

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mr.Rabahi walid rabie

Mr.Ould charef soufiane

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Pharmaco-Toxicologie

THÈME

**Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait
hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum***

« Etude expérimentale chez les souris »

Soutenu publiquement le

DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

Mme. MISSOUN. F

MCA

Présidente

Mme. DOUCHEN. S

MCB

Examinatrice

Mme. AMARI. N

MCB

Encadreur

Date de soutenance 11 juillet 2019

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le dieu, notre créateur de nos avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre reconnaissance.

*Nos vifs remerciements à tous les membres du jury ainsi qu'à Mme « **Misoun Fatiha** », maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury et pour ses conseils et sa gentillesse, et Mme « **Douichen Salima** » maitre de conférence au département de Biologie de l'université de Mostaganem d'avoir bien voulu nous honorer de sa présence et examiner notre travail.*

*Nous tenons également à présenter nos remerciements les plus distingués à notre encadreur Mme « **Amari Nesrine Ouda** » maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem pour son soutien, ses conseils qui ont été précieux et nous ont permis de mener à bien notre travail. Nous tenons aussi à remercier vivement nos enseignants pour leur soutien inestimable.*

A tous ceux qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect.

Dédicaces

A mes très chers parents, mon plus grand souhait est que vous soyez fier de moi. Que dieu vous garde, vous protège et vous procure longue vie.

A mes frères et sœur, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite

*A mon binôme **soufiane** pour son soutien moral, sa patience et compréhension tout au long de ce travail*

*A toutes mes chères collègues, **Hicham, charef, houssine, habibe, zinou.***

Walid

Dédicaces

A mes très chers parents, mon plus grand souhait est que vous soyez fier de moi. Que dieu vous garde, vous protège et vous procure longue vie.

A mes frères et sœur, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite

*A mon binôme **walid** pour son soutien moral, sa patience et compréhension tout au long de ce travail*

*A toutes mes chères collègues, **Hicham, charef, houssine, habibe, zinou.***

Soufiane

Résumé

Lepidium sativum de la famille *Brassicaceae*, est utilisé pour traiter les états inflammatoires tels que l'arthrite. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* sur le modèle de l'inflammation aigüe de l'œdème de la patte de souris induit par la Carragénine. Et pour confirmer cette activité, une étude histopathologique a été réalisée à la fin de l'expérimentation. La toxicité aigüe évaluée sur les souris a montré que l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* n'induit aucun effet toxique à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel. Des souris NMRI ont été sélectionnées et des expériences ont été menées dans trois groupes. Le groupe aux doses thérapeutique (150 et 300mg/kg), le groupe standard et le groupe témoins. Dans l'œdème de la patte induit par la Carragénine 1%, l'extrait à l'essai a produit une activité anti-inflammatoire modérée, le pourcentage d'inhibition du volume de l'œdème avec l'extrait testé à 300 mg/kg et du Diclofénac (50mg/kg) à la 5^{ème} heure ont été respectivement 86.85% et 83.49%. De ce fait, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* semble être plus efficace que celui de standard (Diclofénac). Cependant, l'effet n'a pas montré d'activité statistiquement significative en raison de la variation des données du groupe standard. Une étude histopathologique porté sur le tissu cutanée de la patte des souris confirme l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*.

Mots clés : *Lepidium sativum*, anti-inflammatoire, *in vivo*. Carragénine, Diclofénac.

Abstract

Lepidium sativum of the *Brassicaceae* family, is used to treat inflammatory conditions such as arthritis. The purpose of this study is to evaluate the *in vivo* anti-inflammatory activity of the *Lepidium sativum* seed hydromethanolic extract on the model of acute inflammation of the mouse foot edema induced by Carragenan. And to confirm anti-inflammatory activity a histopathological study was carried out at the end of the experiment. The acute toxicity assessed on mice showed that the hydromethanolic extract of *Lepidium sativum* seeds produced no toxic effects at 300 mg/kg body weight. NMRI mice were selected and experiments were conducted in three groups, the therapeutic dose group (150 and 300mg/kg), the standard group and the control group. In the 1% Carragenan-induced leg edema, the test extract produced moderate anti-inflammatory activity, the percentage inhibition of edema volume with the 300mg/kg extract tested and Diclofenac (50mg/kg) at the 5th hour was 86.85% and 83.49%, respectively. As a result, the anti-inflammatory effect of the *Lepidium sativum* seed hydromethanolic extract appears to be more effective than that of standard (Diclofenac). However, the effect did not show statistically significant activity due to the variation in standard group data. A histopathological study carried out on the skin tissue of the mouse paw confirms the anti-inflammatory effect of the hydromethanolic extract of the seeds of *Lepidium sativum*.

Key words : *Lepidium sativum*, Anti-inflammatory, *in vivo*, Carragénane, Diclofénac.

ملخص

Lepidium sativum من عائلة *Brassicaceae* ، يستخدم لعلاج الأمراض الالتهابية مثل التهاب المفاصل ، والغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهابات في الجسم الحي للمستخلص الهيدروميثانولي لبذور *Lepidium sativum* على نموذج الالتهاب الحاد في وذمة قدم الفأر الناتج عن كاراجينين. ولتأكيد النشاط المضاد للالتهابات ، أجريت دراسة نسيجية في نهاية التجربة.

تم اختيار الفئران وأجريت تجارب في ثلاث مجموعات ، مجموعة الجرعة العلاجية (150 و 300 ملغ / كلغ) ، المجموعة القياسية ومجموعة المراقبة. في وذمة الساق المستحثة بكاراجينين بنسبة 1% ، أنتج مستخلص الاختبار نشاطاً معتدلاً مضاداً للالتهابات ، وكانت نسبة تثبيط حجم الوذمة مع مستخرج 300 مغ / كغ وديكلوفيناك (50 مغ / كغ) في الساعة الخامسة 86.85% و 83.49% ، على التوالي. نتيجة لذلك ، يبدو أن التأثير المضاد للالتهابات في مستخلص الهيدروميثانول يكون أكثر فاعلية من تأثير المعيار (ديكلوفيناك). ومع ذلك لم يُظهر التأثير نشاطاً ذي دلالة إحصائية نظراً للاختلاف في بيانات المجموعة القياسية. أظهرت السمية الحادة التي تم تقييمها على الفئران أن المستخلص الهيدروميثانولي لم ينتج عنه أي آثار سامة عند الجرعة 300 مغ / كغ من الجسم. تؤكد دراسة نسيجية أجريت على أنسجة جلد مخالب الفأر على التأثير المضاد للالتهابات لمستخلص الهيدروميثانولي .

الكلمات المفتاحية: *Lepidium sativum*، المضاد للالتهابات، الجسم الحي، ديكلوفيناك، كاراجينين

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographiques

Chapitre I : L'inflammation

I.1. La Peau	3
I.1.1. Structure de la peau	3
a. L'hypoderme	3
b. Le derme	3
c. L'épiderme	4
d. La jonction dermo-épidermique	4
I.1.2. Particularités de la peau de souris	5
I.2. Inflammation	5
I.2.1. Inflammation aiguë	6
I.2.2. Inflammation chronique	7
I.3. Cellules impliquées dans l'inflammation	7
I.4. Médiateurs de l'inflammation	8
I.5. Anti-inflammatoires	9

Chapitre II : Phytothérapie

II.1. Phytothérapie	12
II.2. Différents types de la phytothérapie	12
II.3. Les avantages de la phytothérapie	13
II.4. Limites et risques de la phytothérapie	13
II.4.1. Toxicité intrinsèque des plantes	13
II.4.2. Effets indésirables	13
II.5. Les plantes médicinales	14
II.5.1. Parties de plantes médicinales utilisées	14
II.6. Conseils et préparation des plantes médicinales	15
II.6.1. La récolte des plantes	15
II.6.2. Séchage et conservation des plantes	16

II.6.3. Les différentes modes de préparation des plantes	17
--	----

Chapitre III : *Lepidium sativum*

III.1. <i>Lepidium sativum</i> Linn de la famille Brassicaceae	19
III.2. Origine et répartition géographique du <i>L. sativum</i>	19
III.3. Classification taxonomique du <i>L. sativum</i>	20
III.4. Description de la plante (<i>L. sativum</i>)	20
III.5. Composition phytochimique	21
III.6. Utilisation thérapeutique	22

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

Objectif	24
I.1. Matériels et méthodes	24
I.1.1. Matériels	24
I.1.1.1. Matériel biologique	24
I.1.1.2. Drogue végétale	24
I.1.2. Méthode	24
I.1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHM)	24
I.2. Activité anti-inflammatoire	25
I.2.1. Test de toxicité	25
I.2.1.1. Principe	25
I.2.1.2. Protocole	26
I.2.2. Prétraitement par l'extrait	26
I.2.2.1. Induction de l'inflammation	26
I.2.2.2. Injection de la Carragénine	27
I.2.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	27
I.3. Analyses statistiques	28
I.4. Etude histologique	28
I.4.1. Echantillons	28
I.4.2. Méthodes	28
I.4.2.1. Fixation	28
I.4.2.2. Décalcification	28
I.4.2.3. Macroscopie	29
I.4.2.4. Imprégnation (Circulation)	29

I.4.2.4.1. Post fixation	29
I.4.2.4.2. Déshydratation	29
I.4.2.4.3. Substitution	29
I.4.2.4.4. Imprégnation	30
I.4.2.5. Inclusion (Enrobage)	30
I.4.2.6. Microtomie	30
I.4.2.7. Déparaffinage	31
I.4.2.8. Réhydratation	31
I.4.2.9. Coloration	31
I.4.2.10. Montage	32
I.4.2.11. Préparation des plateaux de lecture	32
I.4.2.12. Examen microscopique	32

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Test de toxicité	33
II.2. Effet de l'extrait hydro-méthanolique des graines de <i>Lepidium sativum</i> sur l'œdème inflammatoire de la patte de souris induite par la Carragénine	34
II.2.1. Le pourcentage d'augmentation des groupes : témoin, standard, dose1, dose2	34
II.2.1.1. Le pourcentage d'augmentation des groupes : standard, dose1 (150 mg/kg), dose2 (300 mg/kg)	36
II.2.2. Le pourcentage d'inhibition des groupes : standard, dose1 150mg/kg, dose2 300mg/kg	37
II.3. Etude histologique	38
II.3.1. Histologie de tissu cutané œdémateux (témoin)	38
II.3.2. Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec le Diclofénac	40
II.3.3. Histologie du tissu cutané chez les souris traité avec l'extrait hydro-méthanolique des graines de <i>Lepidium sativum</i>	42
Discussion	44
Conclusion & perspectives	47

Référence bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Coupe anatomo-histologique d'une peau saine	5
Figure 02 : L'inflammation aiguë	6
Figure 03: Rendement des extraits d'alcaloïdes totaux en fonction de la température de séchage	17
Figure 04: Aspect morphologique de <i>L. Sativum</i>	21
Figure 05 : organigramme d'extraction hydro-méthanolique	25
Figure 06: L'administration des extraits par voie orale	26
Figure 07: Injection sub-plantaire de la Carragénine	27
Figure 08: Réalisation des fragments et l'introduction dans des cassettes d'inclusion.....	29
Figure 09 : Déshydratation, substitution et paraffinage	30
Figure 10: Inclusion des pièces avec de la paraffine	30
Figure 11: Microtome	31
Figure12 : Coloration des lames.....	32
Figure.13 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec le Diclofénac et les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparant aux souris témoins	35
Figure14 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac	36
Figure15 : Pourcentage d'inhibition du volume de la patte chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac	37
Figure 16 : Aspect microscopique de la peau chez les souris témoins (coloration hématoxyline + éosine ×40)	39
Figure17 : Aspect microscopique de la peau chez les souris traitées avec le Diclofénac (coloration hématoxyline + éosine ×40)	41
Figure 18 : Aspect microscopique de la peau chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique (Coloration hématoxyline + éosine ×40)	43

Liste des tableaux

Tableau 01 : Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire	8
Tableau 02 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire	9
Tableau 03 : Test de toxicité au dose 300 mg/ Kg de P.C de l'extrait hydro-méthanolique des graines de <i>Lepidium sativum</i> au cours des 24 heures.....	33

Abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien.

AUG : Augmentation.

COX : Cyclooxygénase.

EHM : Extrait hydro-méthanolique

HPLC : Chromatographie en couche mince haute performance.

INH : Inhibition.

iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible.

L.sativum : Lepidium sativum.

NO : Monoxyde d'azote.

OECD : Organisation de la coopération Economique et Développement

OMS : Organisation mondial de la santé

ONAB : Office national des aliments de bétails

PAF : Facteur d'activité plaquettaire

P.C : Poids Corporelle

PNN : Polynucléaires neutrophiles

ROS : Réactive oxygène species

Introduction

Introduction

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme, ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme dans des pathologies auto-immunes (**Calder et al., 2009**). Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Cependant, l'utilisation de substances pharmaceutiques anti-inflammatoires est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables (**Chiolero et al., 2000**). Alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère bénéfiques, utile et sans effets secondaires. La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. En Algérie, les plantes ont une importance dans la médecine traditionnelle.

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (**Baba-Aissa, 2000**). La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxique, est très ancienne (**Sévenet et Totor, 1994**).

Beaucoup des remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples (**Bremness , 1998**).

Les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie des médicaments et des produits de soins (**Hans, 2007**). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y'a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS (organisation mondiale de la santé) plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problème de la santé (**Farnosworth et al., 1986**).

Les plantes médicinales constituent une importante composante de la médecine traditionnelle largement utilisées depuis des milliers d'années à travers le monde ; plusieurs plantes sont utilisées seules ou en association avec d'autres plantes pour le traitement de maladies inflammatoires. En effet sur les 300 000 espèces végétales

recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (Millogo *et al.*, 2005).

Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement riches, elles contiennent de structures chimiques complexes. Le métabolisme des plantes contient de milliers de différents constituants dont l'effet thérapeutique n'est évidemment pas lié à tous les composés, de même pour ce qui est d'effet nocif ou toxique (Ahmed *et al.*, 2004).

Le choix de la plante a été basé sur leur utilisation fréquente dans les traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir le patrimoine national.

Lepidium sativum (Brassicacées) est une plante annuelle à croissance rapide. L'origine exacte de *L. sativum* est inconnue, mais on pense qu'il provient principalement de la région montagneuse de l'Éthiopie et de l'Érythrée, tandis que le sud-ouest de l'Asie et l'Europe occidentale sont considérées comme des centres secondaires d'origine, mais elle est maintenant cultivée dans l'ensemble du monde. Ces jeunes feuilles sont consommées crues ou cuites, tandis que ses graines sont utilisées, fraîches ou séchées (Facciola et Cornucopia, 1990). La pâte graines est appliquée aux articulations rhumatismales pour soulager la douleur et gonflement. Les graines sont aussi utilisées pour traiter les maux de gorge, la toux, l'asthme et les maux de tête, et les maux d'estomac (Datta *et al.*, 2011).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont l'objectif essentiel consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique de *Lepidium sativum* et pour confirmer l'effet anti inflammatoire une étude histopathologique a été réalisée.

Cette étude comporte deux parties, la première est une étude bibliographique entamant trois chapitre : l'inflammation, la phytothérapie et la présentation de la plante choisie *Lepidium sativum*.

La seconde partie est l'étude expérimentale, elle traite le procédé d'extraction hydro-méthanolique suivie d'une évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Lepidium sativum in vivo* par les mesures du pourcentage de l'augmentation, de l'inhibition de l'œdème analysées statistiquement et d'une étude histologique. Ces aboutissement sont développés et décortiqués par une discussion et finalisés par une conclusion.

Partie
bibliographique

Chapitre I

L'inflammation

I.1. La Peau

Plus vaste organe du corps humain, avec une surface d'environ 2 m² pour un poids moyen représentant 15 % du poids total d'un adulte, la peau assure un rôle essentiel de barrière vitale vis-à-vis de l'environnement extérieur. La lumière, les produits chimiques, les pathogènes ou même les contacts mécaniques sont autant d'agressions qui doivent être arrêtées par cette fine enveloppe. Elle est également en première ligne de défense pour protéger le corps de la déshydratation et joue un rôle dans la thermorégulation. Grâce à la présence de nombreux récepteurs sensitifs, la peau est aussi un site important de perception sensorielle, pouvant réagir à différents stimuli tactiles, thermiques ou douloureux (**Gudjonsson, 2007**).

I.1.1. Structure de la peau

La peau humaine est constituée de trois couches tissulaires principales superposées et communicantes, de la plus profonde à la plus superficielle (**Fig.1**) : l'hypoderme, le derme et l'épiderme séparés par la jonction dermo-épidermique.

a. L'hypoderme : c'est la couche la plus profonde et la plus épaisse de la peau. L'hypoderme est un tissu fibro-adipeux essentiellement composé d'adipocytes, cellules spécialisées dans le stockage des lipides, regroupés en lobules et séparés par du tissu conjonctif. Il joue le rôle d'isolant thermique, de réserve énergétique et de protection contre les chocs (**Guttormsen et al., 2008**).

b. Le derme : c'est un tissu conjonctif innervé et vascularisé d'origine mésenchymateuse constitué principalement d'eau et de fibres protéiques noyées dans un gel réticulaire de mucopolysaccharides et protéoglycanes. Il joue un rôle majeur dans la nutrition, le soutien et la protection de l'épiderme et des annexes cutanées, mais est aussi impliqué dans la thermorégulation, la cicatrisation et la défense contre les pathogènes grâce à la présence de cellules immunitaires (cellules dendritiques du derme, macrophages et lymphocytes T). La partie superficielle du derme s'invagine à la jonction avec l'épiderme sous forme de papilles dermiques, augmentant la surface de contact avec l'épiderme et permettant une meilleure adhésion entre ces deux couches. Les papilles dermiques contiennent les fibres nerveuses, qui peuvent pénétrer la lame basale pour aller innerver l'épiderme ou être reliées à de véritables corpuscules nerveux dans le derme jouant le rôle de mécanorécepteurs tactiles. Les papilles

dermiques sont également composées de vaisseaux sanguins, qui ne rentrent pas dans l'épiderme. Les cellules principales du derme sont les fibroblastes qui vont synthétiser deux types de fibres protéiques : les fibres de collagène et les fibres d'élastine, constituants de la matrice extracellulaire. La grande majorité des fibres présentes dans le derme sont des fibres de collagène (>90%) essentiellement de type 1 et 3, responsables de la résistance mécanique de la peau, alors que les fibres d'élastine, elles, participent à son élasticité. Au niveau du derme plus profond (derme réticulaire) ces fibres vont s'organiser parallèlement à la surface de la peau. On retrouve également à ce niveau des corpuscules nerveux, récepteurs des variations de pression, mais aussi des vaisseaux sanguins et les annexes cutanées : les follicules pileux, associés étroitement aux glandes sébacées et aux glandes sudoripares (**Guttormsen et al., 2008**).

c. L'épiderme : c'est un tissu épithélial pluristratifié d'origine ectodermique correspondant à la couche la plus externe de la peau. Une de ses principales fonctions est celle de barrière entre l'organisme et son environnement extérieur (**Guttormsen et al., 2008**).

d. La jonction dermo-épidermique : c'est une structure de 1 à 2 μm d'épaisseur constituée de nombreux complexes protéiques. Elle apparaît divisée en trois zones distinctes en microscopie électronique : la lamina lucida située immédiatement sous la membrane plasmique des kératinocytes basaux et dans laquelle on peut distinguer les filaments d'ancrage des hémidesmosomes, composés de collagène de type XVII; la lamina densa, plus profonde, constituée de filaments de collagène de type IV; et la sub-lamina densa, correspondant à la partie la plus superficielle du derme dans laquelle sont situées les fibrilles d'ancrage assurant la liaison mécanique entre le derme et la lame basale et principalement constituées de collagène de type VII. C'est une structure de jonction solide entre derme et épiderme, en perpétuel remaniement, et qui possède des fonctions de supports mécaniques et d'adhésion cellulaire. Elle permet les interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire et possède un rôle relatif de barrière, en limitant le passage de molécules et cellules entre derme et épiderme, ainsi qu'un rôle de filtration (absorption, échange de produits nutritifs, de déchets métaboliques...). Son intégrité est notamment indispensable à la cicatrisation cutanée (**Guttormsen et al., 2008**).

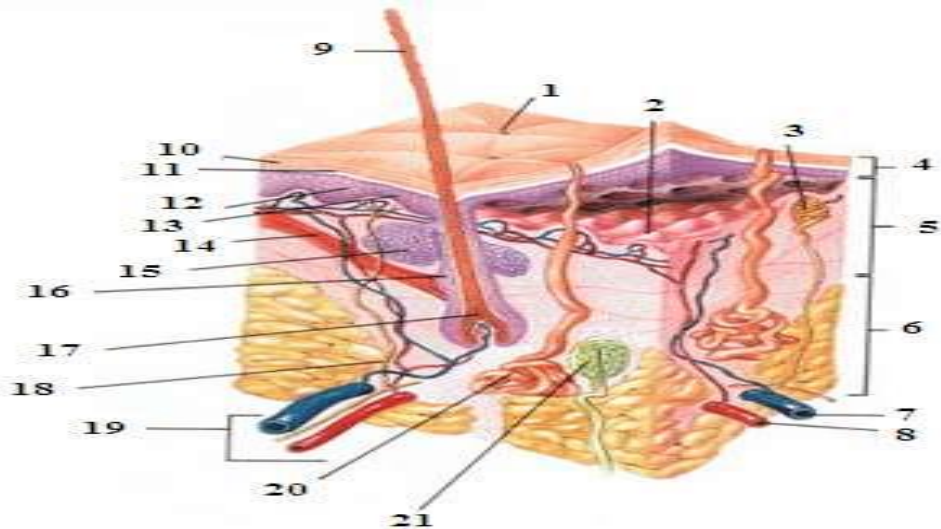


Figure 01 : Coupe anato-histologique d'une peau saine. 1- Pore de transpiration, 2- Jonction dermoépidermique, 3- Terminaison nerveuse (toucher), 4- Épiderme, 5- Derme, 6- Hypoderme, 7- Veine, 8- Artère, 9- Poil, 10- Couche cornée, 11- Couche pigmentée, 12- Kératinocytes, 13- Melanocytes, 14- Muscle arrecteur du poil, 15- Glande sébacée, 16- Follicule pileux, 17- Bulbe, 18- Nerf, 19- Système lymphatique et vasculaire, 20- Glande sudoripare eccrine, 21- Corpuscule de Pacini (Hatano et al., 2009).

I.1.2. Particularités de la peau de souris

La peau de souris adulte est beaucoup plus fine qu'une peau humaine, l'épiderme murin ne possède que 2 à 3 assises cellulaires en comparaison de 10 à 15 chez l'Homme. Elle est également pourvue de très nombreux follicules pileux et peut se déplacer sur le fascia musculaire sous-jacent. Les modèles murins sont très utilisés malgré les différences importantes que la peau de souris présente avec la peau humaine : épaisseur totale de la peau (400 μm pour les rongeurs contre 1400 μm pour l'Homme), épaisseur de l'épiderme (10 μm pour les rongeurs contre une centaine de μm pour l'Homme). Par ailleurs, la densité des follicules pileux 1000/ mm^2 pour les rongeurs contre 25/ mm^2 pour l'Homme (Hewett et al., 2005).

I.2. Inflammation

L'inflammation est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression par une infection pathogène, ou par un traumatisme (Rankin, 2004). Le but de l'inflammation est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de la persistance de l'agent pathogène dans le siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire (Ashley et al., 2012).

I.2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle est caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses, par une forte présence des polymorphonucléaires au niveau du foyer inflammatoire (Serhan et al., 2010). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë (Fig.2) sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé (Dorward et al., 2012).

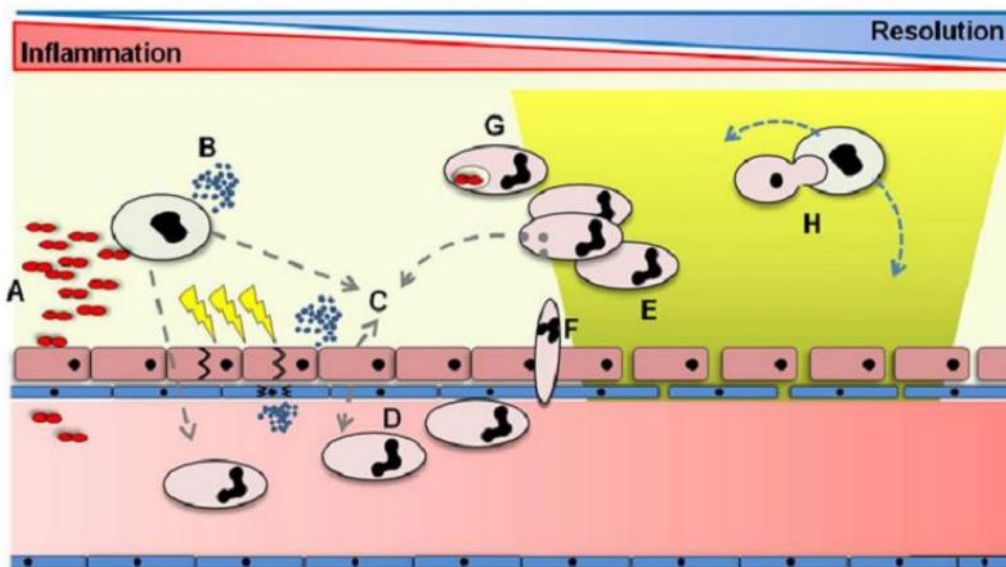


Figure 02 : L'inflammation aiguë. Le processus inflammatoire aiguë est déclenché par l'interaction d'organismes pathogènes (A), ou les produits tissulaires (B), avec des récepteurs de reconnaissance présents sur les cellules inflammatoires résidentes dans les tissus affectés et les cellules épithéliales environnantes. Cela conduit à la libération de différents médiateurs pro-inflammatoires (C) conduisant à l'activation des cellules endothéliales (D), de la perméabilité vasculaire (E), l'adhésion des neutrophiles, l'activation et la transmigration (F) ainsi l'activation des plaquettes et des monocytes, phagocytose (G) (Dorward et al., 2012).

L'inflammation aiguë se déroule en trois phases : la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de résolution. Des modifications vasculaires caractérisée par la tétrade classique ; douleur, rougeur, chaleur et tuméfaction, telles que l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire apparaissent au niveau du tissu enflammé. Ces modifications vasculaires permettent la migration des leucocytes hors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel et déclenche alors la phase cellulaire (Stevens, 2010).

Les polynucléaires sont les premières cellules qui migrent vers le site enflammé, pendant les 6 à 24 premières heures, puis un peu plus tard au-delà de 24 à 48 heures les monocytes et les lymphocytes sont recrutés. Elles se déplacent alors directement vers l'agent causal de l'inflammation, guidés par un gradient de concentrations de substances dites chimio-attractantes (**Wagner et Roth, 2000**). Arrivés au niveau du site inflammatoire, la phagocytose et la libération de différentes enzymes hydrolytiques (protéase, élastase et de collagénase....etc) des polynucléaires permettent la destruction de l'agent pathogène. Cependant, les macrophages permettent le nettoyage du foyer inflammatoire et l'élimination des débris cellulaires et tissulaires (**Male, 2005**).

La phase de réparation sera plus ou moins importante et son intensité est liée au degré de destruction cellulaire. Les macrophages ne complètent pas seulement l'action des polynucléaires neutrophiles, mais également jouent un rôle de présentateurs de l'antigène et de réparateurs. Au début, ce sont les cellules endothéliales qui vont réparer l'endothélium. Ceci est dû à diverses molécules telles que la collagénase I ou III. Si la destruction est plus importante, non seulement les macrophages vont participer, les fibroblastes en produisant la fibronectine, la laminine et du collagène est l'élément clef de reconstruction (**Gilroy et Lawrence, 2008**).

I.2.2. Inflammation chronique

La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique conduisent à la chronicité de l'inflammation (**Serhan et al., 2010**). En effet, une infiltration excessive des leucocytes au niveau du site inflammatoire et une mauvaise élimination de l'agent causal de l'inflammation sont à l'origine du développement de l'inflammation chronique (**Dorward et al., 2012**). L'inflammation chronique est également provoquée dans le cas de certaines maladies auto-immunes, et ainsi caractérisée par une longue durée (**Anzai et al., 2004**).

I.3. Cellules impliquées dans l'inflammation

Les polynucléaires neutrophiles (PNNs), représentent 50 à 70% des leucocytes circulants dans le sang (**Botting et Botting, 2000**). Ils constituent la première ligne de défense de l'organisme contre les agents infectieux et les substances étrangères

(Stevens, 2010). Les fonctions des différents leucocytes impliqués dans la réponse inflammatoire sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 01. Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire (Serhan et al., 2010).

Type cellulaire	Fonction basique dans l'inflammation
Neutrophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire, ont des propriétés phagocytaire et sont activés par des chimio-attracteurs dans le site de l'agression.
Mastocytes	Cellules phagocytaire, résidentes dans les tissus de connexions et dans les muqueuses libèrent de médiateurs inflammatoires (essentiellement anaphylactiques).
Basophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire et ont des propriétés phagocytaire. Interviennent dans les réactions allergiques.
Eosinophiles	Migrent vers le tissu extravasculaire où ils peuvent survivre plusieurs semaines. Ils ont des propriétés phagocytaires et interviennent dans les infections parasitaires.
Plaquettes	Source initiales de médiateurs inflammatoires et interviennent aussi dans la cascade de coagulation.
Monocytes	Se différencient en macrophages tissulaires, dans le foie, les poumons...où ils peuvent y survivre pendant des années. Ce sont de puissants phagocytes, ils sont impliqués dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et B et dans la libération des médiateurs inflammatoire.

Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre jouent un rôle important au cours de l'inflammation. Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post-inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (**Davoine et Lacy, 2014**).

Les fibroblastes de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase...etc.

Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (**Botting et Botting, 2000**).

I.4. Médiateurs de l'inflammation

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

inflammatoire (Rankin, 2004). Le tableau 2 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation.

Tableau 02. Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Davoine et Lacy, 2014).

Médiateurs	Origine	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
sérotonine	Mastocytes et plaquettes	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur d'activation plaquettaire (PAF)	Plaquettes, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule l'agrégation des plaquettes, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiale par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Prostaglandine	Essentiellement par les leucocytes	Vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Cytokines	Macrophages et les lymphocytes	Elle agissent sur des récepteurs membranaires, elle peuvent être pro-inflammatoire (IL- 1 β , IL-6, ou le TNF α) ou encore anti-inflammatoires (IL-10) intervient dans la réparation tissulaire.

I.5. Anti-inflammatoires

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (Das, 2011).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase (COX) (Ortega et al., 2014). Les AINS traditionnels inhibent les deux enzymes capables de synthétiser des prostaglandines : la COX-1 et la COX-2. Les prostaglandines produites par la COX-1 jouent surtout un rôle physiologique (en particulier la protection gastrique), alors que celles produites par la COX-2 sont surtout produites dans des conditions inflammatoires (Vonkeman et al., 2008).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes se sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune (Kessel et al., 2014).

L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables, le risque d'apparition de ces effets s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement. Conduisant à des troubles aigus tels que l'hypertension artérielle et l'ulcères gastro-duodénaux (Chung, 2014).

Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercées au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immunomodulateur des composés polyphénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire (Madhuri et al., 2008).

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

- **Curcuma longa (curcuma)** contient un pigment jaune appelé curcumine, un polyphénol qui inhibe la production de la prostaglandine E2 et l'expression de la cyclooxygénase 2. Le curcumine inhibe aussi l'expression des gènes de L'IL-6 et de L'IL-8 et diminue de manière dose dépendante la production de monoxyde d'azote (NO) et l'expression de

l'enzyme NO Synthase (NOS) inductible. Le curcumine inhibe également le facteur nucléaire kappa-B (Aggarwal et Sung, 2008).

- **Zingiber officinale (gingembre)** contient un grand nombre de constituants; gingerol, betacarotene capsaicin, acide caféique et curcumine, dont l'activité anti-inflammatoire est bien évidente. Les extraits du rhizome du gingembre sont de puissants inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines et des leucotrienes, comme ils inhibent la production du TNF- α en agissant sur l'expression des gènes (Setty et Sigal, 2005).
- **Baccharis trimera (Guayapi Tropical)**, une plante médicinale utilisée pour le traitement du rhumatisme. Elle contient un diterpénoïde qui montre une inhibition importante de la phospholipase A2 (Januário et al., 2004).
- **Arnica montana (Arnica)** est également très utilisée pour le traitement des œdèmes et des meurtrissures. Son effet anti-inflammatoire revient à ces sesquiterpènes lactones tel que le helenaline et le dihydrohelenaline qui inhibent l'activation du facteur de transcription du Facteur nucléaire kappa-B, impliqué dans la transcription de médiateurs proinflammatoires (Wiert, 2006).
- **Harpagophytum procumbens** est une plante issue de la médecine traditionnelle africaine. Son activité anti-inflammatoire a été largement investiguée *in vivo* et *in vitro*. Cette plante réduit significativement l'œdème de la patte induit par le Carragénine (Catelan et al., 2006). Elle inhibe la synthèse des eicosanoïdes, comme elle inhibe la production du TNF α par les monocytes humains. Elle réduit également la production de la myelopéroxydase par les neutrophiles et bloque la synthèse de la prostaglandine E2 (Setty et Sigal, 2005).

Chapitre II

Phytothérapie

II.1. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: Phuton et therapeia qui signifie respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Wichtl et Anton, 2003**), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

Nombreuse plantes contiennent des principes actifs qui peuvent avoir les mêmes propriétés que des médicaments de synthèse. Au contraire de l'allopathie qui utilise des principes actifs purs pour produire des médicaments, la phytothérapie utilise la plante ou ses extraits. Les plantes médicinales sont faciles à utiliser, seraient potentiellement efficaces et peu coûteuses. Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement (**Winters et al., 2003**).

II.2. Différents types de la phytothérapie (Zeghad, 2009)

- **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 radicules.
- **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapies 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, fruit, 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.

II.3. Les avantages de la phytothérapie

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, l'homme n'a pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (Botineau , 2011).

II.4. Limites et risques de la phytothérapie

II.4.1. Toxicité intrinsèque des plantes

Toute plante médicinale, dans les conditions normales de son utilisation, est susceptible de faire preuve d'effets secondaires en règle générale indésirables. Dans certaines circonstances, l'usage de plantes peut même être à l'origine d'intoxications. Parfois, ce sont des substances non végétales, contaminant des plantes ou des produits à base de plantes, qui peuvent présenter un risque pour la santé (Botineau , 2011).

II.4.2. Effets indésirables

Les effets indésirables induits par les plantes médicinales sont rares (La rousse ; 2001).

Posadzki et *al.* Ont publié en 2013 un article présentant une vue d'ensemble de 50 revues systématiques concernant 50 plantes médicinales différentes, en s'intéressant à leurs effets indésirables : la plupart des plantes médicinales évaluées dans ces revues systématiques étaient associées à des effets indésirables mineurs ou modérés. Il peut s'agir de réactions allergiques, de réactions cutanées type photosensibilisation, ou d'atteintes de différents organes tels que le tractus gastro-intestinal, le foie, les reins, le cœur, le système nerveux central, etc. Nous développerons successivement les réactions allergiques et la photosensibilisation, puis nous étudierons des exemples de plantes hépatotoxiques (ou à hépatotoxicité suspectée), cardiotoxiques et neurotoxiques.

II.5. Les plantes médicinales

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'elles ont des propriétés curatives, c'est-à-dire sont relatives au traitement médical d'une certaine durée ou à une méthode thérapeutique particulière.

D'après la définition donnée par l'OMS, une plante médicinale est une plante ou un de ses organes qui contient des substances qui peuvent être employées pour le but thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse d'autres drogues utiles et dont ces propriétés thérapeutiques sont prouvées scientifiquement ou de manière empirique par l'emploi en médecine traditionnelle. Cette guérison est due aux principes actifs que renferment ces plantes. Certes, on constate actuellement un retour vers la nature, un goût prononcé pour tout ce qui est «d'origine naturelle» mais le développement de la phytothérapie est dû à d'autres causes.

La thérapeutique pour les plantes médicinales a profité ces décennies des progrès de l'agronomie, de la chimie et de la pharmacologie. D'autres causes, la phytothérapie est concernée par la chimiothérapie. Des résultats ont été obtenus dans le domaine des analgésiques, des anesthésiques locaux, des tranquillisants, etc. Mais, il s'agit souvent d'une thérapeutique assez brutale, surtout utiles dans les affections aiguës.

La découverte des nouvelles propriétés pharmacologiques et l'extraction de nouveaux principes actifs ; tels que : les tanins, les saponines, terpènes, ...etc, ont également beaucoup contribué au développement de la médecine par les plantes, ces découvertes ont démontré qu'il y avait des nombreuses possibilités thérapeutiques dans le règne végétal alors que dans la chimiothérapie cela devient de plus en plus compliquée et n'apporte pas toujours les résultats espérés (**Amini, 2010**).

II.5.1. Parties de plantes médicinales utilisées

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par **Gurib-Fakim (2006)** :

Racine: Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues

Rhizome: Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.

Bulbe : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.

Tubercule: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse. Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille Hypoxidaceae) est un exemple bien connu.

Écorce: L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp., Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).

Bois: Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae.

Feuilles : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple : *Ginkgo biloba* de la famille Ginkgoaceae

Gommes : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains. Exemple (*Acacia Senegal*; *Terminalia bentzoe*).

Huiles essentielles : Exemple (*Mentha x piperita*; *Cananga odorata*).

Les parties aériennes: Toutes les parties de la plante qui se trouvent au-dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : *Hypericum perforatum* de la famille Hypericaceae.

Fleurs : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.

Fruits : Exemple (*Punica granatum* ; *Citrus* sp).

Graines : Exemple (*Ricinus communis*; *Foeniculum vulgare*).

II.6. Conseils et préparation des plantes médicinales

II.6.1. La récolte des plantes

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle. Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs.

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les auteurs de cette référence (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) ont proposés quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les Zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer.
- Dans la nature, un sac à dos (évitiez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- Récolter uniquement des plantes saines.

II.6.2. Séchage et conservation des plantes

- **Séchage**

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes.

Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (**Berton, 2001**).

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques tels que l'adsorption, l'absorption, la réfrigération et le séchage par évaporation (**Boulemtafes, 2011**).

Kémajou et al., 2012 ont évalué l'influence de la température de séchage sur les principes actifs (alcaloïdes totaux) de la plante médicinale *Alstonia boonei* wild, plante antipaludéenne. Ils ont trouvé que la teneur en alcaloïdes totaux est diminuée progressivement en fonction de la température de séchage des écorces (**Fig.3**). Cette diminution du rendement est en moyenne de 0,00091% par degré Celsius.

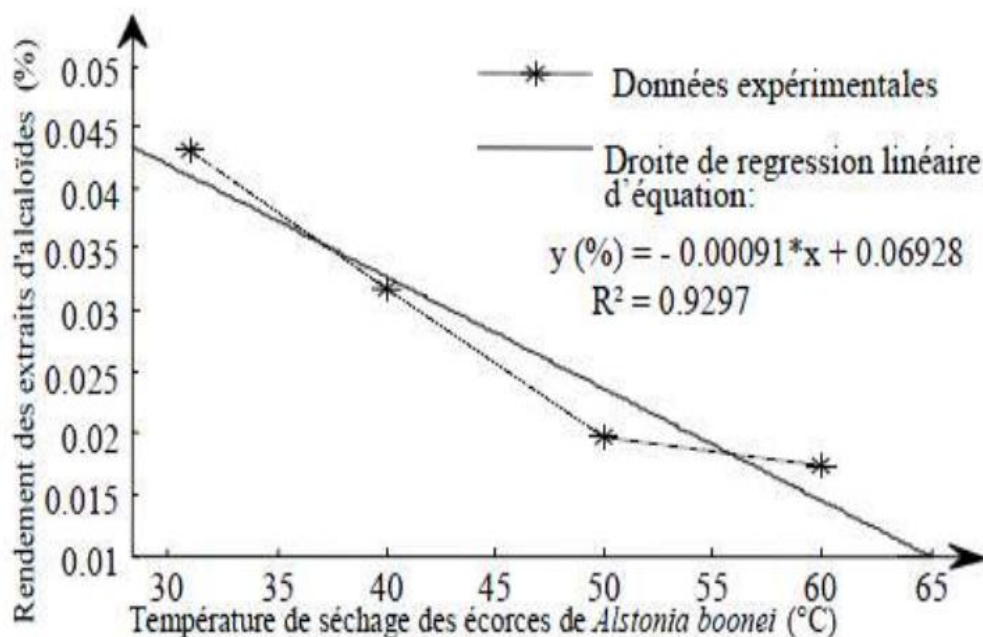


Figure 03: Rendement des extraits d'alcaloïdes totaux en fonction de la température de séchage (Kémajou et al, 2012).

• Conservation

Il existe diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'air ou au four (Larousse des plantes médicinales, 2001). Les plantes séchées sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papier, à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites (Berton, 2001). Ces dernières peuvent être conservées pendant une année dans de bonnes conditions. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue sensiblement et l'action thérapeutique disparaît. C'est pourquoi il faudra renouveler le stock de plants chaque année (Berton, 2001).

Il existe également d'autres méthodes pour la conservation des propriétés médicinales des plantes (Larousse des plantes médicinales, 2001) telles que l'aspiration de l'humidité des plantes par un déshumidificateur ou la congélation dans des sacs en plastique.

II.6.3. Les différents modes de préparation des plantes

Le mode de préparation d'une plante médicinale est la méthode d'extraction des principes actifs responsables d'action engendrant la guérissant. Il peut avoir un effet sur la quantité ces produits chimiques présents.

Les modes de préparation les plus courants sont : l'infusion, la décoction et la macération.

- **Infusion** : Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (**Sofowora, 2010**).
- **Décoction** : Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (**Pierre et Lis, 2007**).
- **Macération** : Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche **Konkon et al., 2006** afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion).

Chapitre III

Lepidium sativum

III.1. *Lepidium sativum* Linn de la famille Brassicaceae

Lepidium sativum Linn. (*L. sativum*) est une précieuse plante à des feuilles comestibles, un proche parent des plantes du genre Brassica (moutarde, colza et chou), représentants de la famille Brassicaceae (anciennement Cruciferae). Il a un goût caractéristique, chaud (piquant), et un arôme proche du poivre noir. Ses précieuses propriétés nutritionnelles ne sont conservées que pendant une courte période dans la phase des jeunes pousses (Michalczyk et al., 2011).

Dans certaines régions, *L. sativum* est connu sous le nom, de cresson de jardin (Garden Cress), cresson de poivre de jardin, herbe poivrée, poivre de mouton ou poivre de l'homme pauvre (Prajapati et al., 2014). Il est également connu dans les pays arabes sous le nom, de Rashad (Al-Yahya et al., 1994), ELRshad (Abuelgasim et al., 2008) ou Hab-Rchad (Chatoui et al., 2016) et comme Asaliyo ou Chandrasoor dans les langues locales en Inde (Prajapati et al., 2014).

III.2. Origine et répartition géographique du *L. sativum*

L'origine exacte de *L. sativum* est inconnue, mais on pense qu'il provient principalement de la région montagneuse de l'Éthiopie et de l'Érythrée, tandis que le sud-ouest de l'Asie et l'Europe occidentale sont considérées comme des centres secondaires d'origine. La culture de *Lepidium sativum* était déjà connue de l'antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Égypte. Il a été consommé en Perse avant même que le pain ait été connu. Actuellement, *L. sativum* ou le cresson est cultivé dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, l'Amérique du Nord et certaines parties de l'Europe. En Inde, il est cultivé presque tout au long couvrant différentes zones agro-climatiques (Prasad et al., 2012).

L. sativum peut être cultivé à toutes les altitudes, tout au long de l'année, mais la meilleure récolte est obtenue en hiver. Il a besoin de ressources agricoles minimales, il pousse bien dans les régions semi-arides et ne nécessite pas beaucoup d'engrais, ses graines peuvent être récoltées en 70-90 jours pour donner 800 – 1000 kg/ha (Diwakar et al., 2008).

III.3. Classification taxonomique du *L. sativum* (Raval, 2016)

Règne :	Plantae	plantes
Sous-règne :	Tracheobionta	Plantes vasculaires
Superdivision :	Spermatophyta	Spermatophytes
Division :	Magnoliophyta	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida	Dicotyledones
Sous Classe :	Dilleniidae	
Ordre :	Capparales	
Famille :	Brassicaceae	Famille de moutarde
Genre :	Lepidium	Herbes poivrées
Espèce :	Lepidium Sativum Linn	Cresson de jardin

III.4. Description de la plante (*L. sativum*)

L. sativum est une plante herbacée, dressée, de couleur plus ou moins glauque. Sa tige est glabre, finement striée, profusément ramifiée et pousse jusqu'à 50-80 cm d'hauteur (Wadhwa et al., 2012).

Les feuilles de *L. sativum* (Fig.4), sont alternes, irrégulièrement pinnées, d'environ 12 cm de long et 9 cm de large, avec des pétioles jusqu'à 4 cm de long; des folioles (5 - 11), en forme ovale ou obovale, pinnatisect, les lobes ultimes généralement irrégulièrement dentés, faiblement poilus au-dessus, glabres en dessous, feuillets de feuilles supérieures devenant peu à peu linéaires. Les feuilles supérieures sont généralement simples et linéaires, parfois lobées ou avec dents. Les feuilles basales ont de longs pétioles et une lyrate pinnatifide; Les feuilles culinaires sont lancéolées (Prajapati et al., 2014).

Les fleurs sont bisexuelles, régulières et tétramères: Pédicelle 1.5 - 4.5 mm de long, ascendant; 4 Sépales ovales, 1 - 2 mm de long ; 4 Pétales spatulés à griffe courte (Fig.4), jusqu'à 3 mm de long, blanc ou rose pâle; 6 Étamines, anthères habituellement violacées; Ovaires supérieurs, aplatis, aigus marginés, style jusqu'à 0,5 mm de long, stigma capitate (Prajapati et al., 2014).

Le fruit est une silique aplatie, ronde ou ovale, de 4-6 mm × 3-5,5 mm, de couleur vert pâle à jaunâtre, de marges en forme d'ailes, déhiscent par 2 valves, habituellement avec 2-semées ou graines (Prajapati et al., 2014).

Les **graines** de *L. sativum* sont petites, ovales, pointues et triangulaires à une extrémité lisse, d'environ 3-4 mm de long, 1-2 mm de large, de couleur brun rougeâtre (**Fig.4**). Un sillon présent sur les deux surfaces s'étendant jusqu'à deux tiers vers le bas et une légère aile comme extension présente sur les deux bords de la graine. En trempant dans l'eau la graine se gonfle et se recouvre d'un manteau transparent, incolore, mucilage avec goût mucilagineux (**Prajapati et al., 2014**).

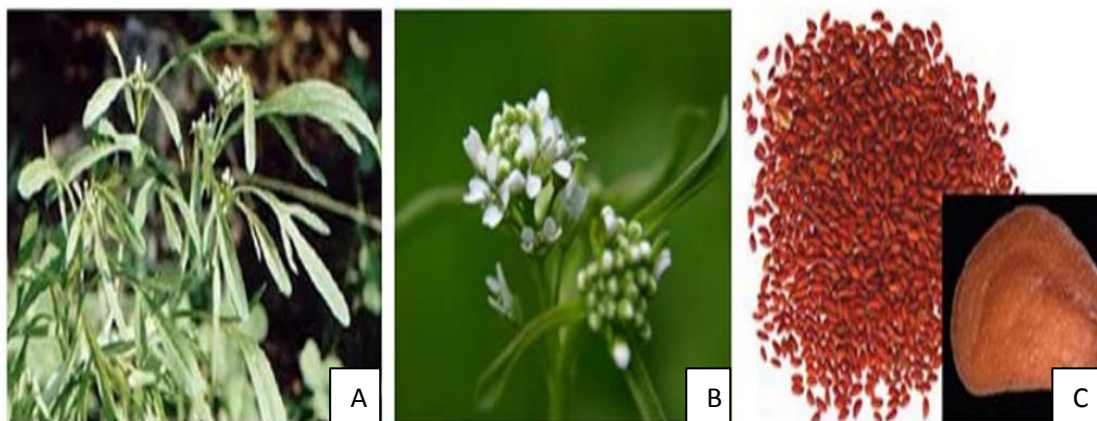


Figure 04: Aspect morphologique de *L. Sativum* (**Yahya et al.,1994**). A. feuilles ; B. fleurs ; C. Les graines

III.5. Composition phytochimiques

Des études phytochimiques sur les graines de *L. sativum*, ont révélé la présence d'alcoïdes, de glycosides, de stérols, de carotène, d'huile volatile et d'huile fixe.

- **Schultz et Gmelin (1952)**, ont isolé l'acide sinapique et la sinapine à partir de l'extrait méthanolique dégraissé des graines de *L. sativum*.

- **Maier et al. (1998)**, ont identifié sept alcaloïdes imidazoles: Lepidine B, C, D, E et F (dimères) et deux nouveaux alcaloïdes monomères semilepidinosides A et B, dans les graines de *L. sativum*.

- **Radwan et al. (2007)**, ont étudié les glucosinolates des graines de *L. sativum*. Ils ont signalé la présence de glucotropaeoline et de 2- phényléthyl glucosinolate également appelé gluconasturine.

- L'extraction d'huile fixe des graines de *L. sativum* avec de l'éther de pétrole, a donné un taux de (25,5%). Cette huile a été de couleur brune jaunâtre et contenant des acides gras saturés et non saturés, tels que l'acide palmitique (1,27%), stéarique (6.01 %), arachidique (1,54%), béhénique (1,73%), lignocérique (0,2%), oléique (61,25%) et

linoléique (28%). La matière insaponifiable est rapportée comme contenant du β -sitostérol et de l' α -tocophérol (Mali et al., 2007).

- **Nayak et al. (2009)** ont identifié et quantifié l'acide sinapique à partir de l'extrait méthanolique des graines de *L. sativum* par chromatographie en couche mince haute performance (HPLC). L'acide sinapique a été séparé sur une couche mince de gel de silice et déterminé par HPLC-photo densitomètre et a rapporté environ 0,47% d'acides sinapiques dans les graines de *L. sativum*.

- **Zia-Ul-Haq et al. (2012)** ont identifié des composés phénoliques dans les graines de *L. sativum* sur la base de leurs masses spectrales caractéristiques. La plupart de ces composés ont été des acides phénoliques à savoir, l'acide gallique, l'acide protocatechuique, l'acide coumarique, l'acide caféique, l'acide coumarique hexoside, l'acide caféique hexoside, l'acide ferulique hexoside, l'acide vanillique hexoside, l'acide caffeoylquinique et enfin l'acide coumaroylquinique. Les autres composés ont été, la quercétine, quercétine hexoside, kaempferol et kaempferol-glucuronide.

III.6. Utilisation thérapeutique

Au 8^{ème} siècle un docteur célèbre Hebn AL-Bautas a étudié les usages médicaux de *L. sativum* en détail et il a trouvé que cette plante augmente la faim et se débarrasser des vers de l'estomac (Wadhwa et al., 2012). Récemment, on a trouvé que chaque partie de *L. sativum* est utilisée pour divers traitements des maladies: Les graines sont appliquées dans une large gamme de fonctions biologiques et de maladies telles que la lèpre, les maladies de la peau et comme diurétique. Les racines sont utilisées dans le traitement de la syphilis secondaire et du ténésme. Les feuilles constituent un remède antibactérien et un traitement du scorbut et de l'hépatopathie (Karazhiyan et al., 2011).

Une étude récente des différentes régions d'Arabie saoudite a montré que les graines de *L. sativum* sont couramment utilisées comme fébrifuge, anti-rhumatismales, diurétiques et pour soulager les douleurs menstruelles et abdominales. Elles sont également utilisées pour le traitement et la guérison rapide des fractures osseuses (Al-Yahya et al., 1994).

En Asie du Sud, les graines de *L. sativum* sont utilisées comme médicament traditionnel pour traiter la bronchite, l'asthme et la toux. Elles sont considérées comme un remède abortif, diurétique, expectorant, antibactérien, stimulant gastro-intestinal, gastro-protecteur, laxatif et stomadique. Elles sont appliquées aussi pour soulager la douleur et l'enflure des articulations rhumatismales, dans le hoquet, la

dysenterie, la diarrhée et les maladies cutanées causées par les impuretés du sang. Les bonbons traditionnels pour les mères allaitantes sont préparés à partir des graines de *L. sativum* (Doke et Guha, 2014).

En Inde, la plante est considérée comme un remède contre l'asthme, la dysenterie, les saignements de piles et comme diurétique.

En Chine et dans d'autres pays d'Orient Extrême, les graines sont utilisées pour le traitement des coliques abdominales, de l'asthme, de la pleurésie et de l'hydropisie (Al-Yahya et al., 1994).

L. sativum est considérée comme l'une des meilleures plantes médicinales de divers pays africains où les graines sont mâchées pour guérir les maladies de la gorge, l'asthme, les maux de tête et sont utiles pour la diurèse et les troubles menstruels (Kloos, 1976).

Hartwell (1982) a signalé que les graines de *L. sativum* étaient un remède contre les tumeurs utérines, les polypes nasaux et le cancer du sein.

Partie

expérimentale

Chapitre I

Matériels & Méthodes

Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Lepidium sativum* sur le modèle de l'inflammation aigue de l'œdème de la patte de souris induit par la Carragénine. Et pour confirmer l'activité antiinflammatoire une étude histopathologique a été réalisée à la fin de l'expérimentation.

L'extraction a été effectuée au niveau de laboratoire de biochimie de l'université de Mostaganem, et l'étude histologique au niveau de laboratoire de recherche de pharmacognosie & Api- phytothérapie.

I.1. Matériels et méthodes

I.1.1. Matériels

I.1.1.1. Matériel biologique

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris femelles, souche NMRI dont le poids varie entre 26 g et 42 g, procuré aux prés de l'Institut Pasteur d'Alger. Ces souris sont utilisées après une période d'adaptation 15 jours. Ensuite, ils ont été installés dans des cages en plastique transparentes de longueur de 55 cm et de largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm aux conditions optimales d'hygrométrie, de température ambiante 25°C±5, de cycle nyctéméral (lumière/obscurité) de 12 h-12 h ,elle ont eu accès libre à l'eau et à la nourriture standard journalière 18 g/jour/souri fourni par l'Office National des Aliment de Bétails (ONAB) de Mostaganem. Les souris ont été répartis en 4 lots homogènes de 5 souris.

I.1.1.2. Drogue végétale

Les graines de *Lepidium sativum* L (Habb Errached) ont été achetées à partir d'une herboristerie à la wilaya de Mostaganem en 2019.

L'identification de la plante a été réalisée au niveau de laboratoire de protection des végétaux.

Les graines ont été séchées, pulvérisées et conservée jusqu'à leurs utilisations.

I.1.2. Méthode

I.1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHM)

L'extraction de la partie aérienne des graines de *L.sativum*, a été réalisée suivant la méthode de Markham (1982). Brièvement, 100 g de la matière sèche broyée de la plante ont été mis à une extraction dans un mélange hydro alcoolique (01 litre: 85% méthanol et 15% eau distillée). Le mélange est agité pendant une nuit à l'obscurité. Ensuite, il subit une filtration sous vide donnant à la fin, un raffinat (précipité) et un

filtrat 1 (**Fig.5**). Le raffinat est soumis à une deuxième extraction (01 litre: 50% méthanol, 50% eau) sous agitation pendant 04 heures. A l'issue de cette extraction et après le même procédé de filtration, un filtrat 2 a été récupéré et mélangé avec le filtrat 1. L'ensemble (filtrat 1+filtrat 2) est soumis à une évaporation rotative à 40 °C donnant par la suite ce qu'on appelle l'extrait hydro méthanolique.

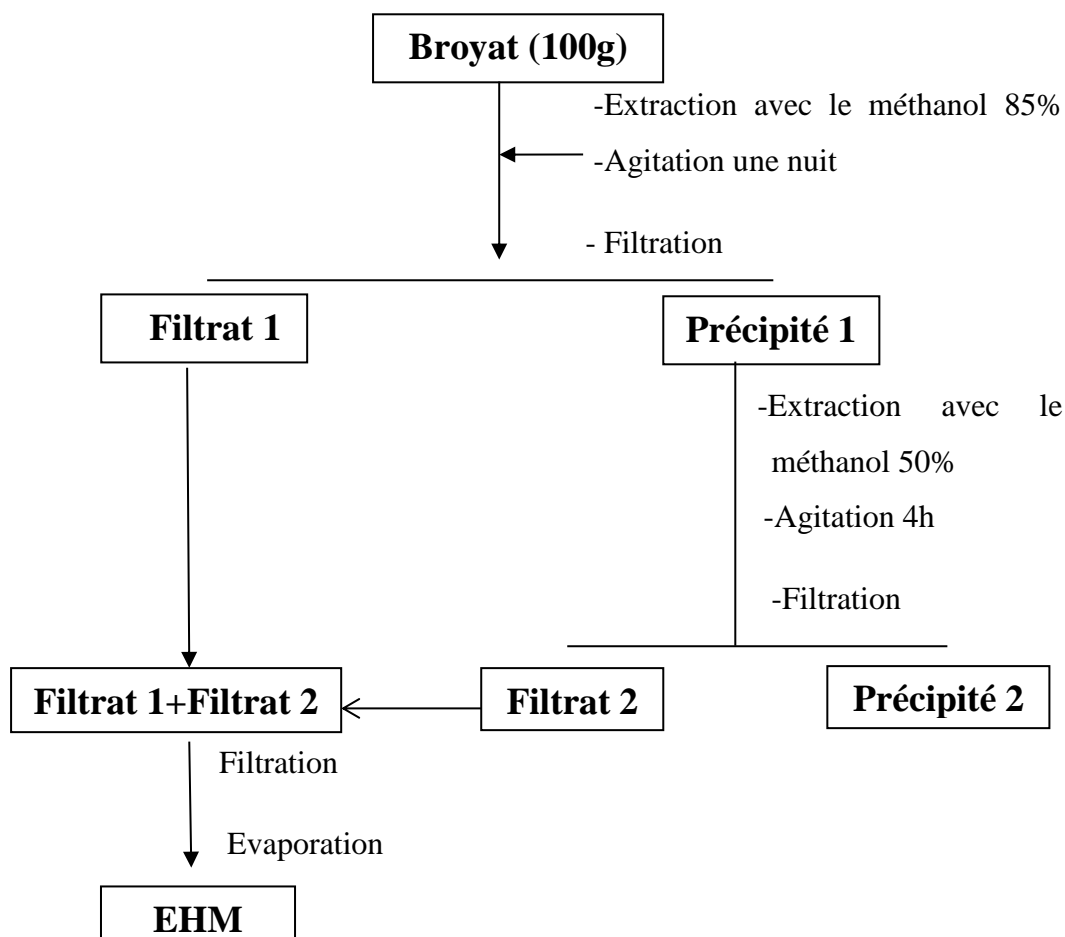


Figure 05 : organigramme d'extraction hydro-méthanolique (Markham,1982)

I.2. Activité anti-inflammatoire

I.2.1. Test de toxicité

I.2.1.1. Principe

Le test de toxicité aiguë de l'extrait a été réalisé selon la méthode décrite par l'Organisation de la coopération Economique et Développement (OECD) (**Ejebe et al., 2010**). Ce test consiste à administrer les doses expérimentales aux souris et observés pour toute manifestation de toxicité, augmentation dans l'activité, salivation, convulsion, coma et mort. Ces observations sont faites régulièrement pendant 24 heures (**Paschapur et al., 2009**).

I.2.1.2. Protocole

Le test a été réalisé sur un effectif de 5 souris pesant 37 ± 5 g réparties en un seul lot. Ces souris sont privées de nourriture et d'eau 12 heures avant la période d'expérimentation. Le lot reçoit par voie orale la solution test:

Lot (toxicité) : Reçoit l'extrait hydro-méthanolique à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel dissous dans du NaCl 0,9%.

I.2.2. Prétraitement par l'extrait

Une heure avant l'injection de la Carragénine, un effectif de 20 souris pesant 37 ± 5 g est divisé en quatre groupes, chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales (**Fig.6**) comme suit :

- **Groupe témoin (n=5)** : une solution de NaCl (0,9%).
- **Groupe standard (n=5)** : un anti-inflammatoire de référence Diclofénac (50mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9% à la dose 10ml/kg).
- **Groupe A Dose 1 (n=5)** : l'extrait hydro-méthanolique de *Lepidium sativum* (150mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%).
- **Groupe B Dose 2 (n=5)** : l'extrait hydro-méthanolique de *Lepidium sativum* (300mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%).



Figure 06: L'administration des extraits par voie orale.

I.2.2.1. Induction de l'inflammation

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

Des œdèmes au niveau des pattes de souris sont induits après injection sub-plantaire (intra-articulaire) d'une solution de Carragénine au niveau de la patte arrière droite des souris, une heure après l'administration des extraits par voie orale.

Les souris utilisées sont privées de nourriture et d'eau pendant 12 heures avant la période d'expérimentation.

I.2.2.2. Injection de la Carragénine

Une heure après l'administration des traitements, chaque animal reçoit par injection sub-plantaire dans la patte arrière droite, 0,1ml d'une suspension de Carragénine à 1% dissous dans du NaCl 0,9% (**Fig.7**).



Figure 07: Injection sub-plantaire de la Carragénine.

I.2.3. 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. L'évolution de l'œdème de la patte a été déterminée chaque heure jusqu'à 6 heures.

➤ 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. Il est donné par la formule suivante (Ndiaye *et al.*, 2006) :

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

D_n : diamètre de la patte la 1ère heure après l'injection de la Carragénine.

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

➤ **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 donné par la formule suivante (Ndiaye *et al.*, 2006) :

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

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

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

I.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne \pm SEM. Et analysés par le test t de Student. Les valeurs de $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$ ont été considérés comme significatifs (*), très significatifs (**) et hautement significatifs (***) respectivement.

I.4. Etude histologique

I.4.1. Echantillons

L'étude histologique a été réalisée à la fin des expérimentations au niveau du laboratoire de recherche de pharmacognosie & Api-phytothérapie. Après avoir anesthésiées les souris avec le chloroforme, les pattes ont été prélevées à la fin des expérimentations.

I.4.2. Méthodes

L'étude histologique est réalisée selon le protocole suivant (Marck, 2010) :

I.4.2.1. Fixation

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

I.4.2.2. 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 (90 ml de l'eau distillée + 10 ml de l'acide chlorhydrique), pendant 5 jours.

I.4.2.3. Macroscopie

- Réalisation des fragments pour chaque organe (**Fig.8**).
- Introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord (**Fig.8**).



Figure 08: Réalisation des fragments et l'introduction dans des cassettes d'inclusion.

I.4.2.4. Imprégnation (Circulation)

Pour durcir un tissu, son imprégnation par une matière rigide, lui donne la résistance mécanique voulue, afin d'obtenir des coupes de l'épaisseur désirée.

L'imprégnation repose sur la substitution de l'eau qui est dans les tissus par une substance totalement hydrophobe et chimiquement inactive, telle que la paraffine.

I.4.2.4.1. Post fixation

- Formol à 10%

I.4.2.4.2. Déshydratation

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

I.4.2.4.3. Substitution

- 1 bac de toluène durant 2 heures

I.4.2.4.4. Imprégnation

- 1 bac de paraffine à 70°C durant 1 heure (Fig.9).



Figure 09 : Déshydratation, substitution et paraffinage.

I.4.2.5. Inclusion (Enrobage)

Mise de la pièce prélevée dans un moule en acier (Fig.10) et son enrobage avec de la paraffine liquide. Une fois le bloc préparé, Il est stocké dans un congélateur (-20°C).



Figure 10: Inclusion des pièces avec de la paraffine.

I.4.2.6. Microtomie

Réalisation des coupes sur le bloc à l'aide d'un microtome (Fig.11). L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4 μm).

-Étalement et collage des coupes sur des lames de verre : l'étalement des coupes est effectué sur une plaque chauffante

-Séchage des lames : pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant l'étape de déparaffinage, les lames doivent être « cuites ». 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 à 58°C pendant 1 heure.



Figure 11: Microtome.

I.4.2.7. Déparaffinage

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

- 1 bac de toluène durant 10 min

I.4.2.8. Réhydratation

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

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

I.4.2.9. Coloration

- 1 bac d'hématoxyline de Harris durant 5-10 min.
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage.
- 1 bac d'eau acidifié, juste pour un trempage (2-3 gouttes d'acide chlorhydrique à 33% dans un bac d'eau).

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

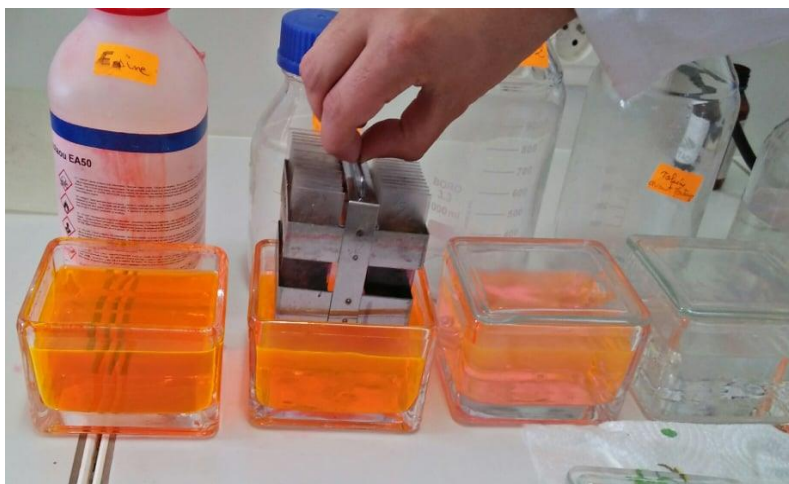


Figure12 : Coloration des lames.

I.4.2.10. 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.

I.4.2.11. Préparation des plateaux de lecture

Cette étape poste coloration consiste en une vérification rigoureuse de chaque lame avec son bloc d'origine et sa fiche de travail.

I.4.2.12. Examen microscopique

La lecture a été réalisée par un microscope photonique et chaque coupe est photographiée.

Chapitre II

Résultats & Discussion

II.1. Test de toxicité

L'administration orale de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* au dose de 300 mg/Kg P.C (**Tab.3**) aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigüe au cours des 24 heures d'observation (comportement des souris, mort, coma,...etc).

Tableau 03 : Test de toxicité au dose 300 mg/ Kg de P.C de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* au cours des 24 heures.

Dose	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot (300mg/kg de P.C)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

II.2. Effet de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* sur l'œdème inflammatoire de la patte de souris induite par la Carragénine

II.2.1. Le pourcentage d'augmentation des groupes : témoin, standard, dose1, dose2

L'administration de l'extrait hydro-méthanolique à la dose de 150 mg/kg prévient de manière significative ($p < 0,05$) l'œdème de la patte de souris induite par la Carragénine. Le pourcentage d'augmentation de l'œdème inflammatoire (**Fig.13**) de la patte est de $24,96 \pm 8,48$; $21,23 \pm 11,16$ et $13,43 \pm 10,70$ à la 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} heures respectivement, comparée au groupe témoin traité avec l'eau physiologique dont l'augmentation de l'œdème est de $41,61 \pm 7,86$, $38,15 \pm 7,59$ et $33,24 \pm 5,95$ respectivement. Par contre, le pourcentage d'augmentation a été très significative ($p < 0,01$) à la 5^{ème} heure de $6,03 \pm 9,33$ par rapport au témoin $23,36 \pm 6,74$. En revanche, la proportion d'augmentation a été hautement significative ($p < 0,001$) à la 6^{ème} heure $3,00 \pm 2,20$ comparativement aux souris témoin $18,59 \pm 7,30$.

A la dose de 300 mg/kg l'extrait hydro-méthanolique montre une meilleure prévention de l'œdème de la patte induite par la Carragénine comparée au témoin. Les pourcentages d'augmentation de l'œdème inflammatoire de la patte sont moins importants et hautement significative ($p < 0,001$) à partir de la 2^{ème} heure jusqu'à la 6^{ème} heure, ils sont de $14,17 \pm 6,12$ à $0,00 \pm 0,00$ par rapport au témoin $41,61 \pm 7,86$ à $18,59 \pm 7,30$ respectivement.

Concernant, les souris traitées avec le Diclofénac à 50 mg/kg, les valeurs révèlent une diminution hautement significative ($p < 0,001$) du % AUG à partir de la 3^{ème} heure jusqu'à la 6^{ème} heure $17,22 \pm 10,32$ à $1,64 \pm 2,81$ après l'injection de la Carragénine comparativement aux souris témoins $38,15 \pm 7,59$ à $18,59 \pm 7,30$. Cela authentifie l'action anti-inflammatoire de Diclofénac.

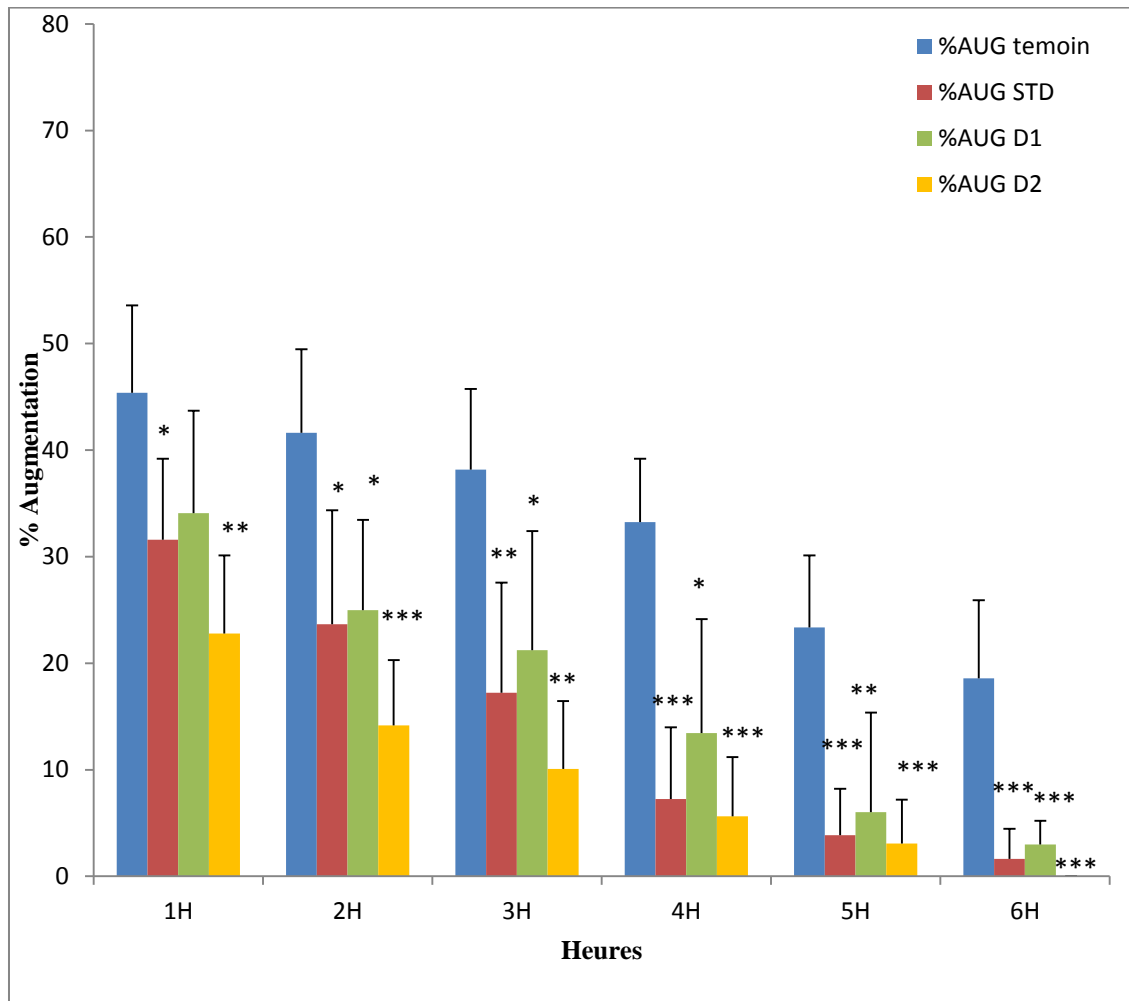


Figure.13 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec le Diclofénac et les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparant aux souris témoins.*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

II.2.1.1. Le pourcentage d'augmentation des groupes : standard, dose1 (150 mg/kg), dose2 (300 mg/kg)

Les pourcentages d'augmentation de l'œdème inflammatoire de la patte sont moins importants dans le groupe standard (**Fig.14**), ils sont de $31,58 \pm 7,61$ à $1,64 \pm 2,81$ comparativement au groupe traité avec la dose (150 mg/kg) qui est à $34,08 \pm 9,60$ à $3,00 \pm 2,20$. Par contre, il est plus élevé par rapport au groupe traité par la dose (300 mg/kg) $22,78 \pm 7,32$ à $0,00 \pm 0,00$ durant l'expérimentation.

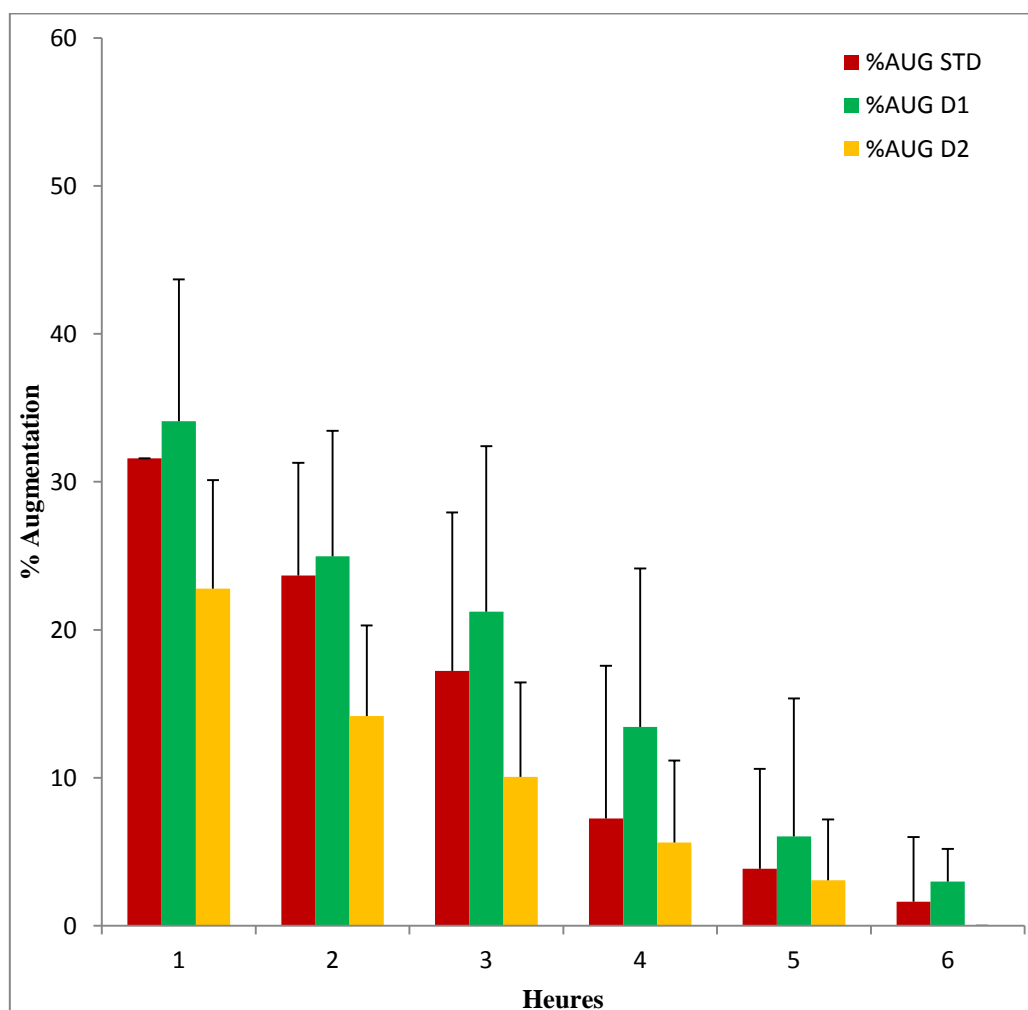


Figure14 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac.

II.2.2. Le pourcentage d'inhibition des groupes : standard, dose1 150mg/kg, dose2 300mg/kg

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* possède une activité anti-inflammatoire plus importante (Fig.15). Cependant une meilleure inhibition de l'œdème inflammatoire de la patte de souris a été observée chez le groupe standard $30,38 \pm 16,78$ à $91,17 \pm 15,16$ comparée au groupe traité par la dose (150 mg/kg) $24,87 \pm 21,16$ à $87,90 \pm 15,16$. Par contre, une inhibition moins importante a été distinguée par rapport au groupe traité par la dose (300 mg/kg) $49,78 \pm 16,14$ à 100 ± 00 .

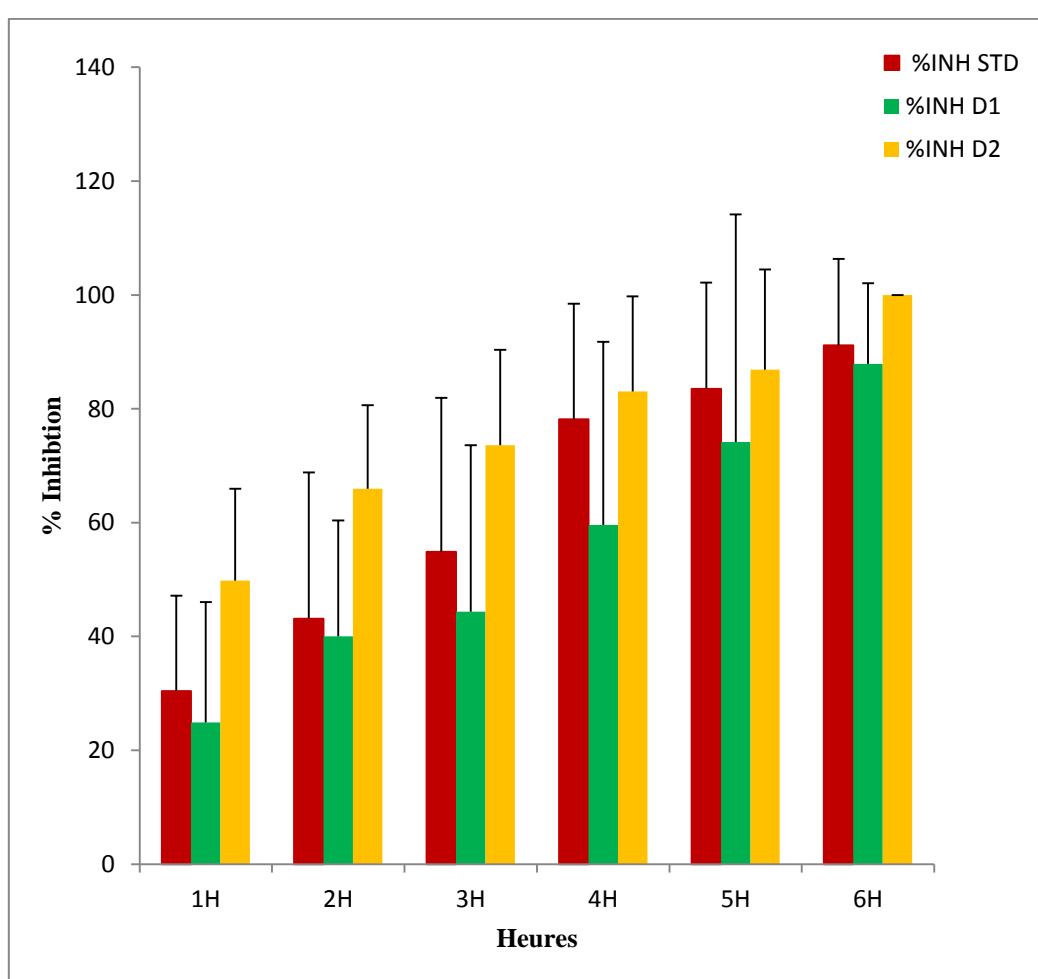


Figure15 : Pourcentage d'inhibition du volume de la patte chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg P.C comparativement aux souris traitées avec le Diclofénac.

II.3. Etude histologique

II.3.1. Histologie de tissu cutané œdémateux (témoin)

Ce lot représente des souris qui ont subi une injection de la Carragénine, provoquant ainsi une inflammation aigüe. L'examen histologique de la peau de ce groupe de souris révéla un tissu conjonctif lâche qui correspond à un œdème au niveau du derme profond avec infiltration des cellules inflammatoires (polynucléaires) au niveau du foyer lésionnel. Cette inflammation est accompagnée également d'une dilatation des capillaires avec congestion gorgée d'hématies (**Fig.16**).

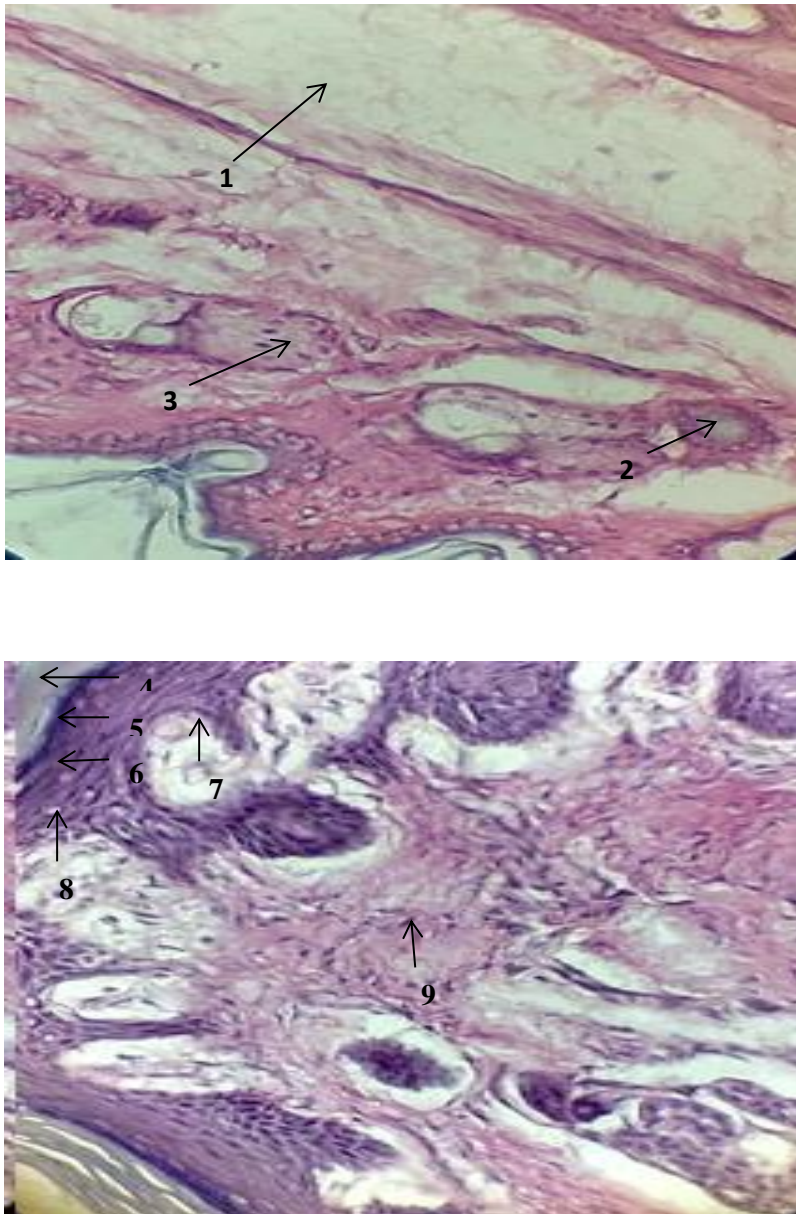


Figure 16 : Aspect microscopique de la peau chez les souris témoins (coloration hématoxyline + éosine $\times 40$). 1 : Œdème, 2 : Vaisseau congestionné, 3 : Glande sudoripare, 4 : Couche cornée ; 5 : Couche granuleuse, 6 : Corps muqueux, 7 : Couche basale, 8 : Kératinocyte, 9 : Fibroblaste.

II.3.2. Histologie du tissu cutané chez les souris traitées avec le Diclofénac

Les souris de ce lot ont reçu un prétraitement avec le Diclofénac (50 mg/kg) après avoir subi une induction de l'inflammation au niveau de la partie sub-plantaire de la patte. Ces souris d'expérimentation ont répondu positivement au traitement sur le plan macroscopique. Cependant l'aspect microscopique du tissu cutané démontre un œdème modéré au niveau du derme profond accompagné d'un léger infiltrat leucocytaire. On remarque également une dilatation discrète des capillaires avec atténuation des congestions (**Fig.17**).

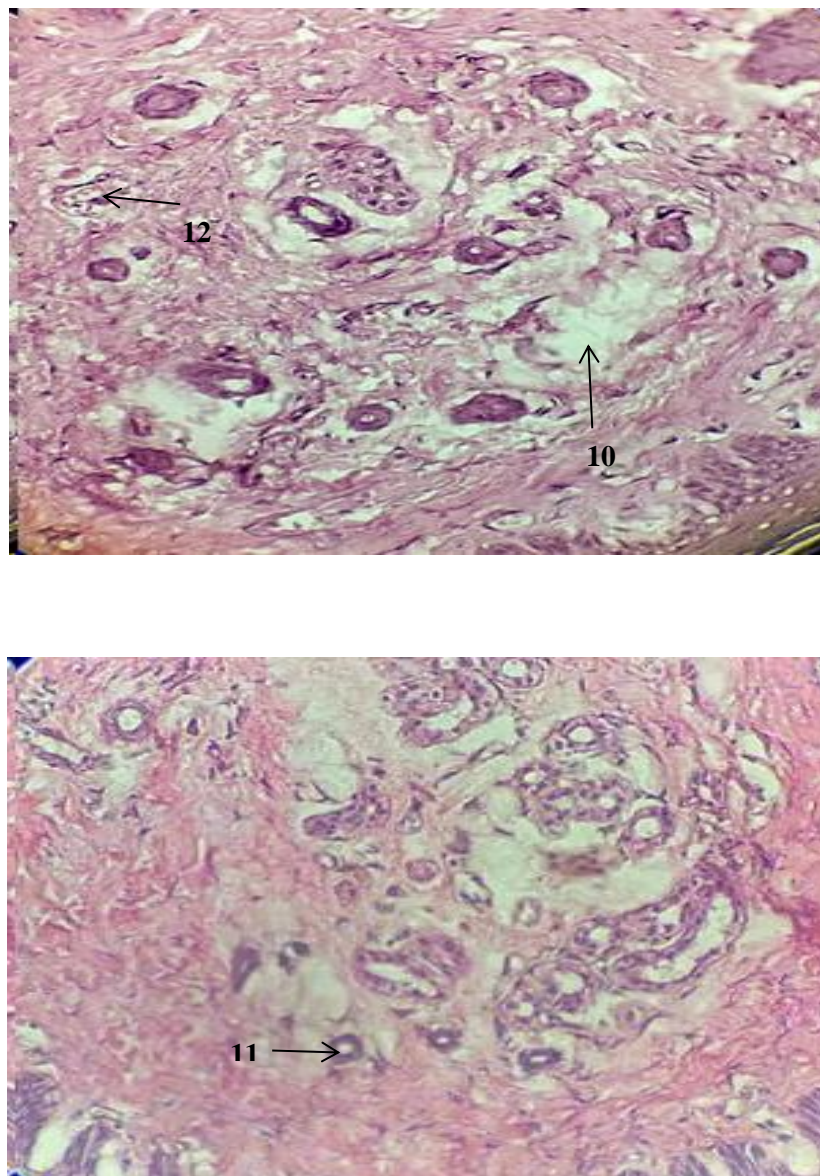


Figure17 : Aspect microscopique de la peau chez les souris traitées avec le Diclofénac (coloration hématoxyline + éosine $\times 40$). 10 : Œdème dispersé au niveau de derme profond, 11 : Vaisseau, 12 : Capillaire dilaté avec infiltrat leucocytaire.

II.3.3. Histologie du tissu cutané chez les souris traité avec l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*

L'étude histopathologique des tissus cutanés chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique révèle un aspect morphologique différent de celle des témoins. De plus, un tissu conjonctif rencontré chez les souris traitées avec la dose 150mg/kg, présente une apparence irrégulière altérée par un œdème dispersé discrètement au niveau du derme profond. Cette inflammation modérée est accompagnée par léger infiltrat leucocytaire pré-vasculaire avec une dilatation atténuée des capillaires sanguine. Néanmoins, cette morphologie anatomopathologique semble être moins sévère que celle retrouvée chez les souris témoins.

Par contre les souris traitées par la dose 300 mg/kg. Démontre un aspect de la peau proche de la normale, avec une manifestation de l'inflammation plus discrète que celle retrouvée chez les souris traitées avec le Diclofénac (**Fig.18**).

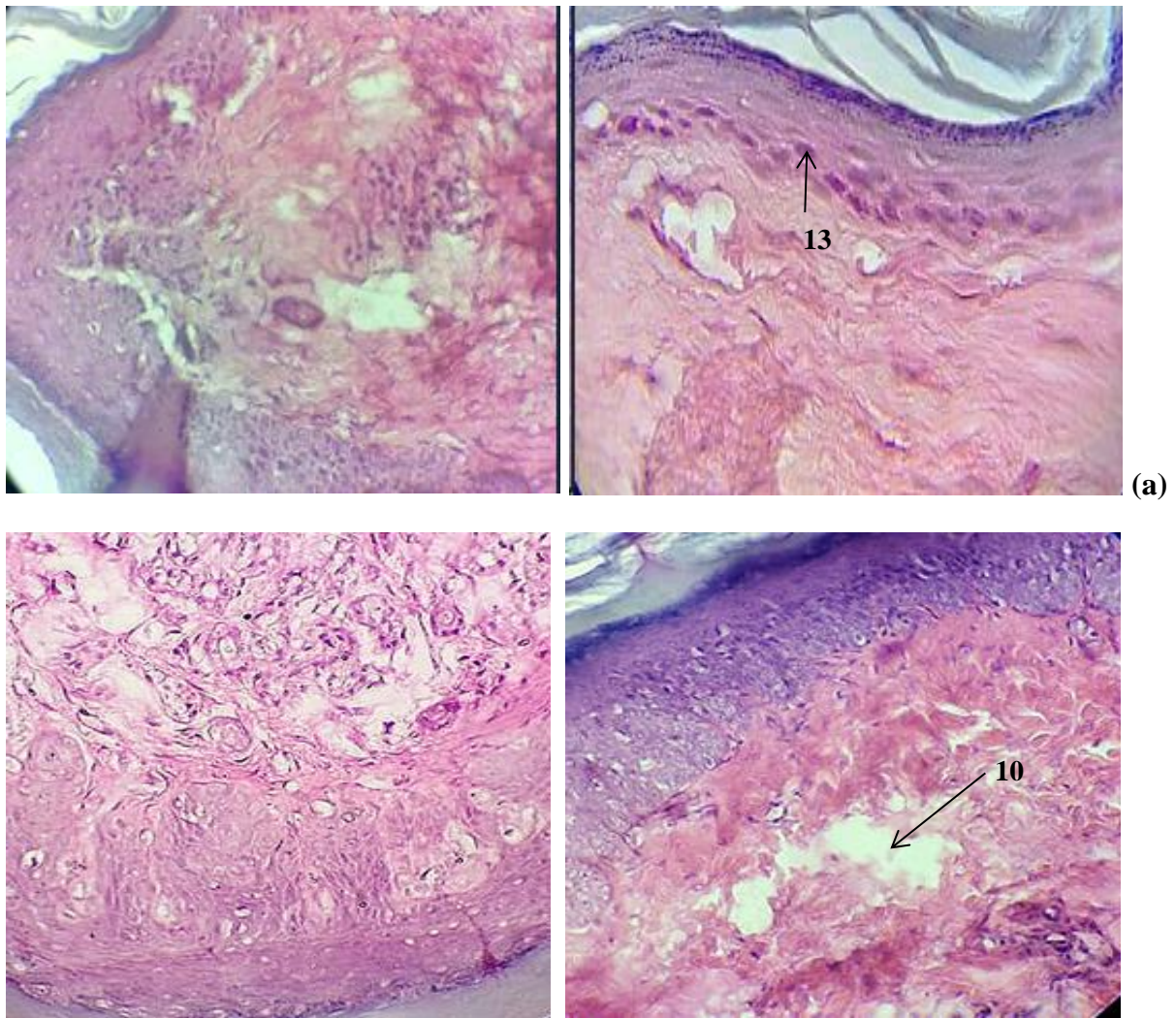


Figure 18 : Aspect microscopique de la peau chez les souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique (Coloration hématoxyline + éosine $\times 40$). **(a) :** 150 mg/kg **(b) :** 300mg/kg. 10 : Œdème dispersé au niveau de derme profond, 13 : Mélanocyte.

Discussion

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

L'extrait utilisé dans cette expérimentation est obtenu après macération de la plante médicinale *Lepidium sativum* dans une solution hydro- méthanolique permettant d'en extraire les molécules hydrophiles et lipophiles. Par opposition aux tisanes, les extraits de plantes offrent une reproductibilité bien plus importante, et permettent d'obtenir une concentration en principes actifs adaptée et standardisée (**Fougère et Wynn, 2007**). De plus, l'extraction est une étape importante impliquée dans la découverte de composés bioactifs à partir de matières végétales.

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire d'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*, dans un cadre d'expérimentation *in vivo* (souris de souche NMRI). Les paramètres qui ont été étudiés sont : les mesures du pourcentage d'augmentation, l'inhibition de l'œdème (AUG, INH) et l'étude histopathologique.

Avant l'expérimentation, *in vivo*, un teste de toxicité de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* a été réalisé avec la dose 300 mg/kg de P.C pendant 24 heures. Les résultats ne révèlent aucun troubles comportemental ni mortalité. Ce qu'il signifie que l'extrait testés est dépourvu de propriétés toxiques.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été basée sur l'estimation de l'œdème de la patte des souris induit par la Carragénine, selon la méthode de winter et al (1962). La Carragénine est un produit naturel qui provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied elle induit un maximum d'œdème à partir de la 3^{ème} heure qui suit son injection (**Elion Itou et al., 2014**). Se manifestant par un gonflement et une rougeur.

Un dépistage préliminaire de l'activité anti-inflammatoire a été réalisé avec l'œdème de la patte arrière induit par la carragénine chez la souris. L'extrait testé a produit une activité anti-inflammatoire modérée. De plus, l'effet n'a pas atteint un niveau statistiquement significatif en raison de la variation des données du groupe standard. Cet extrait possède donc un effet anti-inflammatoire. L'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* est observé à partir de là 3^{ème} heure. Des études antérieures ont montré aussi les effets anti-inflammatoires des graines de *Lepidium sativum*, ces résultats sont en concordance avec les travaux établis par **Nita et al (2013)**, **Al-Yahya et al (1994)**.

La pharmacopée concède à la plupart des composés phénoliques une activité anti-inflammatoire (Chika et al., 2012 ; Duru et al., 2013 ; Ibrahim et Fagbonun, 2013 ; Enrechi et Nwodo, 2014), ce qui confirme la présence des composé phénolique selon les travaux de Zia-Ul-Haq et al., (2012). Pour cela, on pourrait penser que l'activité anti-inflammatoire d'extrait des graines de *Lepidium sativum* serait due aux flavonoïdes et aux tanins qu'elles contiennent.

D'autre part, On considère que l'œdème de la patte de souris induit par la Carragénine représente la première phase de la réaction inflammatoire, qui se caractérise par une exsudation de liquide et de cellules. Un certain nombre de médiateurs phlogistiques tels que l'histamine, la sérotonine, la bradykinine et les prostaglandines ont été impliqués dans le développement de l'œdème induit par la Carragénine (Garcia et al., 2004).

Dans les conditions de notre étude, le pourcentage d'inhibition du volume de l'œdème avec l'extrait testé à 300 mg/kg et du Diclofénac à la 5^{ème} heure ont été respectivement 86.85% et 83.49%. De ce fait, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* semble être plus efficace que celui de standard (Diclofénac).

Les résultats obtenus dans l'étude histologique montre que l'injection de la Carragénine induit une réaction inflammatoire aigue. De plus, cet effet est plus important chez les souris non traitée (groupe témoin).

Ces résultats confirment ceux de **Rousselet et al (2005)**, qui montrent que l'inflammation aigue se traduit par trois phénomènes, la congestion active qui est représentée par une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Les petits vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématies, bordés d'un endothélium turgescent, l'œdème inflammatoire qui se traduit microscopiquement par un aspect pâle, peu colorable et distendu du tissu conjonctif. Cet œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine, et une diapédèse leucocytaire due à la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires, puis un peu plus tard les monocytes et les lymphocytes.

A propos de la patte des souris traitées avec le Diclofénac, leur examen histologique révèle une atténuation de l'œdème accompagné d'un léger infiltrat leucocytaire par rapport

aux souris non traitées. Ce qui prouve que les souris ont répondu positivement au traitement anti-inflammatoire.

Cependant cette atténuation de l'inflammation chez les souris standard reste plus prononcée comparativement aux souris traitées avec l'extrait hydro-méthanolique à la dose 300 mg/kg. Effectivement la dose thérapeutique présente un tableau morphologique de la peau le plus proche de la normale.

Les résultats histologiques confirment l'action anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*.

Conclusion

&

Prescriptives

Conclusion

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme, ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme dans des pathologies auto-immunes. Les réactions inflammatoires sont déclenchées dans le seul but de défendre l'organisme. Lorsqu'elles sont visibles, elles se manifestent classiquement par quatre signes cliniques : une rougeur, une douleur, une tuméfaction et une augmentation de la chaleur à leur niveau.

L'objectif de notre étude est d'une part de réaliser l'extraction d'un extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*, de déterminer la toxicité aiguë de cet extrait et de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique de *Lepidium sativum* à la dose de 150 et 300 mg/kg de poids corporel sur le modèle de la patte inflammatoire induit par la Carragénine.

Dans cette étude l'extrait des graines de *Lepidium sativum* a été obtenu par macération hydro-méthanolique.

La toxicité aiguë évaluée sur les souris a montré que l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* n'induit aucun effet toxique à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel.

Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire de cet extrait a été évaluée chez les souris modèle de la patte inflammatoire. Les résultats ont démontré également que l'extrait étudié présente une action anti-inflammatoire plus efficace que le Diclofénac.

L'extrait a produit une activité anti-inflammatoire modérée; toutefois, l'effet n'a pas atteint un niveau statistiquement significatif en raison de la variation des données du groupe standard.

De plus les résultats obtenus à partir de l'étude histopathologique confirment ceux obtenus par les mesures de l'œdème de la patte des souris.

L'aspect microscopique du tissu de la patte des souris traitées par le Diclofénac et l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* (150 mg/kg) présente une inflammation modérée par rapport aux souris non traitées (témoins). Toutefois, cette inflammation semble persistante et un peu plus accentuée comparativement aux souris traitées avec la dose 300 mg/kg de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*.

Donc, cette étude est préliminaire. Pour cette raison, des études complémentaires approfondies doivent être menées pour les fins suivantes :

- Mieux comprendre les molécules impliquées dans l'activité anti-inflammatoire et leurs mécanismes d'action
- Isoler et caractériser les composés actifs dans l'extrait de plante par des méthodes spécifiques
- Déterminer la sécurité d'utilisation thérapeutique (toxicité sub-chronique et chronique)

Références bibliographiques

Références bibliographique

Abuelgasim A.I., Nuha H.S., Mohammed, A.H. (2008) Hepatoprotective effect of lepidium sativum Against Carbon Tetrachloride Induced Damage in Rats. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 3: 20-23.

Aggarwal B.B et Shishodia S (2008). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol.* 71, 1397 -1421.

Ahmed A.A ; El-Moghazy S.A ; El-Shanawany M.A ; Abdel-Ghani H.F ; Karchesy J ; Sturtz G ; Dalley K ; Pare P.W. J, (2004): *Nat. Prod*, 67, 1705–1710.

Anzai T., Yashikawa T., Kaneko H., Maekawa Y., Iwanag S., Asakura Y. and Ogawa S. (2004). Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombusformation after anterior myocardial infection. *Chest journal*, 125; 384-389.

Al-yahya M.A., Mossa J.S., Ageel A.M., Rafatullah S. (1994) Pharmacological and Safety Evaluation Studies on *Lepidium sativum* L, Seeds. *Phytomedicine*, 1(2): 155-159.

AMINI R, (2010) : Analyse chimique et activité bactérienne de trois plantes médicinales antituberculeuses à Kisangani ; Monographie, inédite, faculté des sciences, UNIKIS, P. 24,25.

Ashley T.N., Weil Z.M. and Nelson R.J. (2012) Inflammation: mechanisms, costs and natural variation. *Annual Review*, 43; 385-406.

Botting R.M. and Botting J.H. (2000) Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: an overview. *Clinical Drug Investigation*, 19; 1 -7.

Botineau M, (2011) Guide des plantes médicinales. Paris : belin, 2011. page239

Bremness L., (1998) Les plantes aromatiques et médicinales .Bordas Editions.

Berton, (2001) Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. Editions De Borée (Clermont-Ferrand), France : 288.

Calder PC., Albers R., Antoine J-M., Blum S. (2009). Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition.*Journal of Nutrition* ,101 : 1-45.

Catelan S C, Belentani R M, Marques L C, Silva E R, Silva M A, Caparroz-Assef S M, Cuman R K N , Bersani-Amado C A (2006). The role of adrenal corticosteroids in the anti inflammatory effect of the whole extract of *Harpagophytum procumbens* in rats *Phytomedicine*, 13, 446-451.

- Chatoui K.**, Talbaoui A., Aneb M., Bakri B., Harhar H., Tabyaoui M. (2016) Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of *Lepidium sativum* seeds from Morocco. *J Mater Environ Sci*, 7: 2938-2946.
- Chung W.J.** (2014) Management of portal hypertensive gastropathy and other bleeding. *Clinical and Molecular Hepatology*, 20; 1-5.
- 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.
- Chika E.**, Moses I., Chigozie U., Olisa A., Ifeanyiichukwu I., Michael A., Charles E., (2012). Evaluation of anti-bacterial activity of the leave extracts of *Buchholziacoriacea*. *S. Phar. Biol. Res.* 2(4):204-208.
- Datta P.K** ; Diwakar BK ; Viswanatha S ; Murthy KN ; Naidu, (2011): des études d'évaluation de sécurité KA Garden cress (*Lepidium sativum* L.) des graines chez le rat Wistar. *Int. App J.Res. Nat. Prod*, 4 37- 43.
- Das K.**, Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K. (2010) Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2); 104-111.
- Davoine F.** and Lacy P. (2014) Eosinophil cytokines, chemokines and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology Molecular Innate Immunity*, 5(570); 1-17.
- Diwakar B.T.**, Dutta P.K., Lokesh B.R., Naidu K.A. (2008) Bioavailability and metabolism of n-3 fatty acid rich garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil in albino rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 78(2): 123-130.
- Doke S.** Guha M. (2014) Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 4 (1):69-80.
- Dorward D.A.**, Lucas C.D., Rossi A.G., Haslett C., Dhaliwal K. (2012) Imaging inflammation: molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacology and Therapeutics*, 135; 182-199.
- Duru M.**, Ugbogu A., Amadi B., Odika P. O., Chima-Ezika O., Anudike J., Osuocha K., (2013). Chemical constituents of *Buchholzia coriacea* seed. *Academia.edu* 70: 39-41.

Edition la Rousse : Phytothérapie [en ligne]. Vélizy : Hachette Livre, [s.d.]. Disponible sur : <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/phytotherapie/15365> (Consulté le 28.04.2019).

Elion Itou R.D.G., Sanogo R., Etou Ossibi A.W., Nsondé Ntandou F.G., Ondelé R., Pénemé B.M., Okiémy Andissa N., Diallo D., Ouamba J.M., Abena A.A., (2014). Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of *Ceiba pentandra* Gaertn. *Pharmacology & Pharmacy*, 5 : 1113-1118.

Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.

Enechi O. C., Nwodo O. F. C., (2014). Anti-ulcer and gastric, anti-secretory activities of seed extract of *Buchholzia coriacea* in wistar albinos rats. *African Journal of Biotechnology* 13: 2755- 2761.

Facciola S ; Cornucopia A, (1990): Source Book des plantes comestibles; Kampong Publications: Vista, CA,USA.

Farnsworth N.R., Akerele O, Bingel A,S, Soejarto D.D et Guo Z, (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.,64(2) :159-164.

Fougère B J et Wynn S G (2007). Herb manufacture, pharmacy and dosing. In: Veterinary herbal medicine, ed. Mosby Elsevier, St Louis, p. 221-236.

Garcia MD, Fernandez MA, Alvarez A, Saenz MT. (2004). Anti-nociceptive and antiinflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. Ozua (Myrtaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 91(1): 69-73.

Gilroy D. and Lawrence T. (2008) The resolution of acute inflammation: a 'tipping point' in the development of chronic inflammatory diseases. In: Rossi A.G. and Sawatzky D.A. The resolution of inflammation; progress in inflammation research. Birkhäuser, Basel, Boston,Berlin, pp; 1-4.

Gurib-Fakim,(2006) : Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1-93.

Guttormsen, J., Koster, M. I., Stevens, J. R., Roop, D. R., Williams, T. and Winger, Q. A. (2008). Disruption of epidermal specific gene expression and delayed skin development in AP-2 gamma mutant mice. *Dev Biol* 317, 187-95.

Gudjonsson, J. E. and Elder, J. T. (2007). Psoriasis: epidemiology. *Clin Dermatol* 25, 535-46.

Haddouchi F ; Lazouni HA ; Meziane A ; Benmansour A, (2009): Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Afrique SCIENCE. 05(2): 246 –259.

Hans., 2007 : 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.p6-7.

Hatano, Y., Man, M. Q., Uchida, Y., Crumrine, D., Scharschmidt, T. C., Kim, E. G., Mauro, T. M., Feingold, K. R., Elias, P. M. and Holleran, W. M. (2009). Maintenance of an acidic stratum corneum prevents emergence of murine atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 129, 1824-35.

Hartwell J.L. (1982) *Plants Used Against Cancer, A Survey*. Quarterman Publications, Inc. Massachusetts. 165.

Hewett, D. R., Simons, A. L., Mangan, N. E., Jolin, H. E., Green, S. M., Fallon, P. G. and McKenzie, A. N. (2005). Lethal, neonatal ichthyosis with increased proteolytic processing of filaggrin in a mouse model of Netherton syndrome. *Hum Mol Genet* 14, 335- 46.

Hurley J.V. Manuel de pathologie de Muir. Dans: Anderson JR, éditeur. Londres: ELBS Edward Arnold; 1985. p. 41.

Ibrahim T. A. and Fagbonun E. D. (2013). Antibacterial and Antifungal Activity of Ethanolic and Methanolic Extract of Dried Seeds of *Buchhlozia coriacea*. *Greener Journal of Agricultural Sciences* 3:458-463.

ISERIN P., Masson m., Restellini j. p., Ybert e., de laage de meus a., moulard f., zha e., de la roque r., de la roque o., vican p., deelesalle -feat t., biaujeaud m., ringuet j., bloth j., botrel a.,(2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de VUEF, Hong Kong: 335.

Januário A.H., Santos S L, Marcussi S, Mazzi M V, Pietro R, Sato D N, Ellena J, Sampaio S V, França S C, Soares A M (2004). Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): antiproteolytic and anti-hemorrhagic properties. *Chemico-Biological Interactions*, 150, 243-251.

Karazhiyan H., Razavi S.M.A., Phillips G.O. (2011) Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 915- 920.

Kessel L., Tendal B., Jorgensen K.J., Erngaard D., Flesner P. andresen J.L. and Hjortdal J. (2014) Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by

steroid and nonsteroidal antiinflammatory eye drops. *Ophthalmology*, 121(10); 1915-1924.

Kémajou A., Mba L., Bagda A .A (2012) Effet du séchage sur les principes actifs des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces d'Alstonia boonei Wild, plante antipaludéenne. *Nature & Technologie*. N° 07.

Kloos, (1976): Preliminary Studies of Medicinal Plants and Plant products in Ethiopian markets. *Journal of Ethiopian Pharmaceutical Association*, 2: 18-28.

Konkon N.G., Simaga D and Adjoungova A. (2006) Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique», *Pharm Méd Trad Afr*. Vol. 14 , pp 73-80.

Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M., et Hseini S., (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia*, 186, 1- 2.

Madhuri V., Darshan S.K. and Kent L.E. (2008) Health effects of foods rich in polyphenols. In: *Wild-type food in health promotion and disease prevention*. Humana Press Inc., Totowa, pp; 393-412.

Maier U.H, Gundlach, H., Zenk, M.H. (1998) Seven imidazole alkaloids from *Lepidium sativum*. *Phytochemistry*, 49(6): 1791-1795.

Male D. (2005) *Immunologie: aide-mémoire illustré*. 4èmeéd, De Boeck, Bruxelles, pp; 79-83.

Mali R.G., Mahajan S.G., Mehta A.A. (2007) *Lepidium sativum* (Garden cress): a review of contemporary literature and medicinal properties. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 7(4): 331-335.

Michalczyk D., Drozdowicz A., Pintscher S., Plonka P.M. (2011) Mycetoal bloom in a hydroponic culture of garden cress (*Lepidium sativum* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 145(1): 336-341.

Millogo Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005). *Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés*. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.

Nayak P.S., Upadhyaya S.D., Upadhyaya A. (2009) A HPTLC Densitometer Determination of Sinapic Acid in Chandrasur (*Lepidium sativum*). *Journal of Scientific Research*, 1(1): 121-127.

- Ortega N.**, Doña I., Moreno E., Audicana M.T., Barasona M.J., Berges-Gimeno M.P., Blanca-Lopez N., Lobera T., Padial A., Rosado A. and Torres M.J. (2014) Practical Guidelines for Diagnosing Hypersensitivity Reactions to Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 24(5); 308-323.
- Posadzki P**, Watson L.k Ernst E. Adverse effects of herbal medicines : an overview of systematic reviews [en ligne]. *Clinical medicine*, (2013), 13(1):7-12.
- Pierre et Lis**, (2007) : Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463
- Prajapati V. D.**, Maheriya P.M., Jani G.K., Patil P.D., Patel B.N. (2014) *Lepidium sativum* Linn: A current addition to the family of mucilage and its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65: 72-80.
- Prasad V.K.**, Kavita N.Y., Rakesh S.S., Nupura S.N., Ashish S.P., Manohar J.P. (2012) *Lepidium sativum*: an ethnobotany and phytopharmacological. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 3: 3.
- Radwan H.M.**, El-Missiry M.M., Al-Said W.M., Ismail A.S., Abdel Shafeek K.A. (2007) Investigation of the glucosinolates of *Lepidium sativum* growing in Egypt and their biological activity. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2 (2): 127-132.
- Rankin J.A.** (2004) Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15; 3-17.
- Raval, N.** (2016) A comprehensive review of *lepidium sativum* linn, a Traditional medicinal plant. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (5): 1593-1601.
- Raval, Nita D** et al. "Effet anti-inflammatoire de Chandrashura (*Lepidium sativum* Linn.) Une étude expérimentale." *Ayu* vol. 34,3 (2013): 302-4. doi: 10.4103 / 0974-8520.123132
- Ravishankar B.** Ph.D. Gujarat, Inde: Inde. Institut d'enseignement et de recherche post-diplôme en Ayurveda, Université ayurvédique du Gujarat; 1992. Etudes pharmacologiques et biochimiques sur des espèces de strobilanthes.
- Rousselet M.C**, Vignaud, J M, Hofman P, Chatelet F P (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP, 1-57

- Satoskar R.S**, SD Bhandarkar, Rege NN. 19ème éd. Mumbai: populaire Prakashan Pvt. Ltd; 1995. Pharmacologie et pharmacothérapie.
- Setty A R**, Sigal L H (2005). Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34, 773-784.
- Sévenet T** et Totoro C., (1994) : plantes, molécules et médicaments. Nathan, CNRS Editins paris.
- Sofowora**, (2010): Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris: 384
- Schultz E.**, Gmelin R. (1952) Isolation of glycoside of *Lepidium sativum* in the pure state by column chromatography. *Arzneimittelforschung*, 2: 568-569.
- Serhan C.N.**, Ward P.A., Gilroy D.W. (2010) Fundamentals of inflammation. Hardback, USA, pp; 13-14.
- Sen, T.** ; Nag C.A.K. antiinflammatory evaluation of *pluchea indica* root extract 1. of ethnopharmacology 1991 ; 135-141.
- Stevens C.D.** (2010) Clinical immunology and serology. Therd edition, F.A. Davis Company Philadelphia, pp; 2-10
- Vonkeman H.E.**, Braakman-Jansen L.M., Klok R.M., Postma M.J., Brouwers J.R. and Van de Laar M.A. (2008) Incremental cost effectiveness of proton pump inhibitors for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug ulcers: a pharmaco-economic analysis linked to a casecontrol study. *Arthritis Research Therapy*, 10(6); 1-7.
- Wadhwa, S.**, Panwar, M. S., Agrawal, A., Saini, N., Patidar, L.N. (2012) A Review On Pharmacognostical Study Of *Lepidium Sativum*. *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals*, 2 (4): 316-323.
- Wagner J.G.** and Roth R.A. (2000) Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacological Reviews*, 52; 349-374
- Wiert C** (2006). *Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific*. Eds, Humana Press (Totowa), p: 1-20.
- Winters E.A.** Risley et G.W. Nuss (2003). Carragenin-induced oedema in hindpaw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 544-547.

Zeghad, (2009): Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister université Mentouri Constantine

Zia-Ul-Haq, M., Ahmad, S., Calani, L., Mazzeo, T., Rio, D.D., Pellegrini N., Feo V.D. (2012). Compositional Study and Antioxidant Potential of Ipomoea hederacea Jacq. And Lepidium sativum L. Seeds. *Molecules*, 17(9): 10306-10321.

Annexe 01 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris témoins et les traitées par le Diclofénac et l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg.

Moyenne	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Témoins	45,37±8,21	41,61±7,86	38,15±7,59	33,24±5,95	23,36±6,74	18,59±7,30
Standard	31,58±7,61	23,66±10,69	17,22±10,32	7,25±6,73	3,85±4,36	1,64±2,81
Dose1	34,08±9,6	24,96±8,48	21,23±11,16	13,43±10,7	6,03±9,33	3±2,20
Dose 2	22,78±7,32	14,17±6,12	10,06±6,38	5,63±5,54	3,07±4,11	00±00

Annexe 02 : Pourcentage d'inhibition du volume de la patte chez les souris traitées par le Diclofénac et l'extrait hydro-méthanolique avec les doses 150 et 300 mg/kg.

Moyenne	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Standard	30,38±16,78	43,11±25,70	54,84±27,05	78,17±20,27	83,49±18,67	91,17±15,16
Dose1	24,87±21,16	39,99±20,38	44,33±29,25	59,57±32,21	74,17±39,95	87,90±14,12
Dose 2	49,78±16,14	65,93±14,72	73,62±16,72	83,05±16,68	86,85±17,60	100±00

Résumé

Lepidium sativum de la famille *Brassicaceae*, est utilisé pour traiter des états inflammatoires tels que l'arthrite le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* sur le modèle de l'inflammation aigue de l'œdème de la patte de souris induit par la Carragénine. Et pour confirmer l'activité antiinflammatoire une étude histopathologique a été réalisée à la fin de l'expérimentation.

Des souris NMRI ont été sélectionnées et des expériences ont été menées dans trois groupes, le groupe aux doses thérapeutique (150 et 300 mg/kg), le groupe standard et le groupe témoins. Dans l'œdème de la patte induit par la Carragénine 1%, l'extrait à l'essai a produit une activité anti-inflammatoire modérée, le pourcentage d'inhibition du volume de l'œdème avec l'extrait testé à 300 mg/kg et du Diclofénac (50 mg/kg) à la 5^{ème} heure ont été respectivement 86.85% et 83.49%. De ce fait, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* semble être plus efficace que celui de standard (Diclofénac). Cependant, l'effet n'a pas montré d'activité statistiquement significative en raison de la variation des données du groupe standard. La toxicité aigüe évaluée sur les souris a montré que l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* n'induit aucun effet toxique à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel. Une étude histopathologique portée sur porté sur le tissu cutanée de la patte des souris confirme l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum*

Mots clés : *Lepidium sativum*, anti-inflammatoire, *in vivo*. Carragénine, Diclofénac.