans le processus inflammatoire | Références |
|-------------------------------------|---|---|
| Leucotriènes | Augmentent la perméabilité vasculaire, participent à la formation de l'œdème, possèdent des propriétés chimiotactiques, stimule la production de l'IL-2, de l'IFN- γ et de l'IL-4 par les lymphocytes T. | (Henrotin et al., 2001). |
| Substance P | Stimule la prolifération des lymphocytes et la production d'immunoglobulines, favorise la sécrétion des cytokines de l'inflammation, libération des radicaux oxygénés, les dérivés de l'acide arachidonique et de l'histamine, stimule le chimiotactisme. | (Henrotin et al., 2001 ; O'Connor et al., 2004). |
| Métalloprotéases | Modifient la matrice extracellulaire en dégradant ses composants, facilitent la migration des cellules immunitaires vers le site inflammatoire. | (Manicone et McGuire, 2008; Mayol et al., 2013). |
| IL-4, IL-10 et IL-12 | Inhibent la libération de TNF- α et d'IL-1 β , réduisent le nombre des polymorphonucléaires dans le tissu enflammé, stimulent la libération du TGF- β 1. | (Marsolais et Frenette, 2005; Charles, 2010). |

D'une autre part l'inflammation est considérée comme une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées, au cours de la phagocytose. Ces cellules, dont les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages, possèdent des granules à protéases qui dégradent le matériel phagocyté, mais qui vont produire beaucoup d'espèces oxygénées, via le système NADPH-oxydase, enzyme membranaire capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes (O_2^-) qui, rapidement se transforme par dismutation en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier peut diffuser dans le milieu extracellulaire, où il est impliqué

dans une cascade de réactions chimiques conduisant à la formation d'autres espèces oxygénées très oxydantes, l'oxygène singulet ($1O_2$) et le radical hydroxyle (OH) (**Henrotin et al., 2001; Koechlin Ramonatxo, 2006; Barton, 2008**).

L'inflammation accélère la production d'espèces oxygénées et diminue la capacité de défense antioxydant, favorisant l'apparition d'un stress oxydant, un facteur important dans le développement des maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et cancer (**Auddy et al., 2003; Koechlin Ramonatxo, 2006**). Ainsi, le stress oxydant peut produire ou entretenir un processus inflammatoire, il inactive les antis protéases, et à l'inverse active les métallo protéases, favorisant une protéolyse et destruction cellulaire non contrôlée. De plus, l'activation du facteur de transcription NF- κ B stimule la transcription des facteurs pro inflammatoires, à l'origine de la libération de nombreux médiateurs de l'inflammation (**Koechlin Ramonatxo, 2006**).

II.6. Les anti-inflammatoires (AI)

II.6.1. Les anti-inflammatoires d'origines médicamenteuses

II.6.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

II.6.1.1.1. Définition

Sont des médicaments dépourvus de noyau stéroïde, ayant une action anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont comme principal mode d'action l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (PG) par inhibition d'une enzyme: la cyclo-oxygénase (COX) (**Chiolero et al., 2000**).

II.6.1.1.2. 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 là :

- Groupe 1 correspond aux inhibiteurs sélectifs de la COX⁻¹. C'est le cas de l'aspirine à faible doses (100 à 300mg), à visée antiagrégant plaquettaire.
- Groupe 2 est celui des inhibiteurs non spécifiques de la COX, représenté par les AINS classiques (**Blain et al., 2000**).

- Groupe 3 renferme les inhibiteurs préférentiels de la COX⁻², représentés par le méloxicam et le nimésulide. Cette propriété antiCOX⁻² est 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).

II.6.1.1.3.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 (Fig.4). Ce dernier est métabolisé en prostaglandines et thromboxane A2 (TXA2) grâce à une enzyme, la cyclo-oxygénase ou COX (Blain *et al.*, 2000).

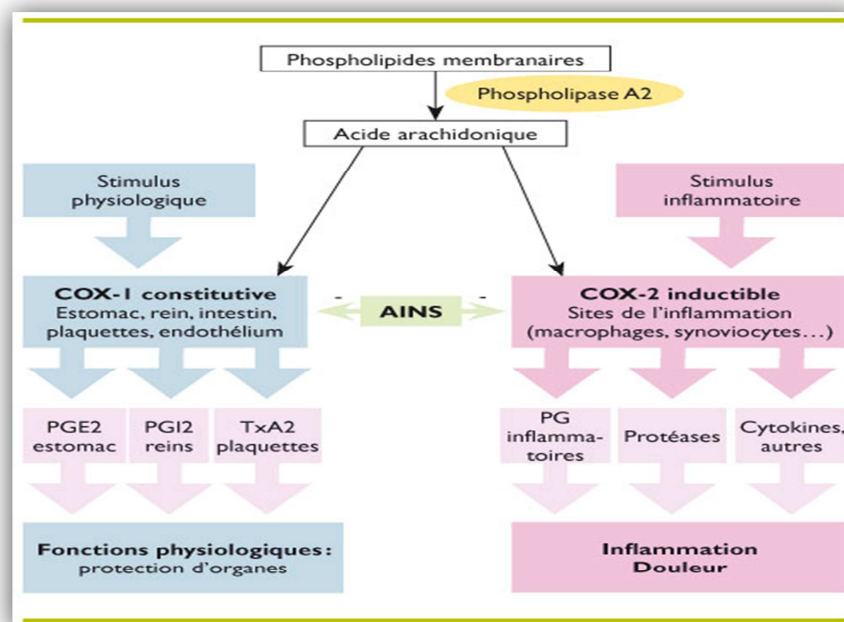


Figure 4: Mécanisme d'action de l'anti inflammatoire non stéroïdien (Hilda *et al.*, 2010).

II.6.1.2.Anti inflammatoire stéroïdiens (AIS)

II.6.1.2.1.Définition

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes sont des produits pharmaceutiques qui traitent les inflammations. L'anti -inflammatoire stéroïdien constitue une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (Faure, 2009).

II.6.1.2.2. 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).

II.6.1.2.3. 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 (Fig.5). 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).

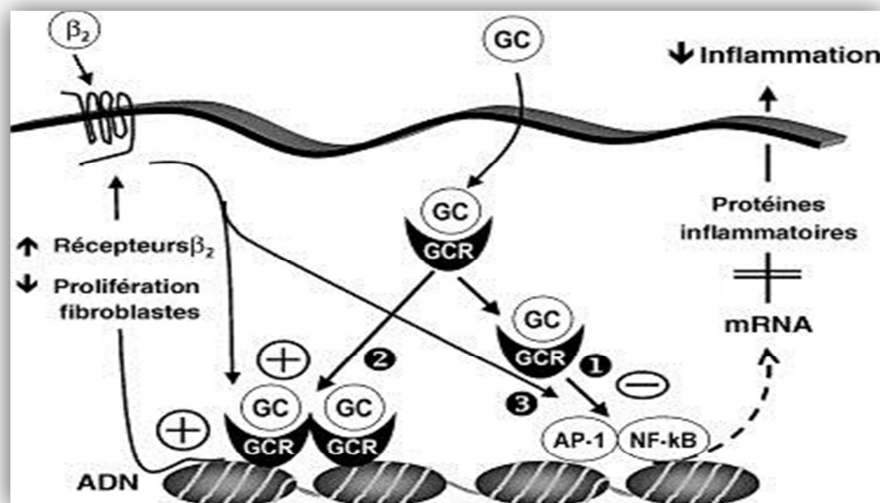


Figure5: Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

II.7. Anti-inflammatoires d'origine végétale

L'incorporation et l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de plusieurs réactions inflammatoires, en particulier le rhumatisme, sont des pratiques communes dans la médecine traditionnelle. Aujourd'hui c'est un fait remarquable que les substances anti-inflammatoires d'origine végétale présentent un intérêt grandissant car elles offrent des

avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, comme par exemple l'inexistence des effets secondaires (Al-Sobarry, 2012). Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénases et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (Ferradji, 2010). Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau (2).

Tableau 2: champignons à activité anti-inflammatoires.

| Champignons | Lieux géographiques | Activités | Références |
|---|--------------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| <i>Agaricus campestris</i> Rosé des prés | Inde | Anti-inflammatoire | (Gogate, 1972). |
| <i>Inonotus obliquus</i> Tchaga | Russie | Anti-inflammatoire | (Vaidya et Rabba, 1993). |
| <i>Langermannia gigantea</i> Vesse de loup géante | Indonésie | Anti-inflammatoire et Anti-œdémateux | (Vaidya et Rabba, 1993). |
| <i>Phellinus tuberculosus</i> Phellin | Angleterre (West Sussex) | Anti-inflammatoire et Anti-œdémateux | (Ramsbottom, 1923). |
| <i>Wolfiporia cocos</i> | Chine | Anti-inflammatoire et Anti-œdémateux | (Wong, 1976). |



CHAPITRE II
LA PHYTOTHERAPIE

I.1.Introduction

La Phytothérapie est une science à la fois ancestrale et moderne. Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces principes actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. Au niveau mondial, la phytothérapie est considérée comme la ressource essentielle de l'humanité pour traiter et guérir la maladie.

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, telles que les maladies inflammatoires (**Chevallier, 2007**).

I.2.Phytothérapie

Ce mot vient du grec *phuton* qui signifie « plante » et *therapeia* qui signifie « traitement ». C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction puis isolés des plantes. Ainsi de nombreuses formes galéniques peuvent être utilisées comme tisanes (infusées, décoctées, macérées), extraits, teintures, ou des huiles essentielles (**Catier et Roux, 2007**).

Toutes plantes contenant une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles, sont considérées comme plantes médicinales (**Sofowora, 2010**).

Cette consommation de plantes par l'être humain s'exerce schématiquement selon deux axes: une vision holistique qui s'intéresse aux effets des plantes sur l'individu dans sa globalité et qui correspond plutôt à l'herboristerie et une vision plus scientifique centrée sur l'analyse des actions de plantes sur les symptômes des maladies et la recherche des molécules actives (**Debas et al., 2006**).

I.3.Différents types de la phytothérapie

- **Aromathérapie:** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

- **Gemmothérapie:** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radiceles.
- **Herboristerie:** correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.
- **Homéopathie:** a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **Phytothérapie pharmaceutique:** utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (**Strang, 2006**).

Le règne végétal constitue une source inépuisable de nouvelles molécules utilisables directement comme principe actif ou pouvant servir comme molécule guide pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

L'intérêt pour les plantes médicinales comme nouvelles sources de médicaments pour de nombreuses pathologies est en hausse continue grâce à leurs métabolites secondaires (**Hans, 2007**).

I.4.Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd et al., 2002; Yarnell, 2007**). Ils ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques, microorganismes pathogènes...etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier

lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre (**Quezel et Santa, 1963; Collin, 2007**).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires qui ont de nombreuses applications pharmaceutiques (**Hartmann, 2007**).

I.5.Utilisation des plantes médicinales

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation. De plus en plus les plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. Signalons également que de nombreuses plantes s'emploient uniquement en homéopathie. C'est par exemple le cas de la souche *Arum triphyllum* provenant de l'Arum à trois feuilles, ou Navet indien, appartenant à la famille des *Araceae*. Elle est utilisée en dilution dans le traitement des affections respiratoires et du surmenage de la voix. De plus, les plantes médicinales sont aussi utilisées dans la thérapeutique vétérinaire. Citons comme exemple le Serpolet (*Thymus serpyllum* L.) qui est utilisé comme antiseptique, ou contre les entérites et les parasitoses des volailles (**Bézanger et al., 1986**).

Les gélules et comprimés sont obtenus à partir de poudres de plantes. La composition et la teneur en principe actif peuvent être standardisées. Ces formes galéniques sont faciles à administrer, cependant, seule une très faible quantité de plante sèche peut y être incorporée (**Fougère et Wynn, 2007**).

I.5.1.Les formes galéniques

Les formes galéniques ont pour but de faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs des plantes médicinales.

I.5.1.1.Tisanes

Sont définies comme des préparations aqueuses de drogues végétales convenablement divisées pour être facilement pénétrées par l'eau. Il existe plusieurs procédés de préparations des tisanes:

- **Infusion:** les infusions sont le mode de préparation le plus simple qui utilise les parties aériennes notamment les feuilles et les fleurs, fraîches ou séchées. Fait macérer les plantes dans un pot ou une tasse en verre avec un couvercle. Laissez infuser 10 minutes avant de filtrer (**Chevallier, 2007**).
- **Décoctions:** la décoction est la méthode la plus simple pour préparer les parties plus résistantes de la plante comme l'écorce, les baies et les racines. On obtient une décoction, en faisant bouillir de façon prolongée, et à feu doux, une plante (avec un couvercle sur la casserole). Il faut mettre la plante dans l'eau encore froide, puis la faire bouillir entre 2 à 15 minutes (**Morigane, 2007**).
- **Macération:** ces préparations (**Laucienne, 2013**) s'obtiennent en mettant à tremper une certaine quantité de plantes sèches ou fraîches dans un liquide : eau, alcool à froid, et en laissant en contact pendant un temps plus ou moins long ; avec de l'eau quelques heures seulement (10 à 12 heures pour éviter la fermentation).

I.5.1.2.Les gélules et les capsules

Les gélules contiennent généralement un matériau séché pulvérisé, ou bien des extraits mous ou secs concentrés. Les gélules de bonne qualité sont remplies de façon que l'air ne puisse pas circuler à travers la poudre. On peut acheter des gélules en gélatine et les remplir soi-même. Les capsules fermées contiennent, quant à elles, des huiles ou des extraits mous ou secs concentrés ; elles ont une action similaire à celle des comprimés mais comportent généralement moins de liantes et d'additifs (**Chevallier, 2007**).

I.5.1.3.Les comprimés

Ils peuvent être obtenus par simple compression de matériau séché ou d'un extrait sec, mais le matériau végétal est généralement associé à des liants et des additifs qui maintiennent la forme et la structure du comprimé et se dissolvent dans l'estomac ou les intestins. Malheureusement, des édulcorants artificiels et des colorants entrent souvent dans la formulation des comprimés, lisez donc attentivement les étiquettes avant de les utiliser (**Chevallier, 2007**).

I.5.1.4. Les pommades et les crèmes

Les Pommades sont préparées avec des huiles et des corps gras et ne contiennent normalement pas d'eau. Leur texture huileuse forme une couche imperméable protectrice sur la peau et elles sont très utiles pour les protéger sur la peau ainsi, pour les problèmes du type hémorroïdes ou érythème fessier. Les crèmes sont obtenues en émulsionnant des huiles et de l'eau. Elles humidifient la peau, calment les irritations ainsi que les inflammations de la peau (Chevallier, 2007).

I.5.1.5. Autre forme liquides

Il existe d'autres formes liquides d'utilisation des plantes médicinales en conseil en officine. Elles sont moins utilisées et sont souvent fabriquées par les laboratoires sous forme de produits finis prêts à emploi.

- **Les sirops:** ils sont généralement obtenus en ajoutant du sucre non raffiné ou du miel dans les infusions ou décoctions selon le rapport de 1 pour 1.
- **Les extraits lyophilisés:** ils sont fabriqués selon un processus similaire à celui du café instantané. Ils offrent la totalité des composants présents dans la plante ou dans la formule.
- **Les extraits huileux:** sont obtenus en faisant tremper les plantes dans de l'huile végétale. Ils concernent généralement les plantes qui ont des propriétés curatives pour les blessures.
- **Les huiles essentielles:** elles sont principalement le produit de la distillation des fleurs, des feuilles... ; l'huile récoltée est « essence » de la plante. Très concentrées, elles doivent être utilisées avec précaution (Chevallier, 2007).

I.6. Quelque champignon médicinal utilisé pour le traitement de la maladie inflammatoire

I.6.1. *Cantharellus Cibarius*

La chanterelle commune (*Cantharellus cibarius*), membre des Cantharellaceae (Fig.6), compte parmi les champignons les plus recherchés dans le domaine culinaire, particulièrement pour sa saveur (Maltais, 2013).



Figure 6: *Cantharellus cibarius* (Plourde, 2016).

Ce basidiomycète de couleur jaune orange possède comme particularité physique, propre aux membres de son genre, un chapeau de forme convexe surmontant un pied creux. Cela donne à la chanterelle commune l'apparence d'une coupe. La hauteur de cette espèce varie habituellement entre 3 et 15cm et le diamètre du chapeau se situe généralement entre 4 et 13cm (Gévry, Simard et Roy, 2009).

Les propriétés antioxydants observées chez *C. cibarius* seraient attribuables principalement aux composés phénoliques tels que l'acide homogentisique, l'acide gallique, l'acide caféique et la catéchine (Palacios et al., 2011; Vamanu et Nita, 2014). *C. cibarius* contiendrait également des composés contribuant à l'atténuation des symptômes inflammatoires, notamment en inhibant la dénaturation des protéines, causée généralement par les radicaux libres, et possiblement en stabilisant la membrane des lysosomes, dont le contenu peut causer une inflammation une fois relâchée (Vamanu et Nita, 2014).

I.6.2. *Grifola Frondosa*

Le polypore en touffe (*Grifola frondosa*) est connu sous de nombreux noms. Son nom populaire est la poule des bois tandis qu'au Japon, il est appelé maitake (Fig.7) qui signifie «champignon dansant» (Ulbricht et al., 2009; Kuo, 2010a). Il s'agit d'un champignon très populaire en Asie en raison de ses vertus médicinales et de ses qualités culinaires (Fang et al., 2012). Ce basidiomycète relativement imposant 15 à 60cm de largeur de la famille des

Meripilaceae possède une apparence particulière : physiquement, il ressemble à un amalgame arborescent composé de multiples chapeaux fusionnés ensemble (**Kuo, 2010a**).



Figure 7: *Grifola frondosa* (Plourde, 2016).

Un β -glucane extrait avec du NaOH 5%, GFPBW1, induirait une activité anti tumorale par l'activation de macrophages chez des cellules de souris (**Fang et al., 2012**). Du côté de l'activité anti-inflammatoire, des agaricoglycérides contenus chez *G. frondosa* favoriseraient la réduction des niveaux de cytokines TNF- α et IL-1 β (**Han et Cui, 2012**).

1.6.3. Pycnoporus Cinnabarinus

Connu sous le nom taxonomique de *Pycnoporus cinnabarinus* (**Fig.8**), le pycnopore cinabre est un basidiomycète faisant partir de la famille des Polyporaceae. Il est principalement retrouvé dans les forêts de l'hémisphère nord. Il s'agit d'un champignon de type saprophyte poussant généralement sur les souches de bois mort. *P. cinnabarinus* se distingue physiquement par la couleur de son chapeau d'un rouge – orange éclatant. Il peut atteindre une taille entre 2 et 13cm et une épaisseur de 2cm (**Kuo, 2010b**).



Figure 8: *Pycnoporus cinnabarinu* (Plourde, 2016).

Ce champignon posséderait plusieurs propriétés pharmacologiques et cosméceutiques. Une étude portant sur des extraits d'acétone et acétate d'éthyle a pu révéler la présence d'activités anti tumorale, antivirale contre l'herpès et la polio, antioxydant et anti inflammatoire (Dias et Urban, 2009).



CHAPITRE III

CORDYCEPS

MILITARIS

I.1.Généralités

Le champignon médicinal est une abondante source de produits naturels utiles avec divers biologiques activités (**Gu et Want, 2007**). Simultanément, le développement de la chimie moderne permis l'isolement de produits chimiques à partir d'herbes médicinales qui ont servi de médicaments ou de matières premières pour la synthèse de nombreux médicaments importants utilisés aujourd'hui. Beaucoup plus médicaments modernes ont été synthétisés à la suite de la connaissance acquise à partir d'études de mécanismes d'actions de produits chimiques d'abord isolé des herbes médicinales, y compris médicinales champignons (**Mathews et al., 1999**).

Dans les vastes implications de champignons animaux parasitaires aux insectes, plus de 350 types ont été découverts jusqu'à maintenant (**Gogtay et al., 2002**).

Il y a plus de 1 200 champignons entomopathogènes dans le monde (**Humber, 2000**). La plupart d'entre eux sont classés dans l'Ascomycota, y compris les Deutéromycètes; le reste se trouve dans les Zygomycota, Chytridiomycota, Oomycota et peu dans les Basidiomycota. *Le cordyceps* (Clavicipitaceae, Hypocreales, Ascomycota) est l'un des grands genres entomopathogènes, comprenant environ 300 à 500 espèces et variétés (**Kobayasi, 1982; Hodge et al., 1998; Hywel-Jones, 2002; Liu et al., 2002**). Ses membres sont pour la plupart pathogènes pour les insectes, y compris les araignées, et quelques-un poussent sur les espèces de champignons hypogées Elaphomyces. *C. militaris* est l'espèce type de *Cordyceps* (**Seaver, 1911**).

I.2.Description

Le nom de *Cordyceps* est dérivé du *cordon* de mots latin, signifiant «club», et *cèpes*, ce qui signifie «tête». Plusieurs espèces de *Cordyceps* sont considérées comme des agents thérapeutiques dans la médecine chinoise (**Halpern et Georges, 2007**).

Cordyceps militaris est un champignon rarement fourchu comprimé ou non, fréquemment sillonné 1–7cm de long, 2–6mm de large, orange à rouge avec périthèces au sommet immergés pointent à l'extérieur, ovoïdes 500–720 × 300–480µm avec une paroi de 20µm d'épaisseur. La couche pseudo parenchymateuse asques étroits, cylindriques 300–510× 3,5–5µm se rétrécit au sec. La longueur des stromates des spécimens frais de *C. militaris* variait entre 35 et 60mm (**Fig.9**). Les ascospores de ce champignon sont filiformes, multiseptées, se brisant en fragments cellulaires à maturité 2–4,5x 1–1,5µm (**Mains, 1958**).

Selon Kobayasi (1941) le *Cordyceps militaris* a une forme albinique. La partie apicale fertile des stromates avait une longueur de 8 à 30mm et une largeur de 4 à 12mm, Le nombre de stromates par hôte variait de simple à plusieurs (Bhushan et al., 2005).

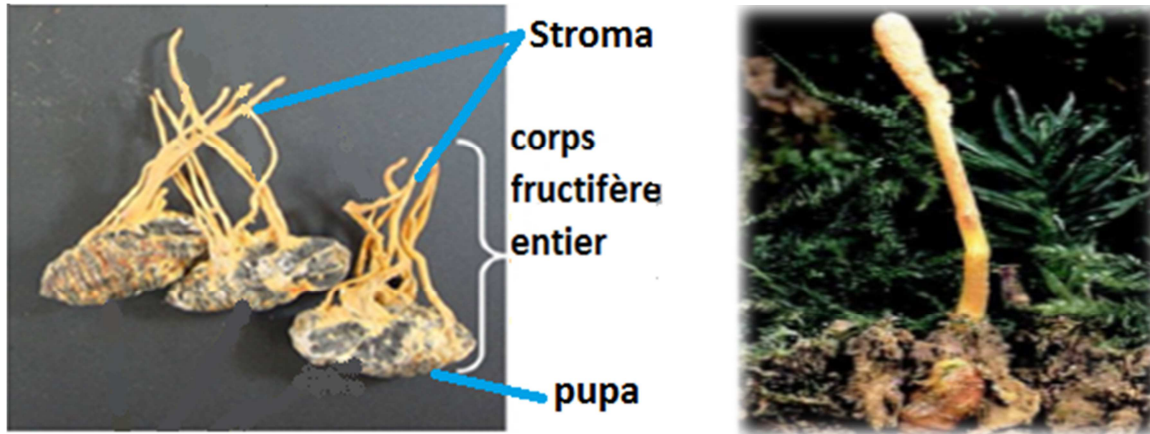


Figure9: Aspect morphologique de *Cordyceps militaris* (Lee Yue et al., 2008).

I.3.Classification

Les espèces de *Cordyceps* sont des parasites des insectes ou des mycètes, montrant souvent un niveau important de spécificité. Selon les analyses phylogénétiques, *Cordyceps* ne représente pas une lignée évolutive simple (Artjariyasripong et al., 2001). De même, les espèces de *Cordyceps* ne représentent pas un groupe monophylétique (Nikoh et al., 2000).

Ainsi le genre de *Cordyceps* est un Phylum Ascomycota classé dans le Clavicipitaceae, c'est un groupe monophylétique dérivé de l'ordre des Hypocreales (Artjariyasripong et al., 2001). Cette espèce est classée comme suit:

Tableau 3: Classification botanique de l'espèce étudiée *Cordyceps militaris* (Das et al., 2010).

| | |
|-------------------|----------------------------|
| Royaume | Champignons |
| Phylum | Champignon |
| Sub-phylum | Ascomycotina |
| Classe | Ascomycètes |
| Order | Hypocreales |
| Famille | Clavicipitaceae |
| Genre | Cordyceps |
| Espèce | <i>Cordyceps militaris</i> |

I.4. Biologie et écologie

Les *Cordyceps* sont des parasites d'insectes ou champignons, présentant souvent un degré élevé de spécificité d'hôte (**Fig.10**). Néanmoins, les espèces de *Cordyceps* associées à des hôtes lépidoptères ne représentent pas un monophylétique groupe. L'infection larvaire par des spores méiotiques et / ou mitotiques / conidies et la multiplication au sein de l'insecte provient d'un bourgeonnement de type levure. De plus, le champignon se développe à travers l'insecte par des hyphes. L'accumulation de la biomasse tue finalement l'hôte (et/ou une ou des toxines peuvent être impliquées). Ceci rompt le corps hôte après l'hivernage et forme le stroma périthécial sexuel à la larve morte en dessous du sol. Cette dernière pousse vers le haut pour émerger au-dessus de la surface du sol (**Sung et al., 2007**).

La production commerciale doit tenir compte de la durée de la production de stroma. Stromata sont généralement produites sur une période de 35 à 70 jours (**Zhang et Liu 1997, Sung et al., 1999; Du et al., 2010; Yue, 2010**). Alors, Zhang et Liu (1997) rapportent une période de production de 35 à 45 jours sur le riz, pourtant la période a été 40 à 70 jours sur d'autres substrats tels que le maïs. Cependant, Wu et al. (1996) ont obtenu 25g de corps de fruits frais de *C. militaris* de 50g de milieu de riz, tandis que Zhang et Liu (1997) ont trouvé un taux de transformation biologique de 61% sur le même milieu.

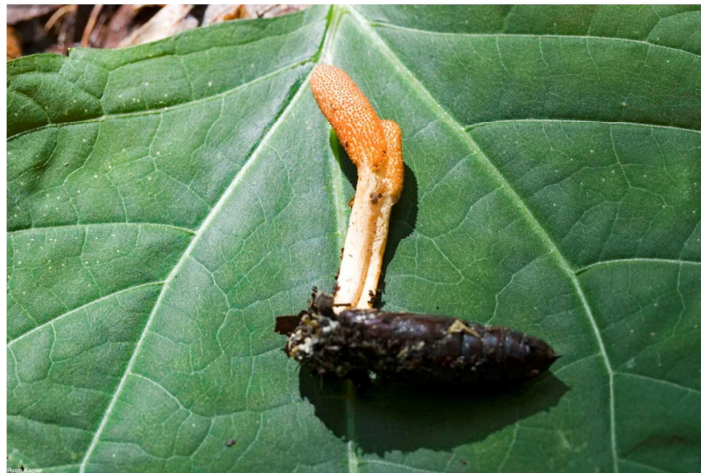


Figure10: *Cordyceps militaris* sur un insecte mort (Russell et Paterson, 2008).

De plus, les hormones végétales telles que le 2,4-D, l'acide citrique triamine, les colchicines, et d'autres peuvent améliorer la production du stroma de *C. militaris* (Li et al., 2004a; Xiao et al., 2010; Wang et al., 2010b). De même, les sels minéraux tels que K^+ , Mg^{2+} et Ca^{2+} à une concentration de 0,1g/l peut augmenter le rendement fructifère (Li et al., 2004a).

En outre, la température affecte fortement sur la production de stroma de *C. militaris*, autour de 25°C conduisent à une croissance maximale du mycélium de *C. militaris*. Par contre, les températures plus basses induisent la production du stroma, à savoir 14 et 22°C (Zhao et al., 2006a; Du et al., 2007; Du et al., 2010). La période de maturation des stromate est plus courte à 25°C qu'à 20°C (Sato et Shimazu, 2002b).

I.5.Origine de la plante

Cordyceps militaris, est un champignon médicinal chinois, ento-méropathogène appartenant à la classe des ascomycètes. Cette espèce particulière de *Cordyceps* a été utilisée à des fins médicinales en Chine, au Japon, en Corée et dans d'autres pays asiatiques. Il a été rapporté que *C. militaris* possédait de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-tumorales, antiprolifératives et antidiabétiques (Shih et al., 2007; Dong et al., 2013).

Est l'un des plus champignons médicinaux importants, a été utilisé populairement comme drogue brute et un aliment tonique folklorique en Asie de l'Est (Ying et al., 1987).

Il est largement distribué en Amérique du Nord, Amérique du Sud, Europe et Asie (Mains et al., 1958), des régions subtropicales aux régions tempérées autour du monde.

I.6. Composition chimique de *Cordyceps militaris*

Les corps fructifères de *C. militaris* ont été trouvés riches en différents composants biochimiques. Le tableau suivant présente la valeur nutritive du champignon (Tab.4).

Tableau4: la composition chimique de *Cordyceps militaris*. D'après (Pooja et anand, 2014).

| Les composants | Pourcentages (%) |
|----------------|------------------|
| Protéine | 39.15 |
| Les Vitamines | Quantité (mg\g) |
| A | 32.7 |
| B1 | 12.4 |
| B6 | 58.7 |
| B12 | 69.3 |
| B3 | 40.6 |
| Trace élément | Quantité (ppm) |
| Se | 0.35 |
| Zn | 127.1 |
| Cu | 27.7 |

Mannitol (2,01g/100g) et tréhalose (24,71g/100g) étaient les sucres libres trouvés chez *Cordyceps militaris*. Les acides gras polyinsaturés (68,87%) ont prédominé acides gras saturés (23,40%) et le d-tocophérol était la seule iso forme de la vitamine E détectée (55,86g / 100g). Les acides organiques trouvés dans ce champignon étaient les acides oxalique, citrique et fumarique (0,33, 7,97 et 0,13g/100g, respectivement). L'acide p hydroxy benzoïque était le seul acide phénolique quantifié dans cette espèce (0,02mg/100g); cependant, de l'acide cinnamique a également été trouvé (0,11mg/100g). L'extrait méthanolique de *Cordyceps militaris* s'est avéré inhiber la peroxydation des lipides, avoir un pouvoir réducteur et piéger les radicaux libres (Filipa et al., 2013).

I.7. Substances biologiquement actives dans *Cordyceps militaris*

Cordyceps militaris est un champignon médicinal important utile pour l'extraction de plusieurs bio-métabolites médicaments naturels pour revitaliser les différents systèmes physiologiques du corps de l'époque ancienne (Mizuno, 1999).

Il possède de nombreux types de composants actifs (tels comme la cordycépine, les polysaccharides, l'ergostérol et mannitol), et en raison de ses multiples activités, il utilise actuellement plusieurs buts médicaux (Song et al., 1998; Mizuno, 1999; Nag et Wang, 2005).

Le constituant actif principal des organes de fructification de *C. militaris* est la cordycépine, un dérivé de l'adénosine nucléosidique. Cette molécule a été isolée pour la première fois à partir de *C. militaris* (Cunningham et al., 1950) et il est maintenant produit synthétiquement puisqu'il a insecticide, propriétés antibactériennes et anti tumorales (Paterson et Russell, 2008). D'autres composés (Fig.11) avec l'activité pharmacologique ont été isolés de *C. militaris* tels que l'ergostérol (un stérol présent dans les champignons), et les polysaccharides qui fournissent anti inflammatoire, antioxydant, anti tumoraux, anti-métastatiques, immun modulateurs, hypoglycémiant, stéroïdogènes et activités hypolipidémies (Ng et Wang, 2005). En fait, les polysaccharides *Cordyceps* ont été largement étudiés.

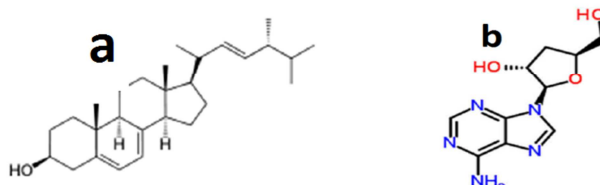


Figure11: les structures des composés : l'ergostérol (a), cordycépine (b) (Legouill, 2012).

Les polysaccharides, l'un des plus importants composants actifs de *C. militaris*, sont devenus l'objet de Des études récentes ont montré que de nombreux complexes de polysaccharides naturels et de polysaccharides-protéines isolés de champignons peuvent être utilisés comme source d'agents thérapeutiques avec une non toxicité relative et sans effets secondaires significatifs (Novak et Vetvicka, 2008).

Wen et al. ont rapporté que la teneur en polysaccharide de *C. militaris* était de 86,49mg/g (Wen et al., 2005). Par précipitation d'alcool, on obtient 2,312g de polysaccharide brut à partir de 100g de mycelium de *C. militaris*, dont la teneur en polysaccharide est de 28,1% déterminée par l'anthrone. méthode à l'acide sulfurique (Zhang et al., 2010).

Un autre composé bioactif de *C. militaris* est cordymin. Ce peptide a été étudié pour ses propriétés antifongiques, et trouvé pour inhiber la croissance mycélienne de *Bipolaris maydis*, *Mycosphaerella arachidicola*, *Rhizoctonia solani* et *Candida albicans*. Cordymin aussi

montré une activité anti-proliférative vis-à-vis des cellules cancéreuses du sein (MCF-7) (Wong et al., 2011).

I.8.Fonctions médicinales de *Cordyceps militaris*

Les constituants de *Cordyceps militaris* utilisent maintenant largement dans les industries pharmaceutiques modernes. Les principes actifs de *Cordyceps militaris* sont bénéfiques d'agir principalement en tant qu'agent pro- sexuel, anti-cancer, immun modulateur et antioxydant, sans parler de son d'autres activités bénéfiques pour la plupart des systèmes du corps. En outre, il a beaucoup d'applications cliniques. Les perspectives de ce nouveau champignon pourraient être utilisées non seulement pour les fabricants de médicaments modernes, mais aussi pour les personnes de la communauté pour l'amélioration de leur santé (Patel et Ingalhalli, 2013).

Le genre *Cordyceps* est bien connu pour ses propriétés médicinales (Tab.5). Un certain nombre de bioactifs des composants de l'espèce *Cordyceps* ont été rapportés comme antimicrobiens, anti-inflammatoires, antioxydants, antvieillissement, immun modulateurs ou anti tumoraux (Das et al., 2010).


Ont été utilisé pour traiter des conditions telles que la respiration et maladies pulmonaires, rénales, hépatiques, cardiovasculaires, hypo sexualité et hyperlipidémie. Il est également utilisé dans le traitement des troubles immunitaires, et en complément de les thérapies modernes contre le cancer (Holliday et Cleaver, 2008; Khan et al., 2010).

Tableau5: valeurs médicinales de *Cordyceps militaris*. D'après (Li et al., 2006a).

| Composés bioactifs | Activité |
|------------------------------------|---|
| Nucléosides | Activités anti-tumorales |
| | Antagoniste de Ca ²⁺ ; la sortie de divers les neurotransmetteurs présynaptiquement |
| | L'activité anticonvulsivant; stimuler la croissance des axones in vitro et dans le système nerveux central adulte |
| Polysaccharides | Anti-oxydation |
| | Immunopotentialisation, |
| | Anti-tumorale |
| | Hypoglycémique |
| | Activité anti-inflammatoire et supprimer l'humeur humorale immunité chez la souris |
| Ergostérol et ses analogues | Activité cytotoxique |
| | Activité antivirale |
| | anti-arythmie supprimer les cellules mésangiales humaines activées et atténuer néphropathie à l'immunoglobuline |
| Peptides de mannitol | Activités diurétiques |
| | Anti-radicalaires |



**PARTIE
EXPERIMENTALE**



CHAPITRE I
MATERIEL ET
METHODE

Objectif

Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de *Cordyceps militaris*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris induit par la carragénine. L'étude histologique a été réalisée au niveau de l'hôpital militaire régionale universitaire d'Oran « service d'anatomie pathologie ».

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Matériel biologique

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris Swiss albinos de sexe femelle dont le poids varie entre 25 et 30 grammes. Ces animaux ont été reçus de l'Institut Pasteur (Alger, Algérie) et maintenus à une température de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, avec un cycle de lumière et d'obscurité de $12 \pm 1\text{h}$. Les souris ont été placées dans des cages en plastiques où chaque cage regroupe 6 souris où elles ont l'accès libre à l'eau et à l'alimentation. Elles sont utilisées après une période d'adaptation au sein de l'animalerie de l'université de Mostaganem.

I.1.2. Matériel végétal

Un extrait aqueux de champignon médicinal (**Fig.12**), a été obtenu de l'institut des produits naturels d'Académie de science et technologie de Hanoi Vietnam, il s'agit de Sk gold du mushroom *Cordyceps militaris* (2016).

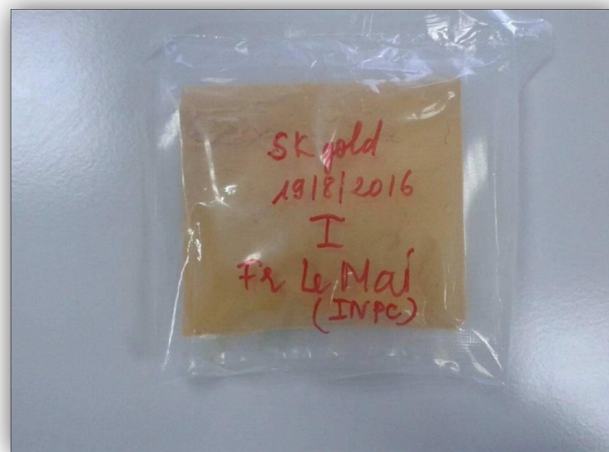


Figure12: représente l'extrait de Sk gold (mushroom).

I.2.Méthodes

I.2.1.Test de toxicité

I.2.1.1.Principe

La toxicité aigüe de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* a été évaluée chez des souris Swiss albinos de 25 à 30g de poids corporel (PC). Les animaux ont été randomisés par groupe de trois souris femelles pour chaque dose, ont été préparées dans l'eau physiologique NaCl 0,9% et administrées aux souris par voie orale (0.3ml/kg PC). Ceux témoins, ont reçu un même volume et de la même manière de l'eau physiologie. Après administration, l'observation du comportement général des animaux en comparaison avec celui du groupe non traité (mort, agitation, respiration, asthénie) Ces observations sont faites régulièrement jusqu'à 24 heures (Amezouar et al., 2013).

I.2.2.L'Activité anti-inflammatoire

I.2.2.1.Protocole expérimental

I.2.2.1.1.Prétraitement par les extraits

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 30 souris pesant 25±5g est divisé en cinq groupes, chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit:

- **Groupe témoin** (n=6): une solution de NaCl (0,9%).
- **Groupe standard** (n=6): l'anti-inflammatoire Diclofénac (50mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%.
- **Groupe A** (n=6): l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.
- **Groupe B** (n=6): l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 200mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.
- **Groupe C** (n=6): l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 300mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.

I.2.2.1.2.Induction de l'inflammation

La recherche de propriétés anti-inflammatoires a été réalisée sur le modèle de l'œdème plantaire induit chez les souris (swiss albinos femelles 25 à 30g) par l'injection d'une suspension à 1% (0,1ml) de carragénine dans la patte droite(**Fig.13**); technique inspirée de

celles décrites par Winter et Adeyemi. (Winter *et al.*, 1962; Adeyemi *et al.*, 2002). Les produits testés ont été administrés par voie orale une heure avant l'injection de la carragénine. Les souris ont été mises à jeun 16 heures avant le traitement et divisés en cinq groupes de six souris chacun. Le groupe A témoin non traité a reçu du NaCl 0,9% (0.3ml/kg PC), seulement, les groupes B, C et D ont été traités respectivement avec 100, 200 et 300mg/kg PC d'extrait aqueux de *Cordyceps militaris*, et les souris du groupe E ont été traités avec le Diclofénac (Dic), anti-inflammatoire non stéroïdien de référence, à la dose de 50mg/kg PC (Fig.14). L'évaluation de l'œdème a été suivie par l'enregistrement du diamètre de la patte enflammée 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 heures après l'injection de l'agent phlogogène (Amezouar *et al.*, 2013).



Figure13: injection sub-plantaire de la carragénine.



Figure14: l'administration des extraits par voie orale.

I.2.2.1.3.Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

❖ Mesure de l'œdème

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un micromètre digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant six heures (**Fig.15**).

L'évolution de l'œdème de la patte a été déterminée chaque heure jusqu'à 6 heures.



Figure15: Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.

❖ Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG):

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) de souris (Ndiaye *et al.*, 2006).

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

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

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

❖ Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH):

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH). Il est obtenu par la formule suivante (Ndiaye *et al.*, 2006).

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

I.3. Etude histologique

I.3.1. Echantillons

L'étude histologique a été réalisée à la fin des expérimentations, les souris sont anesthésiées au chloroforme, et les pattes sont prélevées.

L'étude histologique est réalisée sur ces tissus, au niveau du service d'Anatomie Pathologie de l'hôpital militaire régional universitaire d'Oran.

I.3.2. Méthodes

L'étude histologique est réalisée selon le protocole suivant :

I.4.2.1. Fixation

Est une étape essentielle en histologie et le choix du fixateur ainsi que la détermination des conditions de son action constituent des préalables indispensables pour mener à bien une étude histologique à des fins d'analyses morphologiques. Il est nécessaire que le liquide de fixation pénètre rapidement dans l'échantillon et se répartisse de manière homogène à l'intérieur de celui-ci. Parmi les fixateurs couramment utilisés on retiendra le paraformaldéhyde, le formol, le mélange formol/acide picrique/acide acétique (liquide de Bouin).

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

I.3.2.2. 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 on introduit les pattes dans une solution décalcifiant (980ml de l'eau distillée + 20ml de l'acide nitrique), pendant trois heures.

I.3.2.3. Macroscopie

Réalisation des fragments pour chaque organe, Introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord (**Fig.16**).



Figure16: les étapes de la macroscopie.

I.3.2.4.Circulation

Étape consistant à faire pénétrer la paraffine au sein du tissu Admission des cassettes dans un appareil de circulation ou de déshydratation (**Fig.17**) durant 24 heures en passant par 12 bacs comme suit:

a. Poste fixation:

Formol à 10% durant une heure et demi-heure.

b. Déshydratation des tissus: 3 bains d'alcool (éthanol) a concentrations croissantes c'est-à-dire: 50% - 60% - 70%, pour que le tissu ne subisse ni distorsion ni durcissement. On termine avec 3 bains d'alcool (éthanol) 80% - 90% - 96% absolu afin d'enlever complètement l'eau des tissus.

c. L'éclaircissement: 3 bains de toluène à 100% qui servent à remplacer l'alcool dans les tissus afin que celui-ci soit miscible avec la paraffine. Le toluène éclaircira le tissu pour que son indice de réfraction soit plus élevé et augmentera sa transparence.

d. L'imprégnation: 2 bains de paraffine chaude (44°C à 60°C) durant deux heures pour solidifier le tissu.



Figure17: Appareil de circulation / déshydratation.

I.3.2.5.Inclusion et enrobage

Le tissu est inclus dans un moule rempli de paraffine (**Planche 1.B**) chauffée (56°C - 58°C). Il est placé dans le moule (**Planche 1.A**) selon une certaine position afin de voir toutes les structures désirées lors de l'examen microscopique. Une fois les pièces couvertes de paraffine liquide, elles sont laissées refroidir sur une plaque à froid (**Planche 1.C**), ainsi, on obtient les blocs qui seront utilisés pour donner de fines coupes. Une fois le bloc préparé, il est stocké dans un congélateur (- 20°C).

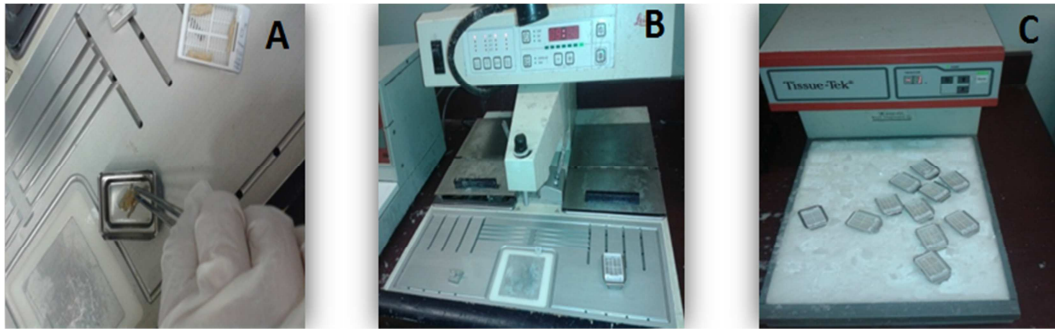


Planche1: Méthode de l'inclusion ; A: Moule métallique ; B: Appareil de paraffinage ; C: plaque de refroidissement.

I.3.2.6. Coupe

Réalisation des coupes sur le bloc à l'aide d'un microtome (**Planche 2.A**). L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4 μ m). L'étalement des coupes sur des lames de verre effectué par la flottaison à la surface d'un bain marie (à 37°C contenant de l'eau distillée), afin d'éviter la formation de plis et de stries (**Planche 2.B**). Pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant l'étape de déparaffinage, les lames doivent être «cuite». Cette cuisson permet d'éliminer (par évaporation) la pellicule d'eau qui se trouve entre la coupe et la lame. Elle est réalisée dans une étuve (**Planche 2.C**) à 85°C pendant une heure.



Planche2: Réalisation des coupes fines ; A: Microtomie ; B: bain marie ; C: Etuve.

I.3.2.7. Coloration

La coloration est réalisée dans un appareil spécifique (**Fig.18**) avec de l'Hématoxyline Eosin, les échantillons sont traités par plusieurs produits et dans plusieurs bacs comme suit :

- 3Bacs de xylène durant 5 minute chacune.
- 3Bacs d'éthanol de concentration de 70%, 80%, 96%.
- 1Bac d'eau distillée pendant 5 minutes.
- 1Bac d'hématoxyline d'Harris durant 8 minutes.
- 1Bac de solution de lavage, pour faire laver les lames pendant 5 minutes.

- 1Bac d'alcool-acide durant 3 secondes.
- 1Bac de solution de lavage.
- 1Bac d'eau amoniacale durant 15 secondes.
- 1Bac de solution de lavage durant 5 minutes.
- 1Bac d'Eosine durant 3 minutes suivi par un lavage pendant 5 minutes.
- 2Bacs d'éthanol de 5 minutes pour chacun.
- 2Bacs de xylène de 5 minutes pour chacun.



Figure18: appareil de coloration.

I.3.2.8.Montage

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique (goutte de solution EUKITT) une lamelle couvre-objet sur la coupe (la lame) afin de la protéger de la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent à l'air et des bris mécaniques (**Planche 3**).



Planche3: Technique de Montage.

I.3.2.9.Lecture microscopique

La lecture est réalisée par un photo-microscopique et chaque coupe est photographiée.



CHAPITRE II
RESULTATS ET
DISCUSSION

I.1. Test de toxicité aigüe

L'administration orale de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* aux doses de 100, 200 et 300mg/Kg PC aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigüe au cours des 24 heures d'observation (de comportement des animaux, mort, coma...).

Tableau7: Test de toxicité aux doses de 100, 200 et 300mg/Kg PC de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* au cours des 24 heures.

| Dose | Augmentation de l'activité | Coma | Convulsion | Mort |
|-------------|----------------------------|----------|------------|----------|
| 100mg/kg PC | Négative | Négative | Négative | Négative |
| 200mg/kg PC | Négative | Négative | Négative | Négative |
| 300mg/kg PC | Négative | Négative | Négative | Négative |

I.2. L'activité anti-inflammatoire

I.2.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

I.2.1.1. Groupes témoins

L'injection de la carragénine sous le coussinet plantaire provoque une augmentation progressive du volume de l'œdème chez les souris témoin traités à la solution de NaCl 0,9% (0,1ml/10g) durant les six heures de l'expérimentation.

De plus, une augmentation significative du volume de la patte des souris est observée à la première heure ($54,16 \pm 2,35\%$) comparée aux autres heures de l'expérimentation ($50,01 \pm 3,20\%$; $44,60 \pm 3,95\%$; $42,61 \pm 3,92\%$; $32,42 \pm 2,29\%$ et $32,15 \pm 3,70\%$) deuxième, troisième, quatrième, cinquième et sixième heure, respectivement.

Après six heures d'expérimentation le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris témoins est significativement diminué comparé à celui de la première, deuxième et troisième heure (**Fig.19**).

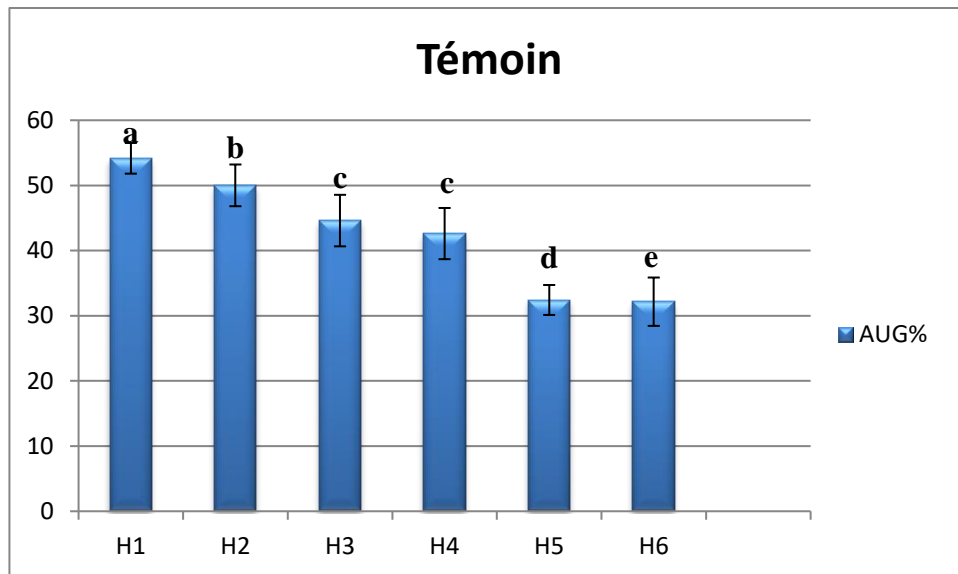


Figure 19 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.1.2. Groupes standards

Les souris du groupe standard traitées par le Diclofénac (50mg/kg Pc), montre une diminution significative du pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris induit par le carragénine précisément à deuxième heure de l'expérimentation et continue jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation (**Fig.20**).

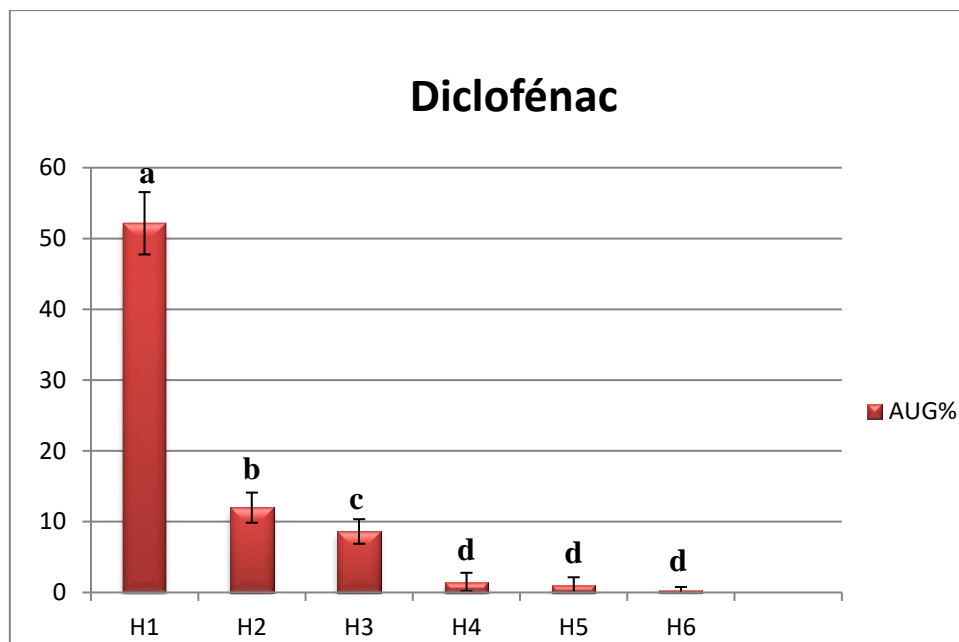


Figure20: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standard pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.1.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (100mg/kg Pc)

L'administration orale de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose 100mg/kg PC aux souris réduisent de façon appréciable l'œdème induit par le carragénine à la deuxième heure ($8,96 \pm 2,83\%$).

De plus, aucune différence significative n'est notée entre les valeurs du pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume des pattes pendant la quatrième, cinquième et sixième heure de l'expérimentation (Fig.21).

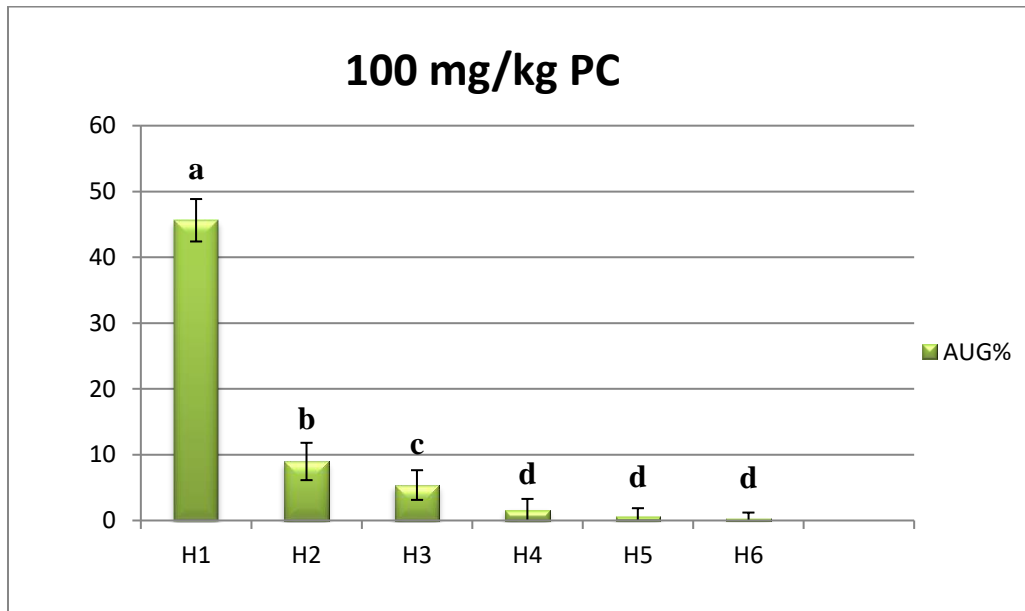


Figure21: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de *C. militaris* (100mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes indiquent des différences significatives (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.1.4. Groupe traité par extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (200mg/kg Pc)

L'essai de lot traité oralement par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose (200mg/kg Pc) ont montré une inhibition de l'œdème dans la deuxième heure ($6,25 \pm 2,70\%$) et spécialement dans la troisième heure ($3,13 \pm 1,80\%$). L'inhibition de l'augmentation diminue avec le temps jusqu'à la sixième heure (Fig.22).

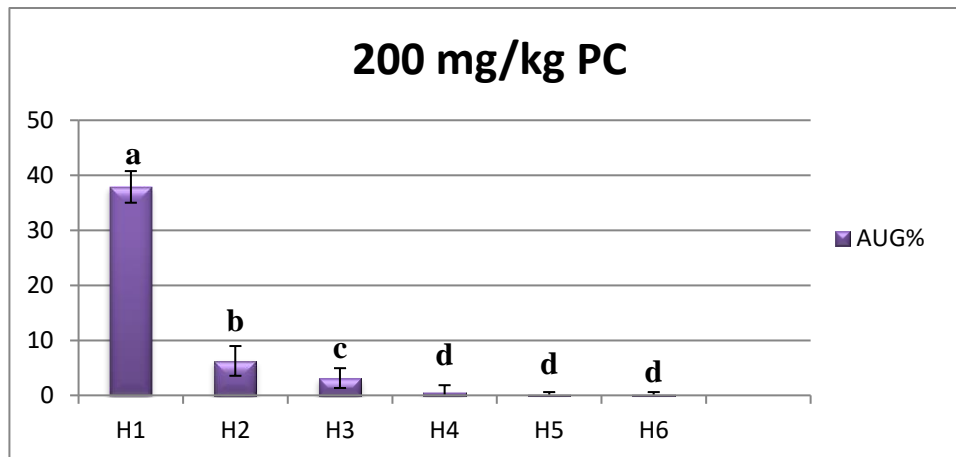


Figure22: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de *C. militaris* (200mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes indiquent une différence significative (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.1.5. Groupe traité par extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (300mg/kg Pc)

Il a été observé chez les souris traitées avec l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose (300mg/kg PC), une importante diminution du volume de l'œdème à partir de la deuxième heure.

De plus, à la cinquième heure le pourcentage d'augmentation du volume des pattes des souris montrent des valeurs significativement réduites comparées aux valeurs de la deuxième, troisième et quatrième heure respectivement (**Fig.23**).

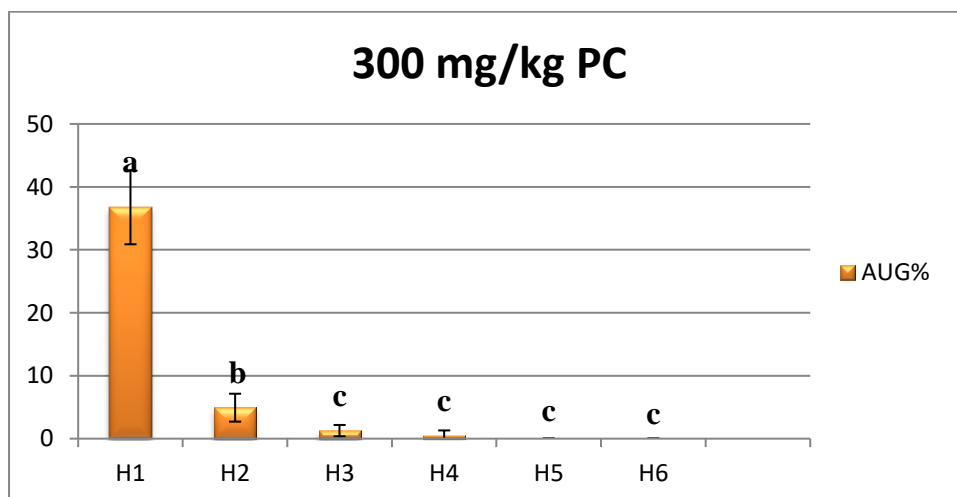


Figure23: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par extrait de *C. militaris* (300mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes indiquent une différence significative (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)

I.7.2.1. Groupe standard

L'administration du Diclofinac (50mg/kg PC) prévient de façon significative l'évolution de l'inflammation au niveau plantaire de la patte des souris à la deuxième, troisième et quatrième heure était de (80,83±2,57% ; 86,20±2,33% ; 97,70±1,99%) respectivement (Fig.24).

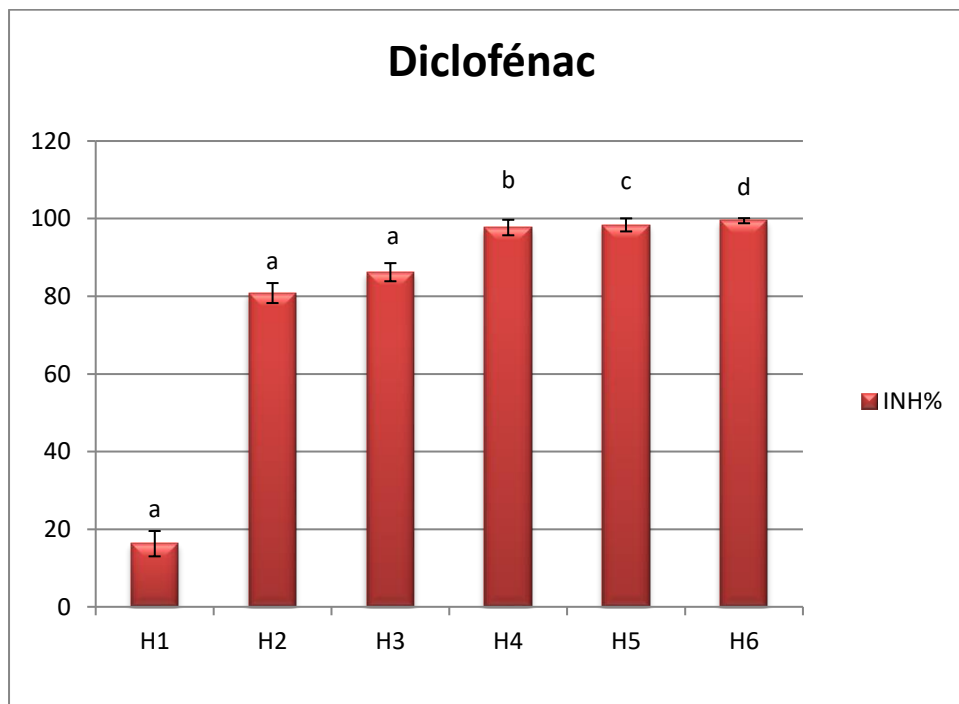


Figure24: Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris standard traitées par Diclofénac pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes indiquent une différence significative (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.2.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (100mg/kg PC)

L'administration de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose (100mg/kg PC) prévient de façon significative l'œdème plantaire chez les souris dès la deuxième heure du traitement (Fig.25).

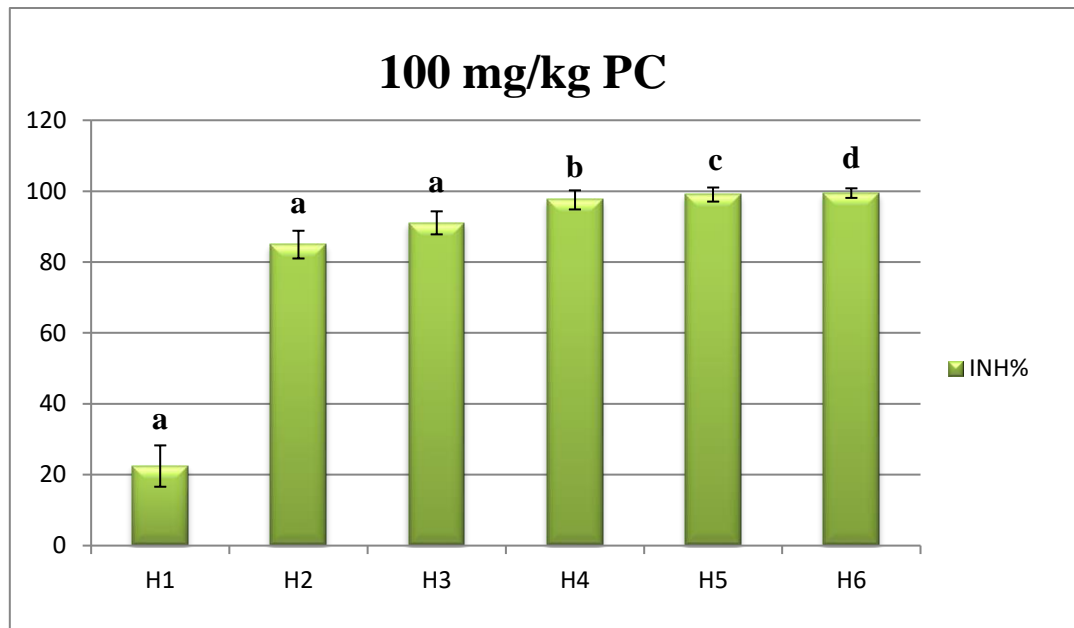


Figure25: Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *C.militaris* (100mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes significativement (Newman-Keuls, $P<0,05$).

I.7.2.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (200mg/kg PC)

L'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* recevant par voie orale à la dose 200mg/kg PC possède une activité anti-inflammatoire et montre significativement (**Fig.26**) à la troisième heure un pourcentage d'inhibition de $(94,76 \pm 2,65\%)$.

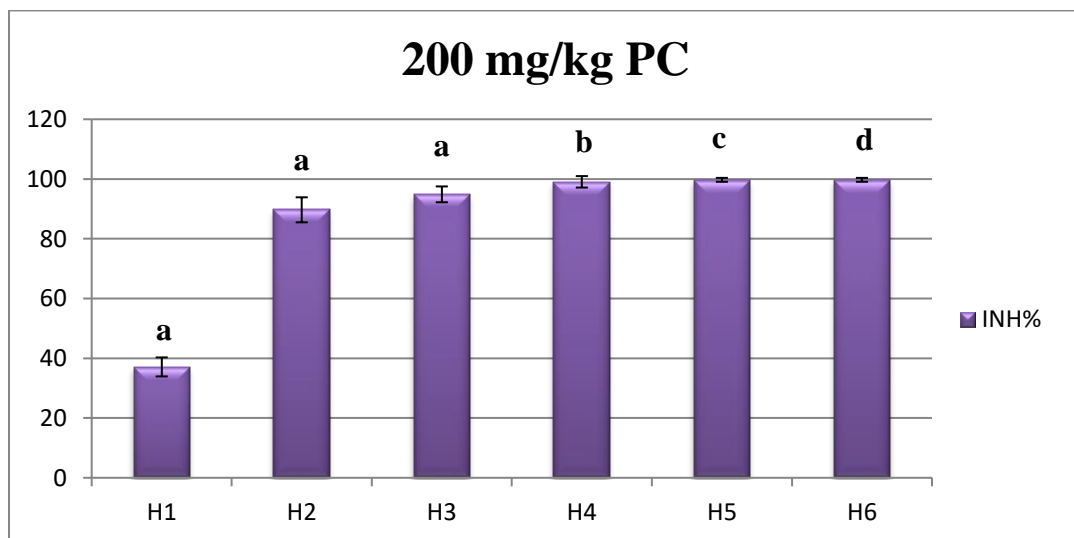


Figure26: Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *C. militaris* (200mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes significativement (Newman-Keuls, $P<0,05$).

I.7.2.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (300mg/kg PC)

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux à la dose 300mg/kg PC s'exprime à partir de la deuxième heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de $(91,76 \pm 3,67\%)$.

Le traitement avec cette dose provoque un effet inhibiteur de l'inflammation importante (**Fig.27**).

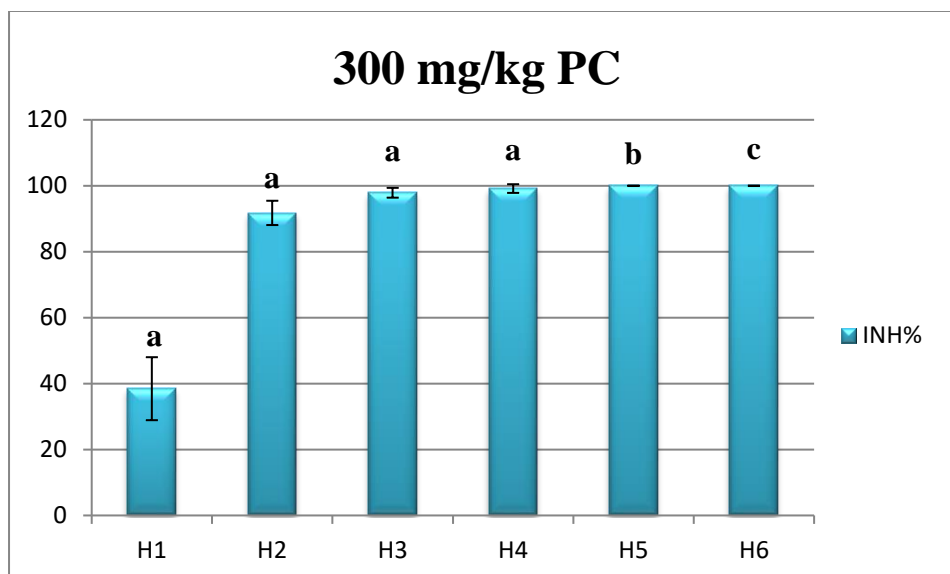


Figure27: Pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *C. militaris* (300mg/kg PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

I.7.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100,200 et 300mg/kg PC

Le traitement par le Diclofénac 50mg/kg est moins efficace que l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100mg/kg PC dans la prévention de l'œdème aigu de la patte des souris, particulièrement à la deuxième heure avec un pourcentage d'inhibition de $(80,83 \pm 2,57\%)$ pour le Diclofénac et de $(84,91 \pm 3,91\%)$ pour la dose de 100mg/kg PC.

De plus, l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 200 et 300mg/kg de PC est significativement plus importante par rapport à l'extrait aqueux à la dose de 100mg/kg (**Fig.28**).

Des résultats identiques ont été obtenus avec le groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* aux doses 200 et 300mg/kg PC au bout de 1,2,3,4,5 et 6 heures.

A la sixième heure ont été noté un effet inhibiteur identique de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100, 200 et 300mg/kg PC comparé aux groupes traité par le Diclofénac (50mg/kg).

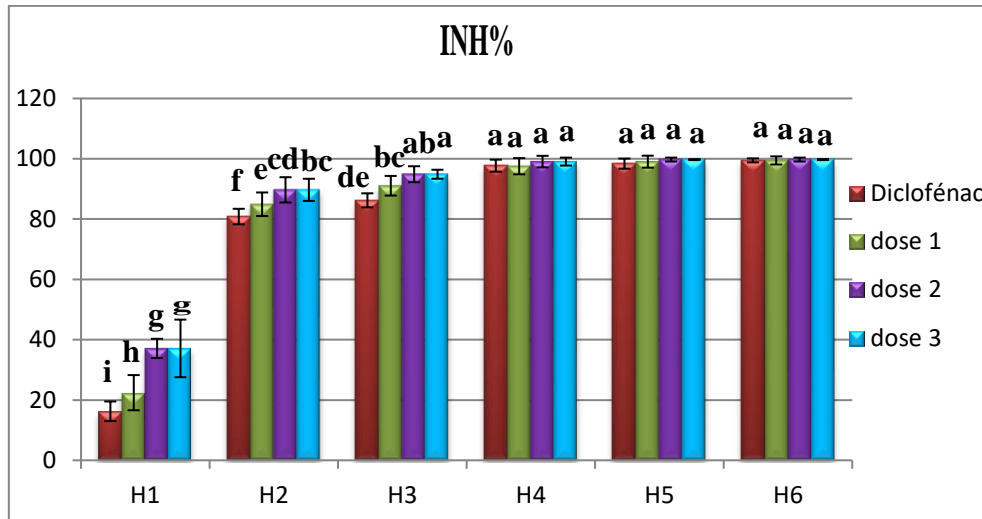


Figure28: pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes droites des souris, induit après les traitements lors du test de l'activité antioœdémateuse de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris*.

I.8. Etude histologique

L'examen microscopique de l'étude histologique réalisée sur les pattes de souris a montré que :

I.8.1. Le groupe témoin négatif

Les souris de ce groupe n'ont subi aucun traitement et l'examen microscopique montre un revêtement cutané reconnu par (**Fig.29**) :

- ❖ **épiderme:** fait d'un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé.
- ❖ **derme:** conjonctive vasculaire contient des annexes (glandes sébacées, les glandes sudoripares).
- ❖ **hypoderme:** fibro-adipeux, comporte quelque vaisseau sanguin.



Figure29: présentant les tissus de la patte de souris témoin négative(GX10). (1)Lamelle de kératine, (2) L'épiderme, (3) Le derme.

I.8.1.Groupe Témoin

L'examen microscopique montre un revêtement cutané qui siège au niveau du derme superficiel d'un intense infiltrat inflammatoire polymorphe fait essentiellement de lymphocytes, polynucléaires neutrophiles et de quelques plasmocytes (**Fig.30**).

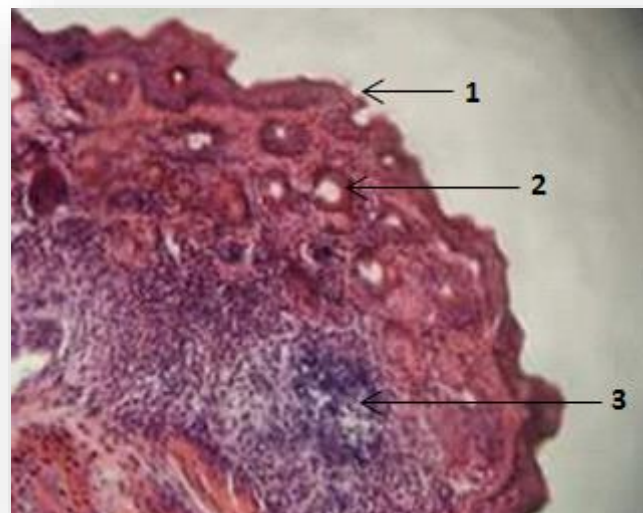


Figure30: présentant les tissus enflammés de la patte de souris témoin (GX10). (1)La couche cornée, (2) Follicule œdémateuse, (3) Infiltrat inflammatoire.

I.8.2. Groupe standard

L'examen microscopique des prélèvements effectués sur les pattes des souris traitées par le Diclofénac montre un revêtement cutané normal, absence de signe en faveur d'une réaction inflammatoire (**Fig.31**).

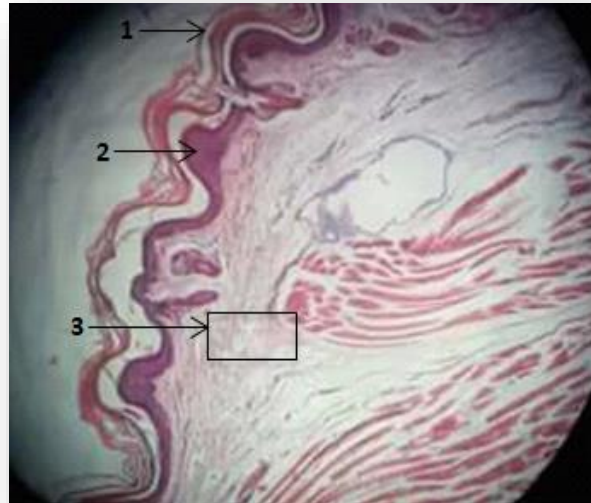


Figure31: Présentant un revêtement cutané enflammé de la patte des souris standard (GX10).
(1) La couche cornée, (2) L'épiderme, (3) Absence de l'infiltrat inflammatoire.

I.8.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (100mg/kg PC)

L'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (100mg/kg PC) montre un revêtement cutané discrètement inflammatoire présence de quelques cellules inflammatoires isolées (**Fig. 32**).

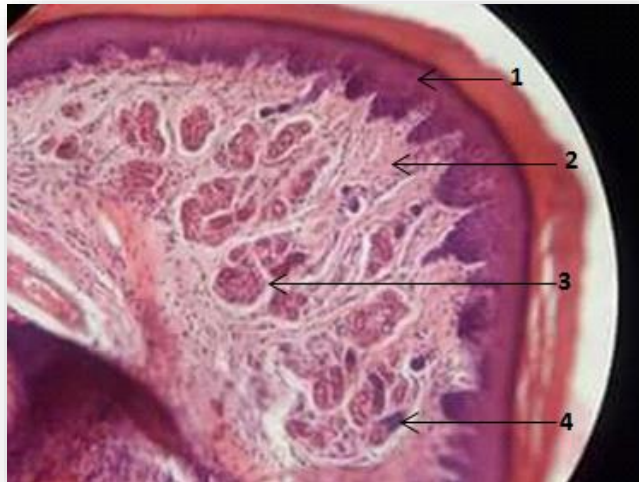


Figure32: présentant un revêtement cutané de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* 100mg/kg PC (GX40). (1) L'épiderme, (2) Le derme, (3) Cellule épithéloïdes, (4) Vaisseau sanguin délaté.

I.8.4. groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (200mg/kg PC)

L'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (200mg/kg PC) montre un revêtement cutané dans limite histologique de la normale et disparition presque totale de l'infiltrat inflammatoire (**Fig.33**).



Figure 33:Présentant un revêtement cutané de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* 200mg/kg PC (GX10). (1) Tissu osseux, (2) Absence de l'infiltrat inflammatoire

I.8.5. groupe traité par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (300mg/kg PC)

L'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* (200mg/kg PC) montre un revêtement cutané sans signes de spécificité, diminution de nombre des follicules œdémateuse (**Fig.34**).

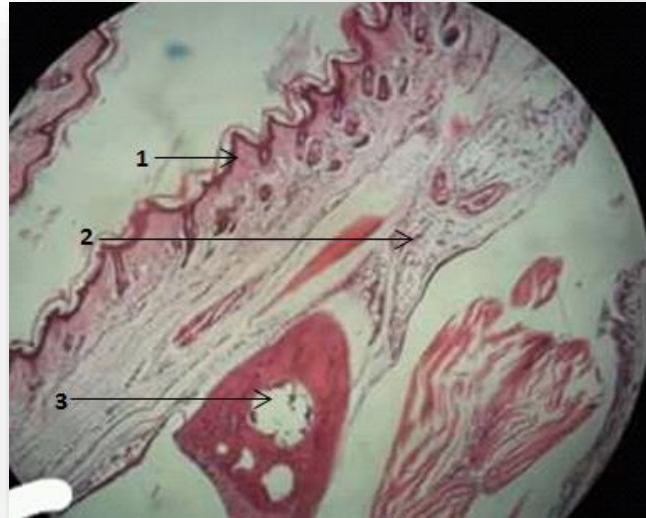


Figure 34 : présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* 300mg/kg (GX10). (1)La couche basale, (2) Fibroblaste, (3) Follicule inflammatoire.

Cette étude avait pour but d'évaluer au laboratoire l'activité anti-inflammatoire de *Cordyceps militaris*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème aigu de la patte des souris induit par la carragénine selon la méthode de (**Winter et al., 1962**). Il est testé sur ce modèle les extraits aqueux de *Cordyceps militaris* aux doses de 100, 200 et 300mg/kg PC en administration par voie orale.

L'étude réalisée sur la toxicité de cet extrait n'a révélé aucun effet toxique de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* à la dose de 100,200 et 300mg/kg de poids corporel aux souris, indiquant que cet extrait n'est pas toxique à ces dose expérimentale (100, 200 et 300mg/Kg PC).

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de *Cordyceps militaris*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine à 1%. Il est testé sur ce modèle les extraits aqueux, à la dose de 100,200 et 300mg/kg PC en administration par voie oral. L'utilisation de l'extrait aqueux en médecine traditionnelle est expliquée par la simplicité de l'extraction et de l'innocuité de l'eau (**Ait el cadi et al., 2011**).

Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament le Diclofénac qui est un anti-inflammatoires non stéroïdiens et à ceux du contrôle physiologique. Après administration de l'eau physiologique, la carragénine entraîne une augmentation significative du volume de la patte de souris.

Les résultats obtenus à l'issu des tests anti-inflammatoires montrent que les extraits aqueux des *Cordyceps militaris*, réduisent de façon appréciable l'œdème induit par la carragénine. L'inhibition de l'œdème de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* est comparable, à celle de Diclofénac. La richesse de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* en différents constituants chimiques peut justifier cette activité (**Zhang et Zhu, 2012**).

L'effet de la présente étude montrent que les extraits aqueux de *Cordyceps militaris* s'opposent à l'augmentation du volume de l'œdème de la patte des souris induit par la carragénine 1%. La carragénine, est un mucopolysaccharide qui induit un maximum d'œdème à partir de la 1ère heure qui suit son injection (**Elion Itou et al., 2014**). La carragénine provoque l'inflammation locale lorsqu'elle est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (**Bhatt et al., 1977; Ossipov et al., 1995**). La cause de cette réaction inflammatoire est la lésion tissulaire. Cette lésion tissulaire induit la synthèse de l'histamine, des prostaglandines, des leucotriènes (**Ammon et al., 1993**), du PAF (facteur d'activation plaquettaire), des cytokines, du NO (monoxyde d'azote) et du TNF (facteur de nécrose tumorale) (**Clarke et al.,**

1996). De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les LPS est un puissant activateur des macrophages et active le système immunitaire, conduisant à la libération de les cytokines pro-inflammatoires endogènes telles que le TNF- α , IL-1 β et IL-6 (Ando et al., 2000). Les cytokines pro-inflammatoires telles que TNF-a, IL-1 et IL-6 ont été montré pour contrôler l'inflammation in vitro aussi bien qu'in vivo (Feldmann et al., 1996; Harada et al., 1994).

De plus, les résultats obtenus dans l'étude histologique s'expliqueraient par l'inhibition de la synthèse des substances pro-inflammatoires. Par conséquent, l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* possède un effet anti-inflammatoire significativement à celui de diclofénac. D'autre part, L'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* a montré une inhibition de l'inflammation pendant la deuxième et la troisième heure (Khabbal et al., 2006).

L'essai le plus largement utilisé pour évaluer l'activité d'un nouvel agent anti-inflammatoire est sa capacité à réduire l'œdème local induit dans la patte des souris par l'injection d'un agent irritant. Cet œdème dépend de la participation des kinines et des leucocytes nucléaires avec leurs facteurs pro-inflammatoires comprenant des prostaglandines (Damas et al., 1986). Le développement de l'œdème dans la patte des souris après l'injection de carragénine a été décrit comme événement biphasique (Vinegar et al., 1969). La phase initiale, observée autour de la première heure, est attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine (Crunkhorn et Meacock, 1971). La deuxième, phase de gonflement, est due à la libération des substances *prostaglandin-like*. On a signalé que la deuxième phase de l'œdème est sensible aux agents anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens (Vinegar et al., 1969; Dirosa et Willoughby, 1971). Cela a été observé lors de la première et la deuxième phase de l'inflammation induite par la carragénine expliqué probablement par l'inhibition de la libération des premiers médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et les kinines (Winter et al., 1962). L'action à la deuxième phase peut être expliquée par une inhibition de la cyclooxygénase, cela pourrait signifier que *Cordyceps militaris* inhibe la cyclooxygénase 2 (Seibert et al., 1994).

Ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire des extraits pourrait s'expliquer par la présence des polysaccharides, (Wol Soon et al., 2010). L'analyse phytochimique préliminaire de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* a révélé la présence de composés polysaccharide, qui sont impliqués dans l'activité anti-inflammatoire (Wen et al., 2005). Les études antérieures ont montré aussi les effets anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Cordyceps militaris* (Russell et Paterson, 2008; Wol

et *al.*, 2010) et des extraits d'autres plantes (Agbonon, 2000; Pham, 2006; Adu-Amoah et *al.*, 2014).

En effet, de nombreuses études ont démontré que l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* possède des activités biologiques telles que: l'activité anti-inflammatoire (Yang et *al.*, 2000; Zhang et *al.*, 2007; Park et *al.*, 2009a; Rao et *al.*, 2010), inhiber la croissance de diverses cellules tumorales (Kodama et *al.*, 2000), inhiber la croissance cellulaire de cellules de leucémie humaine U937 (Park et *al.*, 2005) et l'activité antioxydant (Chen et *al.*, 2013).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Cordyceps militaris* montre que ce champignon possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.



CONCLUSION

Conclusion

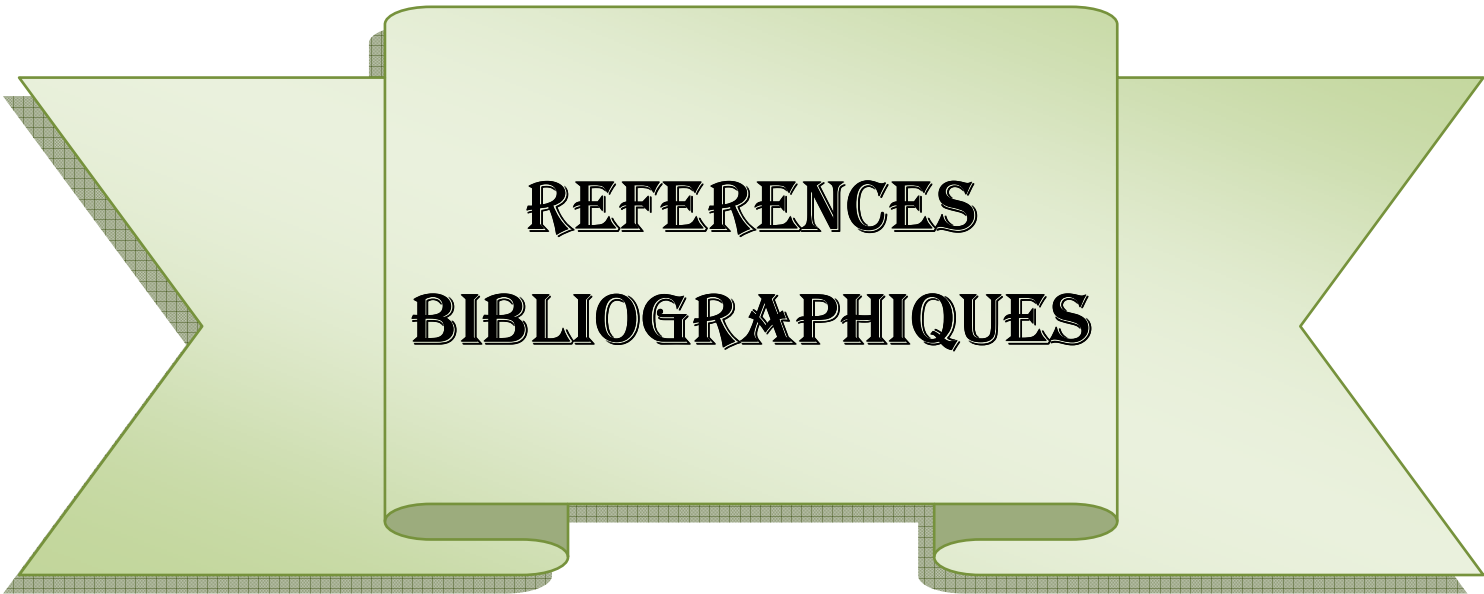
Les composés médicinaux d'origine naturelle suscitent des intérêts pour plusieurs raisons. La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies chroniques et aiguës comme l'inflammation.

La *Cordyceps militaris* est un champignon le plus souvent utilisé en médecine traditionnelle chinoise dans la prise en charge de nombreuses pathologies. Ce travail a été orienté pour l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la *Cordyceps militaris* sur le modèle de l'œdème inflammatoire de la patte de souris induit par la carragénine. L'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* a été utilisé aux doses de 100, 200 et 300mg/kg PC.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux a une activité anti-inflammatoire. En effet, lors du test d'inhibition du développement de l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine, on peut conclure que l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* administré par voie orale possède un effet anti-inflammatoire significativement supérieur à celui de l'ibuprofène. Après administration orale, cet extrait à la dose de 300mg/kg PC, prévient de manière significative ($p < 0,05$) l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris* montre que ce champignon possède un pouvoir pharmacologique, ce qui soutient son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

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



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Al-Sobarry M.A.M.** (2012). Valorisation pharmacologique d'aloeperryibaker et jatrophauniconstatabalf, plantes endémiques du Yemen. thèse de doctorat Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacognosie.
- **Ammon H, Safayhi H, Mack T, Sabieraj J.** (1993). Mechanism of anti-inflammatory actions of curcumne and bowellic acids. *Ethno pharmacology*; 38:113-119.
- **Ando H, Takamura T, Ota T, Nagai Y, Kobayashi K.** (2000). Cerivastatin improves survival of mice with lipopolysaccharide induced sepsis. *J PharmacolExpTher.* 294:1043-6.
- **Artjariyasripong S, Mitchell J, Hywel-Jones I, Jones E.** (2001). Relationship of the genus *Cordyceps* and related genera. Based on parsimony and spectral analysis of partial 18S and 28S ribosomal Gene sequences. *Mycoscience*.42: 503-517.
- **Auddy B, Ferreira M, Blasina F, Lafon L, Arredondo F, Dajas F, Mukherjee B.** (2003). Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. *Journal of Ethnopharmacology.* 84(2), 131-138.
- **Barnes Peter J.** (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science.* 94, 557-572.
- **Barton G. M.** (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation.* 118(2), 413-420.
- **Bézanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M.** (1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur.
- **Bhatt K, Mehta K, Shrivastana P.N.** (1977). A simple method of recording anti-inflammatory effects on rat paws edema .Indian 1. *Of Physiology and Pharmacolog.* 21: 399- 400.
- **Bhushan S, Sang-Kuk H, Won-Ho L, Seong-Keun C, Je-O L, Sung J.** (2005). Distribution et fructification *in vitro* de *Cordyceps militaris* en Corée, *Mycobiologie.* 33 (4): 178-181. Anglais.
- **Bianco A, Mazzei R, Melchioni A, Scarpati C, Uccella N.** (1998). Microcomponents of olive oil. Part II. Digalacto syldiacyl glycerols from *Olea europaea*. *Food Chemistry.* 62:343–346.
- **Blain H, YJouzeau J, Nettle P, Jeandel C.** (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. 21 :978 -988.
- **Blétry O, Kahn J-E, Somogyi A.** (2006). Immun pathologie, réaction inflammatoire. Édition de Masson. 2 e Édition.Paris, pp.18-20.

- **Catier O, Roux D.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3^{ème} édition. Wolthers Kluner. p.85, 112.
- **Charles N.S, Peter A, Derek W.G.** (2010). Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.
- **Charles N, Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy** (2010). Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*, 2-3.
- **Chen X.L, Wu G.H, Huang Z.L.** (2013). Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*. *Int. J. Biol.Macromol.* 58, 18-22.
- **Chiolero A, Würzner G, Burnier M.** (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques. *Néphrologie.* 21 : 425-430.
- **Clarke J. M, Sabrena M. B, Edward C, Jo Rae W.** (1996). Surfactant protein A protects growing cells and reduces TNF-alpha activity from LPS-stimulated macrophages. *American Journal of Physiology.* 271:310-319.
- **Collin F.** (2007). Identifier les fleurs du Maroc Atlantique par leurs couleurs, 59.
- **Crunkhorn P, Meacock SC.** (1971). Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenan. *Br J Pharmacol.* 42(3):392-402.
- **Cunningham K.G, Hutchinson S.A, Manson W, Spring F.S.** (1951). Cordycepin, ametabolic product from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. Part I. Isolation and characterization. *J. Chem. Soc.* 508, 2299-3200.
- **Dainichi T, Ueda S, Furue M, Hashimoto T.** (2008). By the grace of peeling: the brace function of the stratum corneum in the protection from photo-induced keratinocyte carcinogenesis. *Arch Dermatol Res.* 300:S31-8.
- **Damas J, Rémacle Volon G, Deflandre E.** (1986). Further studies of the mechanism of counter irritation by turpentine. *Naunyn- Schmiedeberg's Arch Pharmacology.* 332(2):196-200.
- **Das S.K, Masuda M, Sakurai A, Sakakibara M.** (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordycepsmilitaris*: current state and prospects. *Fitoterapia.* 81, 961- 968.
- **Debas HT, Laxminarayan R, Straus SE.** (2006). Complementary and alternative medicine. In: Disease control priorities in developing countries. Washington: *World Banke.* p. 1281–91.
- **Dias DA, Urban S.** (2009). HPLC and NMR studies of phenoxazone alkaloids from *Pycnoporuscinnabarinus*. *Nat Prod Commun.* 4 : 489-498.
- **Dirosa M, Willoughby DA.** Screens for anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol.* 1971; 23(4):297-8.

- **Dong J.Z**, J Ding, P.Z Yu, C Lei, X.J Zheng, Y Wang. (2013). Composition and distribution of the main active components in selenium-enriched fruit bodies of *Cordyceps militaris* link, *Food Chem.* 137 164–167.
- **Du Al**, Zhang X, Zhang HZ. (2010). A new high cordycepin *Cordyceps militaris* cultivar ‘Haizhou 1’. *Acta Horti Sin.* 37:1373–1374.
- **Du ST**, Zhou FL, Chen DY. (2007). Studies of temperature influences on *Cordyceps militaris* growth. *J Northwest A F Univ (Nat Sci Ed).* 35:159–162.
- **Espinosa E**, Chillet P. (2006). *Immunologie*. Édition Ellipses. Paris. P :16- 110- 114-117- 121-114-128.
- **Espinosa E**, Chillet P. (2010). *Immunologie*. Édition Ellipses. Paris. P : 83-87-88-130-114 -128.
- **Fang J**, Wang Y, Lv X, Shen X, Ni X et Ding K. (2012). Structure of a beta-glucan from *Grifola frondosa* and its antitumor effect by activating Dectin-1/Syk/NF-kappaB signaling. *Glycoconj J.* 29 : 365-377.
- **Faure S**. (2009). Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Pharmaco thérapeutique pratique.* 48 :51-56.
- **Ferradji A**. (2010). Activités antioxydant et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. mémoire : biochimie. setif : Université ferhat Abbas.
- **Filipa S**, Reis, Lillian B, Ricardo C. Calhelha, Ana Ciric, Leo J.L, Marina S , Isabel C. (2013). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties, *Food and Chemical Toxicology.* 62 :91–98.
- **Gogate V.M.** (1972). Draya gunyigyan Ayurvedic materiamedica. Maharashtra Vidyapeeth grantha nirmittimantal, Continental Prakashan Pune, India.
- **Gogtay NJ**, Bhatt HA, Dalvi SS, Kshirsagar NA. (2002). the use and safety of nonallopathic Indian medicines. *Drug Saf.* 25(14):1005–19.
- **Gu YX**, Want ZS, Li SX, Yuan QS. (2007). Effects of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Corydyceps militaris*. *Food Chem.* 102:13049.
- **Halpern G.M.** (2007). Champignons de guérison. Square One Publishers. Square One Publishers. pp. 65–86. ISBN 978-0-7570-0196-3.

- **Han T**, Li H L, Zhang QY, Han P, Zheng H C, Rahman K, Qin L P. (2007). Bioactivity-guided Fractionation for Anti-Inflammatory and Analgesic Properties and Constituents of xanthium Strumarium L. *Phytomedicine*. 14, 825–829.
- **Harada A**, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N, Matsushima K. (1994). Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *J LeukocBiol*. 56:559-64.
- **Hartmann T**. (2007). From waste products to Eco chemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry*. 68, 2831–2846.
- **Hawkey CJ**. (1999) .COX-2 inhibitors .*The lancet*. 353:307-331.
- **Henrotin Y**, Deby-Dupont G, Reginster J.Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue médicale de Liege*. 56(6), 433-42.
- **Hodge KT**, RA Humber, CA Wozniak. (1998). *Cordyceps variabilis* et le genre Syngliocladium. *Mycologia*. 90: 743-753.
- **Holliday J**, Cleaver M. (2008). Medicinal value of the caterpillar fungal species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link (*Ascomycetes*): A review. *Int .J. Med. Mush*. 10: 219-34.
- **Humber RA**. (2000). Pathogènes fongiques et parasites d'insectes. Dans: Priest FG, Good fellow M, éditeurs. Systématique microbienne appliquée. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 203-230.
- **Hywel-Jones NL**. (2002). Multiples de huit ascospores de *Cordyceps* .*MycolRes*.106: 2-3.
- **Iwalewa E. O**, McGaw L, Naidoo V, Eloff J.N. (2007). Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*. 6(25).
- **Khabbal Y**, Ait El Cadi M, Alaoui K, Faouzi A, Cherrah Y. (2006). Activité anti-inflammatoire de la *Zygophyllum gaetulum*. *Phytotherapie*. 4(5):227-9.
- **Khan A.M**, Tania M, Zhang D, Chen H. (2010). *Cordyceps* Mushroom: A potent anticancer Nutraceutical. *The open Nutraceutical Journal*. 3:179-183.
- **Kidd B.L**, Urban L.A. (2001). Mechanisms of inflammatory pain. *British Journal of Anaesthesia*.87, (1), 3-11.
- **Kobayasi Y**. (1982). Clés des taxons des genres *Cordyceps* et Torrubiella. *Trans Mycol Soc Japon*. 23: 329-364.
- **Kodama EN**, Mccaffrey RP, Yusa K, Mitsuya H. (2000). Anti-leukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase-positive (TdT+) leukemic cells. *Biochem Pharmacol*.59:273-81.

- **Koechlin-Ramonatxo C.** (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20(4), 165-177.
- **Kumar V, Abul K A, Nelson F, Richard M.** (2007). Robbins Basic Pathology, 8th Edition, 20-60.
- **Kuo M.** (2010a). *Grifolafrondosa*: The hen of the woods. Consulté le 02-04-2015, http://www.mushroomexpert.com/grifola_froncosa.html.
- **Kuo M.** (2010b). *Pycnoporuscinnabarinus*. Consulté le 09-06-2015, http://www.mushroomexpert.com/pycnoporus_cinnabarinus.html.
- **Levy J. H, Kelly A. B.** (1993). Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. 40(11), 1009-1015.
- **Li CB, Tong XD, Bai J et al** (2004a) Artificial stromata production of *Cordyceps militaris*. *J Dalian Natl Univ*. 6(5):29–31.
- **Li S.P, Yang F.Q, Tsim K.W.K.** (2006a). Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1571–1584.
- **Liu ZY, Liang ZQ, Liu YY, Yao YJ, Hyde KD, Yu ZN.** (2002). Preuve moléculaire de connexions teleomorph -anamorphes chez *Cordyceps* à partir des séquences d'ADNr de l'ITS-58S. *MycolRes*. 106: 1100-1108.
- **Mains E.B.** (1958). North American Entomogenous species of *Cordyceps*. *Mycologia*. 169-222.
- **Maltais-Lajoie P-A.** (2013). L'économie des produits forestiers non-ligneux : secteur des champignons forestiers. *MAPAQ*, 39 p.
- **Manicone A.M, McGuire J. K.** (2008). Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. In *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press. (Vol. 19, No. 1, pp. 34-41).
- **Marsolais D, Frenette J.** (2005). Inflammation et réparation tendineuse. *médecine/sciences*. 21(2) :181-186.
- **Mathews HB, Lucier GW, Fisher KD.** (1999). Medicinal herbs in the United States: research needs. *Environ Health Perspect*. 107(10):773-8.
- **Maurice N,** (1997). De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe.
- **Mayol K, Cavalié F, Davoust-Nataf N.** (2013). Les médiateurs de l'inflammation. Anonyme.
- **Medzhitov R.** (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 454:428-435.

- **Medzhitov R.** (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell.* 140(6):771-776.
- **Mizuno T.** (1999). Medicinal Effects and Utilization of Cordyceps (Fr.) Link (Ascomycetes) and Isaria Fr. (Mitosporic Fungi) Chinese Caterpillar Fungi, "Tochukaso" (Review). *Intl J Med Mushroom.* 1:251-261.
- **Mycobiology.** (2010). 38(1): 46-51 DOI:10.4489/MYCO.2010.38.1.046. Siècle. Ed : Lavoisier, Paris.; 12- 14.
- **Nag TB, Wang HX.** (2005). Pharmacological actions of Cordyceps, a prized folk medicine. *J Pharm Pharmacol.* 57:1509- 1519.
- **Nikoh N, Fukatsu T.** (2000). Interkingdom host jumping underground: phylogenetic analysis of entomoparasitic fungi of the genus *Cordyceps*. *Molecular Biology and Evolution.* 17: 629-638.
- **Nourshargh S, Fritz Krombach, Elisabetta Dejana** (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology.* 80:714-718.
- **O'Connor T. M, O'Connell J, O'Brien D. Goode T, Bredin C. P, Shanahan F.** (2004). The role of substance P in inflammatory disease. *Journal of cellular physiology.* 201(2):167-180.
- **Ossipov M. H, Kovelowski C. J, Porreca F.** (1995). The increase in morphine anti nociceptive potency produced by carrageenan-induced hindpaw inflammation is blocked by naltrexone, a selective delta-opioid antagonist. *Neuroscience Letter,* 184: 173-176.
- **Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen B. K.** (1999). Pro - and anti - inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *The Journal of physiology.* 515 (1):287-291.
- **Palacios I, Lozano M, Moro C, D'Arrigo M, Rostagno MA, Martinez JA, Garcia-Lafuente A, Guillamon E, Villares A.** (2011). Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem.* 128: 674-678.
- **Park C, Hong SH, Lee JY, et al.** (2005). Growth inhibition of U937 leukemia cells by aqueous extract of Cordyceps militaris through induction of apoptosis. *Oncol Rep,* 13:1211-6.
- **Park S.E, Kim J, Lee Y-W, Yoo H-S, Cho C-K.** (2009a). Antitumor activity of water extracts from *Cordyceps militaris* in NCI-H460 cell xenografted nude mice. *J. Acupunct. Meridian. Stud.* 2: 294-300.
- **Paterson M, Russel M.** (2008). Cordyceps- A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory? *Review. Phytochemistry.* 69:1469-1495.

- **Pierangeli G, Vital G, Windell R. (2009).** Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaenaodorata* King and Robinson and *Uncaria-perrottetii* Merr Extracts *Medicinal Plants Res.* 511-518.
- **Pooja P, Anand S. (2014).** Studies on the biology of *Cordyceps militaris*: A medicinal mushroom from North West Himalaya. *KAVAKA* 43: 35-40.
- **Quezel p, Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, *Tome II, Ed. CNRS.* Paris, 590-593.
- **Ramsbottom J. (1923).** A handbook of the larger british fungi. Ed. British Museum, Londres.
- **Rao Y.K, Fang S-H, Wu W-S, Tzeng Y-M. (2010).** Constituents isolated from *Cordyceps militaris* suppress enhanced inflammatory mediator's production and human cancer cell proliferation. *J. Ethnopharmacol.* 131: 363-367.
- **Royse DJ. (2005).** Forward to the fifth international conference on mushroom biology and mushroom products. *Acta Edulis Fungi (Suppl).* 12:1-2.
- **Ryan G. B, Majno G. (1977).** Acute inflammation. A review. *The American journal of pathology.* 86(1):183.
- **Sato H, Shimazu M. (2002b)** Stromata production for *Cordyceps militaris* (Clavicipitales: Clavicipitaceae) by injection of hyphal bodies to alternative host insects. *Appl Entomol Zool.* 37:85-92.
- **Scott A, Khan K. M, Cook J. L, Duronio V. (2004).** What is inflammation? Are we ready to move beyond Celsus?. *British journal of sports medicine.* 38(3):248-249.
- **Seaver FJ. (1911).** Les hypocreales de l'Amérique du Nord-IV. *Mycologia.* 3: 207-230.
- **Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, et al. (1994).** Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc Natl Acad Sci.* 91(25):12013-7.
- **Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Eds, Karthala, pp : 22.
- **Song CH, Jeon YJ, Yang BK, Ra KS, Sung JM. (1998).** Anti-complementary activity of exo-polymers produced from submerged mycelial cultures of higher fungi with particular reference to *Cordyceps militaris*. *J Microbiol Biotechnol.* 8:536-539.
- **Stankov V S. (2012).** Definition of inflammation, causes of inflammation and Possible anti-inflammatory strategies. *The open inflammation journal.* 5 (1).

- **Stevens** A, Lowe J, Barbara Y. (2004). Anatomie pathologique générale et spéciale. Édition De Boeck .4 e Édition. Bruxelles, P 25.
- **Sung** G.H, Hywel-Jones N.L, Sung J.M, Luangsa-Ard J.J, Shrestha B, Spatafora J.W. (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud. Mycol.* 57:5-59.
- **Sung** JM, Choi YS, Lee HK et al. (1999). Production of fruiting body using cultures of entomopathogenic fungal species. *Korean J Mycol.* 27:15-19.
- **Ulbricht** C, Weissner W, Basch E, Giese N, Hammerness P, Rusie-Seamon E, Varghese M, Woods J. (2009). Maitake mushroom (*Grifola frondosa*): systematic review by the natural standard research collaboration. *J SocIntegrOncol*, 7: 66-72.
- **Vamanu** E, Nita S. (2014). Bioactive Compounds, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Extracts from *Cantharelluscibarius*. *Revista De Chimie.* 65: 372-379.
- **Vinegar** R, Shereiber W, Hugo R. (1969). Biphasic development of carragenin-induced edema in rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 166:96-103.
- **Vaidya** J.G, RABBA A.S. (1993). Fungi in Folk Medecine. *Mycologist.* 7 (3): 131-133.
- **Wang** HJ, Chu Z, Feng L et al. (2010b). A comparative study on effect of two plant growth promoters on the growth of *Cordyceps militaris*. *Lishizhen Med Mater Med Res.* 21:541-542.
- **Weill**, B., Batteux, F., Dhainaut, J. (2003). Immuno pathologie et réactions inflammatoires. Eds, *De Boeck Université (Paris)*, pp.12-23.
- **Wen** L, Tang Y, Yin Q, Xia M, Yang Y. (2005). Assays on nutrient and effective ingredients in different parts of *Cordyceps militaris*. *Zhongguo Zhong Yao ZaZhi* 30:659-661.
- **Winter** CA, Risley EA, Nuss GW. (1962). Carragenin-induced oedema in hind paws of rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *ProcSoc Exp Biol Med.* 111:544-50.
- **Wong** J.H, Ng T.B, Wang H, Sze S.C.W, Zhang K.Y, Li Q, Lu X. (2011). Cordymin, an antifungal peptide from the medicinal fungus *Cordyceps militaris*. *Phytomedicine.* 18:387-392.
- **Won** S, Byung-Soon P, Jong-Hyuk S. (2009). Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Arch Dermatol.* 301(5):329-36.
- **Wong** M. (1976). La médecine chinoise par les plantes. Ed. Tchou, Paris, 278 p.
- **Wang** Y.C. (1987). Mycology in ancient China. *Mycologist.* 1: 59-61.

- **Xiao** ZH, Li ZX, Li JZ et al. (2010). Influence of additive on growth and differentiation of *Cordyceps militaris* (L.) fruit body. *Food Ferment Technol.* 46(3):60-64.
- **Yang** BK, Ha JY, Jeong SC, et al. (2000). Production of exo-polymers by submerged mycelial culture of *Cordyceps militaris* and its hypolipidemic effect. *J Micro boil Biotechn.* 10:784-8.
- **Yarnell** E. (2007). Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action. In: *Veterinary herbal medicine*, ed. *Mosby Elsevier, St Louis*, p. 159-182.
- **Ying** J, Mao X, Ma Q, Wen H. (1987). Icons of medicinal mushroom from China. Beijing: Science Press Beijing (in Chinese). 151-155.
- **Yue** C. (2010). Optimization on *Cordyceps militaris* cultivating conditions. *Food Ind* 2:60-61.
- **Zhang** A, Lu J, Zhang N, Zheng D, Zhang G, Teng L.(2010). Extraction, purification and anti-tumor activity of polysaccharide from mycelium of mutant *Cordyceps militaris*. *Chem. Res. Chin. Univ.* 26:798-802.
- **Zhang** M, Cui SW, Cheung PCK, et al. (2007). Anti-tumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and anti-tumor activity. *Trends Food Sci Tech*, 18:4-19.
- **Zhang** M, Zhu W. (2012).Ultrasonic-assisted extraction of the polysaccharide from *Cordyceps militaris*. *Farm Mach.* 30- 050.
- **Zhang** XK, Liu WX. (1997). Experimental studies on planting *Cordyceps militaris* (L. ex Fr.) Link with different culture materials. *EdibleFungi China.* 16(2):21-22.
- **Zhao** CY, Li H, Zhang M et al. (2006a). Optimization on conditions of artificial cultivation of *Cordyceps militaris*. *J Shenyang AgricUniv.* 37:209-212.



ANNEXES

Tableaux 7 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris témoin.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne | 54,16 | 50,01 | 44,61 | 42,61 | 32,42 | 32,16 |
| Ecartype | 2,35 | 3,20 | 3,95 | 3,93 | 2,30 | 3,71 |

Tableaux 8 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris standard.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|------|------|------|------|
| Moyenne | 52,15 | 11,97 | 8,61 | 1,48 | 1,04 | 0,35 |
| ecartype | 4,41 | 2,13 | 1,74 | 1,30 | 1,10 | 0,43 |

Tableaux 9 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 100mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|------|------|------|------|------|
| Moyenne | 45,63 | 8,97 | 5,38 | 1,56 | 0,61 | 0,35 |
| ecartype | 3,22 | 2,84 | 2,26 | 1,72 | 1,26 | 0,85 |

Tableaux10 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 200mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|------|------|------|------|------|
| Moyenne | 37,87 | 6,26 | 3,14 | 0,60 | 0,17 | 0,17 |
| ecartype | 2,88 | 2,71 | 1,80 | 1,24 | 0,42 | 0,42 |

Tableaux11 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 300mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|------|------|------|----|----|
| Moyenne | 36,76 | 4,92 | 1,27 | 0,51 | 0 | 0 |
| Ecartype | 5,88 | 2,22 | 0,90 | 0,79 | 0 | 0 |

tableaux11 : pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris Standard.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne | 16,26 | 80,83 | 86,20 | 97,71 | 98,39 | 99,46 |
| Ecartype | 3,26 | 2,58 | 2,33 | 1,99 | 1,68 | 0,66 |

Tableaux12 : pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 100mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne | 22,43 | 84,92 | 91,05 | 97,53 | 99,04 | 99,45 |
| Ecartype | 5,83 | 3,91 | 3,25 | 2,69 | 1,98 | 1,35 |

Tableaux13: pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 200mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne | 37,17 | 89,69 | 94,87 | 99,06 | 99,73 | 99,73 |
| Ecartype | 3,19 | 4,19 | 2,65 | 1,92 | 0,65 | 0,65 |

Tableaux13: pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par *Cordyceps militaris* à la dose 300mg/kg de PC.

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
| Moyenne | 38,44 | 91,77 | 97,88 | 99,15 | 100 | 100 |
| Ecartype | 9,55 | 3,68 | 1,49 | 1,31 | 0 | 0 |