



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} YANOUI Kanza

M^{lle} TEHAMI Sara

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Pharmacognosie et phytothérapie

THÈME

Etude de l'activité anti-inflammatoire de *Centaurea*
s.p « étude histologique chez la souris »

Soutenu le 21/06/2017

DEVANT LE JURY

Président	M ^{me} MANSOUR .S	MCB U. Oran
Encadreur	M ^{me} AMARI .N	MCB U. Mostaganem
Examineur	M ^{me} BOUABDELI. F	MCB U. Mostaganem

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

A Madame MANSOUR Saadia, vice doyenne au département de Biologie, de l'université des sciences et de la technologie Mohamed BOUDIAF, Oran, pour avoir accepté de présider le jury. Sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, nous vous prions de croire en notre éternel respect et nos sincères gratitude.

A Madame BOUABDELLI Fatima, Mettre assistante au département de biologie université d'Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Pour nous avoir honoré d'examiner ce travail, nous vous sommes très reconnaissante de votre présence, et nous vous adresse nos vifs remerciements.

A Madame AMARI Nesrine, mette assistance au département de biologie d'Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem pour avoir encadré ce travail, un grand merci pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail. Aussi pour nous avoir accordé votre confiance. Merci pour avoir toujours été disponible, pour être à nos écoutes, pour nous avoir guidée tout en nous laissant libre dans nos choix. Nous tiens à vous exprimer également infiniment toute notre gratitude pour les nombreuses heures investies dans la correction du présent manuscrit.

Ainsi qu'à tous ceux et celles qui ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail :

Le laboratoire de biochimie n°02 d'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Le laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital militaire régional universitaire d'Oran, sous l'œil précieuse du Dr BOUAKLINE et tout son équipe en particulier Monsieur LAID Ramdan.

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

Merci à tous

Dédicace

Je dédie ce modeste travail...

Mes parents :

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

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes frères et sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Mme AMARI Nesrine qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

A tous mes amis et mon binôme Sara.

KANZA

Dédicace

*Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté :
A mes chers parents, sources de tendresse, de noblesse et d'affection.*

*A mes frères : Mohamed, Omar, Ismaïl, et ma sœur Hadjer, en
témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de santé et
de succès.*

Et à tous les membres de Ma famille.

*A tous mes amis, mes chères cousines : Souhila, Nourhane, Salima,
Fayrouz, Houria et Ismahan, mon binôme kenza*

Et à tout qui compulse ce modeste travail.

Sara

**TABLE DES
MATIÈRES**

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
1^{ère} partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : L'inflammation.....	2
I. L'INFLAMMATION	2
I.1.DEFINITION	2
I.2. LA REACTION INFLAMMATOIRE	2
I.3. LES CAUSE DE L'INFLAMMATION.....	3
I.5.TYPES DE L'INFLAMMATION	4
I.5.1.L'inflammation aigue	4
I.5.1.1. Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)	5
I.5.1.2. La phase cellulaire (recrutement des leucocytes)	6
I.5.1.3. La phase de réparation	6
I.5.2. L'inflammation chronique	7
I.6. CELLULES IMPLIQUEES DANS LA REACTION INFLAMMATOIRE.....	7
I.6.1.Les polynucléaires neutrophiles (PNN).....	7
I.6.2. Les mastocytes.....	8
I.6.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophage tissulaires	8
I.6.4. Les plaquettes sanguines.....	8
I.6.5. Les polynucléaires basophiles	8
I.6.6. Les polynucléaires éosinophiles	8
I.6.7. Les fibroblastes	9
I.6.8. Les lymphocytes	9
I.6.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre.....	9
I.7. MEDiateURS SOLUBLES ET CELLULAIRES DE L'INFLAMMATION	9
I.7.1. Médiateurs solubles	9
I.7.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë	10
I.8. IMPLICATIONS PATHOLOGIQUES DE L'INFLAMMATION	13
I.9. THERAPEUTIQUES DE L'INFLAMMATION	13
I.9.1. Anti-inflammatoire stéroïdiens	13

I.9.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens	14
I.10. ANTI-INFLAMMATOIRE D'ORIGINE VEGETALE	15
Chapitre II. La phytothérapie et <i>centaurea s.p</i>	17
II.1. INTRODUCTION.....	17
II.2. PHYTOTHERAPIE	17
II.3. CONCEPT DES PLANTES MEDICINALES	18
II.4. METABOLITES SECONDAIRES	18
II.5. UTILISATION DES PLANTES MEDICINALES.....	19
II.5.1. Les formes galéniques	19
II.5.1.1. Tisanes	19
II.5.1.2. Gélules et comprimés	20
II.5.1.3. Autres formes liquides.....	20
<i>Centauree s.p</i>.....	21
II.6. GENERALITES SUR LA PLANTE UTILISES	21
II.6.1. DESCRIPTION BOTANIQUE DE CENTAUREA	21
II.6.1.1. Répartition géographique de l'espèce <i>Centaurea</i>	22
II.6.1.2. <i>Centaurea s.p</i>	22
II.6.1.3. Noms communs	23
II.6.1.4. Classification botanique	23
II.6.1.5. Composition chimique.....	23
II.6.1.6. vertus médicinale	23
2^{ème} Partie : Partie expérimentale	
Chapitre III : Matériels et méthodes.....	25
Objectif.....	25
III.1. Matériels et méthodes.....	25
III.1.1. Matériels	25
III.1.1.1. Matériel biologique	25

Table de matières

III.1.1.2. Matériel végétal.....	25
III.1.1.3. Site et conditions d'échantillonnage.....	25
III.1.4. Drogue végétale.....	27
III.1.2. Méthodes.....	26
III.1.2.1. Préparation de l'extrait.....	26
III.2. Test de toxicité.....	26
III.2.1. Principe.....	26
III.2.2. Protocole.....	27
III.3. L'Activité anti-inflammatoire.....	27
III.3.1. Prétraitement par les extraits.....	27
III.3.2. Induction de l'inflammation.....	27
III.3.2.1. Injection de la carragénine.....	28
III.3.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	28
III.4. Analyses statistiques.....	30
III.5. Etude histologique.....	30
III.5.1. Echantillons.....	30
III.5.2. Méthodes.....	30
III.5.2.1. Fixation.....	30
III.5.2.2. Décalcification.....	30
III.5.2.3. Macroscopie.....	31
III.5.2.4. Circulation.....	31
III.5.2.5. Inclusion et enrobage.....	32
III.5.2.6. Coupe.....	33
III.5.2.7. Coloration.....	33
III.5.2.8. Montage.....	34
III.5.2.9. Lecture microscopique.....	35

Résultats et Discussion	35
III.6. TEST DE TOXICITE AIGÛE	35
III.7. L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE.....	35
III.7.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG).....	35
III.7.1.1. Groupes Témoins	35
III.7.1.2. Groupe standard	35
III.7.1.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Centaurea nigra</i> (150mg/kg de PC).....	35
III.7.1.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Centaurea nigra</i> (300 mg/kg de PC)....	36
III.7.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH).....	38
III.7.2.1. Groupes standards	38
III.7.2.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Centaurea nigra</i> (150mg/kg de PC).....	38
III.7.2.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>Centaurea nigra</i> (300mg/kg de PC).....	38
III.7.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait de <i>Centaurea nigra</i> à la dose de 150 mg/Kg de PC.....	40
III.7.4. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait de <i>Centaurea nigra</i> à la dose de 300 mg/Kg de PC.....	40
III.7.5. Groupe traité par l'extrait de <i>Centaurea nigra</i> à la dose de 150 mg/Kg de PC comparé au groupe de 300mg/kg de PC	40
III.8. ETUDE HISTOLOGIQUE	41
III.8.1. Groupe Témoin	41
III.8.2. Groupe standard	41
III.8.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>centaurea nigra</i> (150mg/kg de PC)	41
III.8.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de <i>centaurea nigra</i> (300mg/kg de PC)	41
Discussion.....	44
Conclusion	47
Référence bibliographiques	49
Annexes	

**LISTE DES
ABRÉVIATIONS**

-----Liste des abréviations-----

% AUG	: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte
% INH	: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte
AINS	: Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS	: Anti-inflammatoires stéroïdiens
GC	: Glucocorticoïdes
COX	: Cyclooxygénase
H1	: Première heure d'expérimentation
H6	: Sixième heure d'expérimentation
IL	: Interleukines
LB, LT	: Lymphocyte B, T
PC	: Poids corporel
PMN	: Polynucléaires neutrophiles
Tx	: Les thromboxanes
PG	: Les prostaglandines
IM	: Intra-musculaire
St	: Standard
Té	: Témoin
ml	: Millilitre
kg	: kilogramme
g	: Gramme
dm	: Décimètre

LISTE DES FIGURES

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

Figure1 : Schéma présente la réaction inflammatoire	03
Figure2 : Les grandes étapes de la réaction inflammatoire aiguë	04
Figure 3 : Formation du transsudat et d'exsudat	05
Figure 4 : les systèmes enzymatiques plasmatiques	11
Figure 5 : Mécanisme d'action des AINS	15
Figure 6 : Répartition géographique de <i>Centaurea.L.</i>	22
Figure 7 : spect morphologique de la <i>centaurea s.p</i>	23
Figure 8 : les racines de <i>Centaurea s.p</i>	24
Figure 9 : l'administration des extraits par voie orale.....	28
Figure 10 : Injection sub-plantaire de la carragénine	28
Figure 11 : Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital	29
Figure 12 : Casette d'inclusion	31
Figure 13 : Appareil de circulation / déshydratation.....	32
Figure 14 : Appareil de coloration	34
Figure15 : Technique de Montage.....	34
Figure 16 : Lecture microscopique	34
Figure 17 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin pendant 6 h	36
Figure18 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standard pendant 6h	36
Figure19 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par l'extrait de <i>Cenataurea s.p</i> (150mg/kg de PC) pendant 6h.....	37
Figure20 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par l'extrait de <i>Centaurea s.p</i> (300 mg/kg dePC) pendant 6h	37

Figure 21: Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standards ..	38
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Centaurea s.p</i> (150 mg/Kg de PC) pendant 6h	39
Figure 23: Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Centaurea s.p</i> (300 mg/Kg de PC) pendant 6h	39
Figure 24: Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Centaurea s.p</i> (150 et 300 mg/Kg de PC) comparées entre elles et aux souris standards pendant 6h.....	40
Figure 25 : Présentant les tissus enflammés de la patte de souris témoin.....	42
Figure 26 : Présentant les tissus enflammés de la patte de souris standard	42
Figure 27: Présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>Centaurea s.p</i> (150mg/kg).....	43
Figure 28 : présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de <i>centaurea s.p</i> (300mg/kg).....	43

**LISTE DES
TABLEAUX**

-----*Liste des tableaux*-----

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires	11
Tableau2 : Exemples de maladies liées à l'inflammation.....	13
Tableau 3 : Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoire.....	16
Tableau 4 : Noms vernaculaires des taxons de la BDTFX	23
Tableau5 : classification botanique de l'espèce étudiée (<i>Centaurea s.p</i>)	23
Tableau 6 : Test de toxicité des différentes doses de l'extrait aqueux des tiges de <i>Centaurea s.p</i> au cours des 24 heures	35

**LISTE DES
PLANCHES**

Liste des planches

-----Liste des planches-----

Planche 1 : Carte géographique situant la commune de Sidi lakhder Mostaganem	25
Planche 2 : Technique de fixation	30
Planche 3 : Méthode de l'inclusion	32
Planche 4 : Réalisation des coupes fines	33

GLOSSAIRE

GLOSSAIRE

Inflammation : réaction de défense immunitaire stéréotypée du corps à un organisme.

Congestion active : à l'issue de l'agression tissulaire apparaît très rapidement une congestion active qui correspond à une modification du calibre vasculaire après une brève vasoconstriction. Elle consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire au niveau de la zone atteinte.

L'œdème inflammatoire : résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine.

Diapédèse leucocytaire : la diapédèse leucocytaire est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis, un peu plus tard (en 24 à 48 heures), les monocytes et les lymphocytes. Il s'agit d'une traversée active des parois vasculaires.

Infiltrat inflammatoire : Ensemble des éléments cellulaires figurés présents dans un foyer inflammatoire, aigu ou chronique. La majeure partie vient du sang circulant (leucocytes) et les autres éléments sont d'origine locale (histiocytes, fibrocytes, fibroblastes, mastocytes).

Exsudat : Ensemble des éléments figurés et liquidiens qui, ayant traversé la paroi vasculaire au cours du processus inflammatoire, s'accumulent dans le tissu conjonctif, créant un œdème, ou dans une cavité séreuse créant un épanchement. La composition de cet exsudat, séro-albumineux, fibrineux, fibrinoleucocytaire ou purulent, varie en fonction du stade et de l'origine de l'inflammation. Il se caractérise toujours par sa richesse en protéines qui l'oppose au transsudat.

Transsudation : Extravasation dans le tissu conjonctif lâche ou dans une cavité préformée d'un liquide pauvre en protéines, conséquence d'un déséquilibre entre pression hydrostatique et pression osmotique intra et extravasculaire.

Polymorphe : souvent récidivante caractérisée par des lésions cutanées érythémateuses, œdémateuses et vésiculobulleuses isolées ou associées et parfois par des lésions muqueuses bulleuses et érosives, et que l'aspect histologique ainsi que l'absence dans

les lésions de dépôts d'auto-anticorps ont permis de séparer d'autres dermatoses bulleuses.

Lyophilisation : dessiccation, déshydratation par sublimation opérée à très basse température et sous vide.

Métabolites secondaires : ce sont des substances qui n'interviennent pas directement dans les grandes fonctions des végétaux, mais plutôt interviennent dans le développement des

Vivace : se dit d'une plante qui survit plusieurs années et fleurit chaque année, même si les parties aériennes meurent tous les ans.

Histologie : désigne la spécialité médicale dédiée à l'étude des tissus biologiques. Elle étudie la structure de ces tissus à un niveau microscopique et permet de comprendre leur fonctionnement normal ou pathologique. Elle se base sur des prélèvements de tissus qui peuvent provenir de toute partie du corps

RESUME

Résumé

Centaurea s.p est une plante qui est connue par son effet thérapeutique. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les brûlures cutanées. Les maladies inflammatoire est une de ces pathologies qui peuvent être préservée par cette plante. L'extrait de *Centaurea s.p* a été testé pour leur effet anti-inflammatoire. Cette activité a été évaluée in vivo par le test de l'œdème induit par la carragénine. Un test de toxicité aigue d'extrait aqueuxaux doses 150 et 300mg/Kg de PC, respectivement, est réalisé en administration orale. Les résultats montrent qu'à ces doses, l'extrait n'exerce aucun effet toxique. D'autre part, le traitement de l'inflammation a été donné uneheure avant de provoquer l'inflammation aigue par l'injection de la carragénine à 0.1%. De ce fait, L'extrait testé aux doses 150 et 300mg/kg de PC a montré une activité anti-inflammatoire significative ($P < 0,001$ comparée au lot témoin). Alors, Le pourcentage d'inhibition de l'œdème atteint les 80% pour la dose 150mg/kg contre 50% d'inhibition pour le Diclofénac. L'étude histologique des coupes traitées par le Diclofénac et l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150 et 300mg/Kg de PC) confirment que l'extrait de la plante a une activité anti-inflammatoire. De plus, à la dose 150 et 300mg/kg de PC, l'infiltrat inflammatoire disparaît presque totalement. La présence de l'activité anti-inflammatoire au niveau des différentes doses de l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* pourra trouver son application dans le domaine thérapeutique.

Mot clés : *Centaurea s.p* - Activité anti-inflammatoire - Histologie.

Abstract

Centaurea s.p is a plant which is known by its therapeutic effect. It's used in traditional medicine to treat the skin burns. Inflammatory diseases is one of these pathologies which can be preserved by this plant. The extract of *Centaurea s.p* was tested for its anti-inflammatory effect. This activity was assessed in vivo by the test of the edema induced by the carragenine. A test of toxicity of the aqueous extract in the doses 150 and 300mg/kg BW, respectively accomplished in oral administration. The results show that in these doses, the extract has no toxic effect. On the other hand, the treatment of the inflammation was given one hour before causing the acute inflammation by the injection of carragenine 0,1%. So, the test of the extract in the doses 150 and 300mg/kg BW showed a significant anti-inflammatory activity ($P < 0,001$) compared with the control mice. The inhibition percent of the edema reach 80% for the dose 150mg/kg BW against 50% of inhibition for Diclofenac. The histological study of cut treated by Diclofenac and the aqueous extract of *Centaurea s.p* (150 and 300mg/kg BW) confirm that the extract of the plant has an anti-inflammatory activity. Besides, in the dose 150 and 300mg/kg BW the inflammatory infiltrate disappears almost completely. The presence of anti-inflammatory activity in the doses of aqueous extract of *centaurea s.p* can be applied in the therapeutic field.

Keywords : *Centaurea s.p* – anti-inflammatory activity – Histology.

ملخص

Centaurea s.p نبات معروف بفوائده الطبية. يستخدم في الطب التقليدي لعلاج حروق الجلد. تعتبر الأمراض الالتهابية واحدة من بين الأمراض التي تعالج بـ *Centaurea s.p*. تم اختبار مستخلص *C. s.p* كمضاد للالتهاب. أجريت تجارب على حسب نموذج انتفاخ أرجل الفئران التي تمت عن طريق حقن الكراجينين. تم اختبار سمية المستخلص المائي لـ *C. s.p* بجرعات 150 و 300 مغ/كغ حسب وزن الجسم على التوالي عن طريق الفم. أظهرت النتائج ان المستخلص ليس له أي تأثير سام. بالنسبة لاختبار فعالية المستخلص كمضاد للالتهاب أعطي العلاج ساعة قبل تحريض الالتهاب الحاد الناجم عن حقن مادة الكراجينين. 0.1% وبالتالي اختبار المستخلص بجرعات 150 و 300 مغ/كغ اظهر نشاط مضاد الالتهاب كبير مقارنة مع نتائج مجموعة الشاهد. وبالتالي نسبة تثبيط الأدمة وصل إلى 80% بجرعة 150 مقابل 50% للديكولوفيناك. نتائج الدراسة النسيجية للمجموعة المعالجة بمستخلص *C. s.p* و الديكلوفيناك تؤكد أن مستخلص *C. s.p* لديه نشاط مضاد الالتهابات و بالإضافة إلى ذلك في الجرعة 150 و 300 الارتشاح الالتهابي يختفي تقريبا. وجود نشاط مضاد للالتهابات في جرعات مختلفة من المستخلص المائي لـ *C. s.p* قد يجد تطبيقا في المجال العلاجي.

الكلمات المفتاحية : *Centaurea s.p* – نشاط مضاد الالتهابات- علم الأنسجة.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse.

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (Gaziano et Gibson, 2006).

En Algérie, la médecine traditionnelle ainsi pratiquée trouve un accueil favorable auprès des populations qui sont hélas parfois en proie à un charlatanisme ignorant et dangereux pour les malades.

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé (Carillon, 2000). À l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons (O.M.S, 2000). Les 40% restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la synthèse chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries (Fouché et *al.*, 2000).

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques (Graham et *al.*, 2000 ; Bnouham et *al.*, 2002 ; Gonzalez-Tejero et *al.*, 2008). Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Ozenda, 1977).

Centaurea s.p., plante faisant partie de ces dernières, est utilisée traditionnellement dans les régions paysannes dans le traitement des brûlures cutanées et dans de nombreuses régions du monde comme antibactérienne (Kumarasamy et *al.*, 2003), antivirale (Middleton et *al.*, 2003) et Anti-hypertensive (Kaij-A-Kamb et *al.*, 1991 ; Monea et Racz-Kotilla, 1978).

Une étude bibliographique, réalisée sur cette espèce, a montré que l'on ne dispose que de peu d'informations de nature biologique. Pour pallier ce manque d'informations, l'étude s'est focalisée sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux préparé à partir des racines de la plante : *Centaurea s.p.*

CHAPITRE I

L'INFLAMMATION

I. L'inflammation

I.1. Définition

L'inflammation est un processus de défense de l'organisme dont le but est de neutraliser, de combattre ou d'éliminer l'agent pathogène (endogène ou exogène) et de préparer la réparation des tissus. Les signes de ce processus sont : chaleur, rougeur, douleur, gonflement (Majno et Joris, 2004).

L'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation (Ruslan, 2008).

I.2. La réaction inflammatoire

En réponse à une blessure, (Fig.1) une infection ou un stress, les tissus mettent en œuvre toute une batterie de signaux dont la finalité est réparation du dommage causé et le rétablissement de l'homéostasie perturbée (Coussens, 2002 ; Calvano, 2005 ; Gurtner, 2008).

L'inflammation a été sélectionnée au cours de l'évaluation parce qu'elle est d'abord adaptative, la réaction peut avoir de conséquences délétères, surtout, lorsqu'elle passe à la chronicité dans un environnement différent de celui pour lequel elle a été sélectionnée (Medzhitov, 2008). Il y a d'abord à la fois activation et migration dirigées de différents types de leucocytes (neutrophiles, éosinophiles et monocytes) depuis la lumière veineuse vers les sites qui ont été agressés, et activation des mastocytes et des plaquettes. Les neutrophiles sont les premiers attirés vers le site à réparer par un quadruple mécanisme incluant, l'activation de molécules endothéliales permettant l'adhésion des cellules de la circulation, l'activation par des cytokines leucocytaires de facteurs chimiotactiles (les intégrines), l'immobilisation des neutrophiles sur la surface endothéliale par les intégrines, enfin la migration des neutrophiles à travers l'endothélium. Les monocytes vont ensuite migrer sous l'influence d'une autre catégorie de cytokines et se différencier en macrophages, lesquels deviennent la source principale de facteurs de croissance et de cytokines. Les mastocytes deviendront source de différents médiateurs de l'inflammation, dont l'histamine, plusieurs cytokines et des protéases liées aux

protéoglycans et à des médiateurs lipidiques. L'activation des plaquettes et la formation de fibrine vont permettre la formation d'un caillot hémostatique (Swynghedauw, 2009).

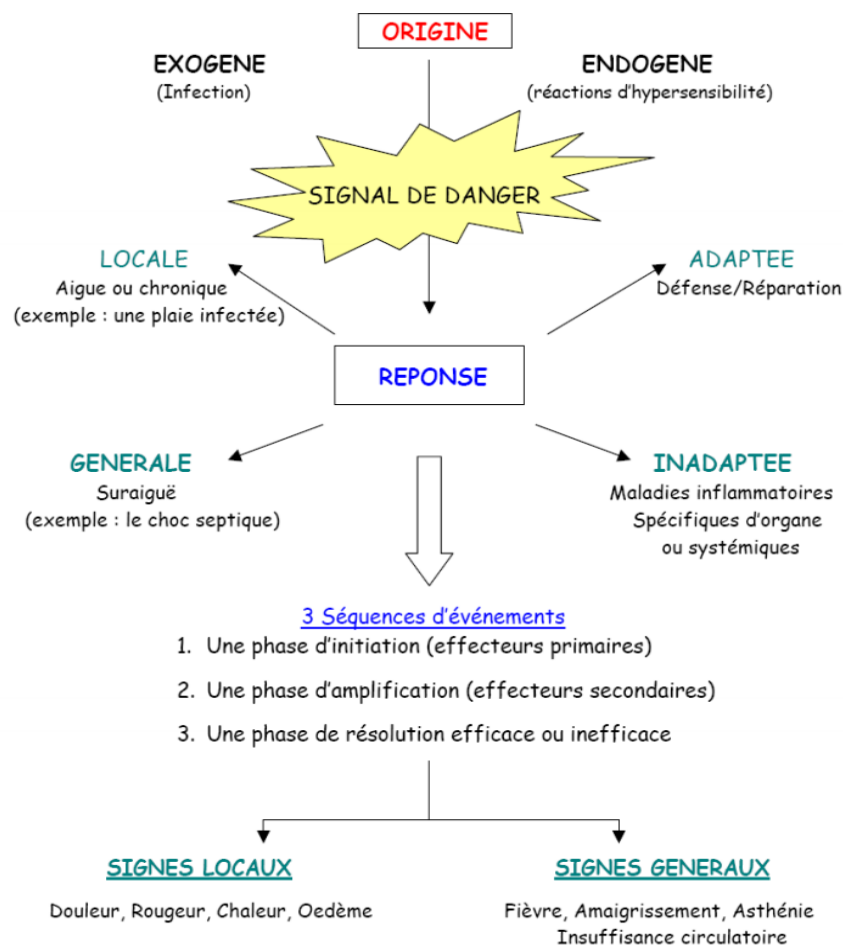


Figure 1 : Schéma présente la réaction inflammatoire (Prin et *al.*, 2009).

I.3. Les cause de l'inflammation

L'inflammation peut être causée par des agressions physiques (comme le chaud, le froid, les radiations ionisantes), chimiques (occasionnées par des composés acides ou basiques, des toxines bactériennes). Elle peut être la conséquence d'une infection (en rapport avec la présence dans l'organisme d'organismes vivants pathogènes tels que bactéries, virus, parasites ou champignons). Elle peut être provoquée par une réaction immunitaire secondaire à la réintroduction dans l'organisme d'un antigène (allergie) tel qu'un antibiotique. Elle est enfin souvent la conséquence d'une nécrose tissulaire, elle-même secondaire à de nombreuses causes, par exemple une occlusion artérielle (Charles et *al.*, 2003).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut être divisé en deux branches interconnectées. L'immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs PRR et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne (Bianchi, 2007), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (Barton, 2008 ; Medzhitov, 2008).

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (Barton, 2008). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

I.5. Types de l'inflammation

I.5.1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles et *al.*, 2010). L'inflammation aigue se constitue de trois phases (Fig.2) :

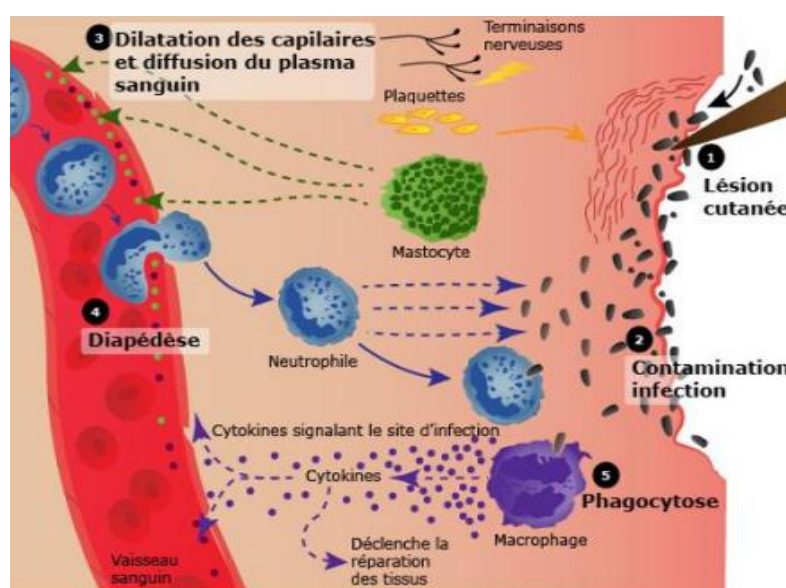


Figure 2 : Les grandes étapes de la réaction inflammatoire aiguë (Patrice, 2014).

I.5.1.1. Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)

Elle se traduit cliniquement par les quatre signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur. Elle comporte trois phénomènes (Fig.3) : une congestion active, un œdème inflammatoire (l'exsudat), une diapédèse leucocytaire (Rousselet et *al.*, 2005).

- **Congestion active** : à l'issue de l'agression tissulaire apparaît très rapidement une congestion active qui correspond à une modification du calibre vasculaire après une brève vasoconstriction. Elle consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire au niveau de la zone atteinte (Carl et carole, 2010).
- **L'œdème inflammatoire** : résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine (Rousselet et *al.*, 2005).
- **Diapédèse leucocytaire** : la diapédèse leucocytaire est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 première heures), puis, un peu plus tard (en 24 à 48 heures), les monocytes et les lymphocytes. Il s'agit d'une traversée active des parois vasculaires (Carl et carole, 2010).

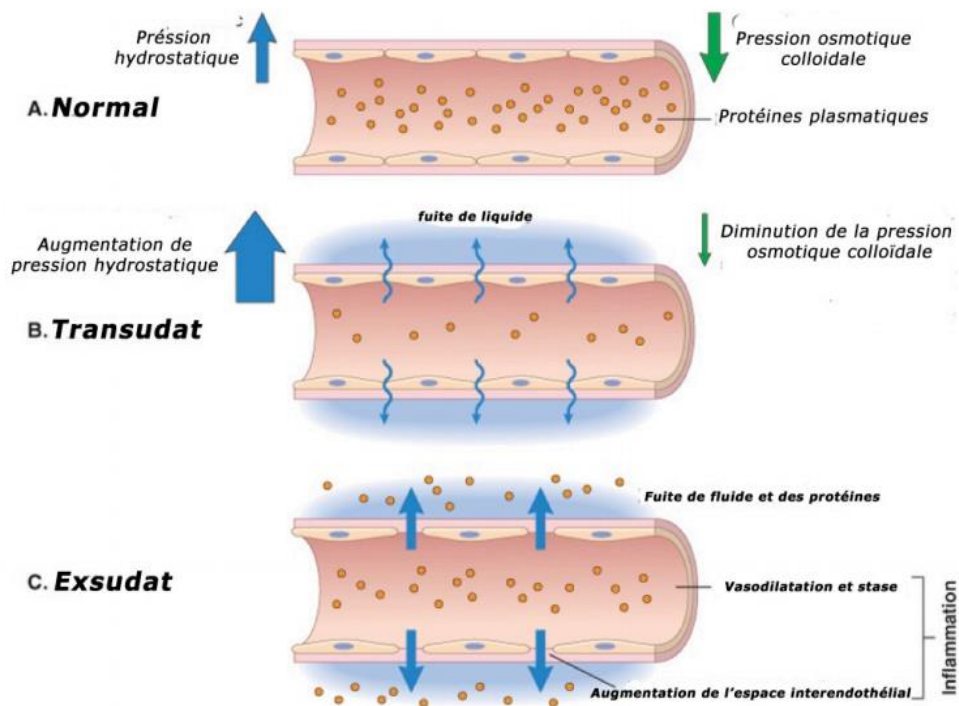


Figure 3 : Formation du transsudat et d'exsudat (Kumar et *al.*, 2007).

I.5.1.2. La phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires.

Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Nathan, 2002).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4. Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (Charles et *al.*, 2010).

I.5.1.3. La phase de réparation

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

La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Eming et *al.*, 2007). Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu.

Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill et *al.*, 2003).

I.5.2. L'inflammation chronique

Se développe dans les conditions où persiste une agression ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, où l'antigène ne peut être éliminé (Rankin, 2004). À la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents.

Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Weill et *al.*, 2003).

L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles et *al.*, 2010).

Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh et *al.*, 2006).

I.6. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire :

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

I.6.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) :

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

I.6.2. Les mastocytes

Ils sont des cellules résidentes des tissus conjonctifs. De plus, ils jouent un rôle très important dans le déclenchement de la réaction inflammatoire (Weill *et al.*, 2003). Ils se caractérisent par la présence dans leur cytoplasme de très nombreuses granulations contenant des médiateurs inflammatoires comme la sérotonine, l'histamine, l'héparine et des cytokines (Williams et Galli, 2000). Ils sont aussi impliqués dans la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007).

I.6.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophage tissulaires

Ils constituent le système des phagocytes mononucléés. De nombreuses situations engendrent l'activation des macrophages rencontre avec un micro-organisme, avec une particule inerte, avec un produit de dégradation tissulaire ou liaison avec un ligand naturel pour un de leurs récepteurs : anticorps, thrombine, fibrine, facteurs de croissance, cytokines (Rankin, 2004).

I.6.4. Les plaquettes sanguines

Elles sont indispensables à l'hémostase primaire. Elles contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine (Steinhubl, 2007).

I.6.5. Les polynucléaires basophiles

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

I.6.6. Les polynucléaires éosinophiles

Elles représentent de 1 à 6% des cellules inflammatoires. Elles possèdent aussi des propriétés phagocytaires (Rankin, 2004). Leur fonction principale est de s'attaquer aux parasites via le contenu de leurs granules. Elles interviennent aussi dans la modulation et la propagation de la réponse immunitaire adaptative en activant directement les lymphocytes T (Hogan *et al.*, 2008).

I.6.7. Les fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules ubiquitaires et principales du tissu conjonctif ; elles interviennent dans la production de la matrice extracellulaire qui offre une résistance mécanique aux cellules. Ils produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase, stromélysine, cathepsines, sérine protéase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (Charles et *al.* 2003).

I.6.8. Les lymphocytes

Il existe deux types de lymphocytes impliqués dans l'inflammation : les lymphocytes T qui se différencient dans le thymus et les lymphocytes B acquièrent leur maturation dans la moelle osseuse. Ils interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par la production de différentes cytokines (Adrie et Pinsky, 2000).

I.6.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre

Elles jouent un rôle important au cours de l'inflammation (Wagner et Roth, 2000). Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (Aggarwal et Shishodia, 2006).

I.7. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation

I.7.1. Médiateurs solubles

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules ; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (Kumar et *al.*, 2007; Charles et *al.*, 2010). Les protéases plasmatiques comprennent le complément, les kinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires (Charles et *al.*, 2010). Le tableau (1) résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

I.7.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les PMNs qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales (Kumar et *al.*, 2007).

Les kinines apparaissent à la suite d'une lésion tissulaire. Les interactions entre les systèmes enzymatiques plasmatiques induisent la production de Kallikréine. Celle-ci réagit avec le kininogène de haut poids moléculaire pour donner naissance à la bradykinine. La lysyl-bradykinine (kallidine) est le résultat de l'action de kallikréine tissulaire sur kininogène de poids moléculaire faible. Ces kinines sont des médiateurs vaso-actifs particulièrement efficaces.

Les eicosanoïdes sont des médiateurs dérivés de l'acide arachidonique qui est libéré des membranes cellulaires par la phospholipase A2. L'acide arachidonique est converti en eicosanoïdes selon 2 voies principales.

Les prostaglandines (PG) est les thromboxanes (Tx) sont produits par l'action de la cyclooxygénase sur l'acide arachidonique. Ces dérivés présentent divers effets pro-inflammatoires, souvent en synergie avec les autres médiateurs.

Les leucotriènes (LT) sont produits par la voie de lipoxygénase qui génère des médiateurs de l'inflammation aiguë ainsi que des facteurs importants dans la phase tardive de l'hypersensibilité de type 1.

Les peptides fMet (formyl-méthionyl, comme par ex. le fMLP) sont des produits bactériens (Fig.4) ayant une forte activité chimiotactique sur les neutrophiles (Fonteneau, 2004).

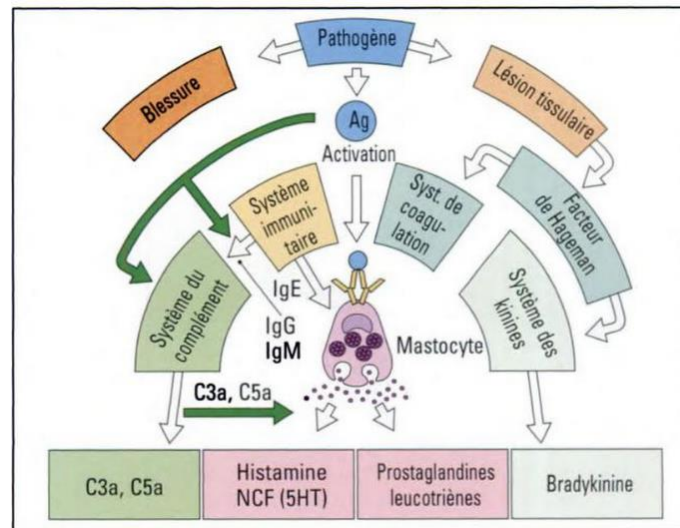


Figure 4 : les systèmes enzymatiques plasmatiques (Fonteneau, 2004).

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires (Rankin, 2004 ; Male et al., 2007).

Médiateurs	Origine	actions
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotinine	Mastocytes et plaquettes	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines.
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hageman (XII)	Présent dans le plasma et est active par l'adhésion des plaquettes	Implique dans la cascade de coagulation.
C3a	Fraction C3 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes.

La suite du Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires (Rankin, 2004 ; Male et *al.*, 2007).

Facteur activateur des plaquettes (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la broncho constriction, l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des EOR et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Leucotriènes : • LTC4, LTD4, LTE4 • LTB4	Essentiellement par les leucocytes Essentiellement par les leucocytes	Augmentent la perméabilité des micro- vaisseaux. Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	Présente dans le plasma, formé à partir du fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes	Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR. Intervient dans la réparation tissulaire.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

I.8. Implications pathologiques de l'inflammation

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires, à savoir les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Charles et *al.*, 2010). Quelques exemples sont rapportés dans le tableau (2).

Tableau2 : Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

origine	Types de maladie
Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient l'inflammation.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Artériosclérose Arthrose ➤ Asthme Polyarthrite rhumatoïde ➤ Eczéma Maladie de Crohn (MC) ➤ Goutte Thyroïdite d'Hashimoto ➤ Maladie d'Alzheimer Lupus érythémateux disséminé
Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hépatite C ➤ Tuberculose ➤ Dysenterie bactérienne
Maladies d'origines divers dans lesquelles la fibrose post-inflammatoire est la cause principale de la pathologie.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cirrhose hépatique post-virale ou alcoolique ➤ Fibrose pulmonaire idiopathique Bilharziose

I.9. Thérapeutiques de l'inflammation

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires (Mohr et *al.*, 2001).

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

I.9.1. Anti-inflammatoire stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un

cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. Après, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles.

Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé trans-activation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes. Le mécanisme opposé est appelé trans-répression. Le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (Barnes, 1998).

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la trans-activation et la trans-répression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire (Henzen, 2003).

I.9.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial. Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation. Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (Nicolas et *al.*, 2001). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors

que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS (Fig.5) semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (Blain et *al.*, 2000).

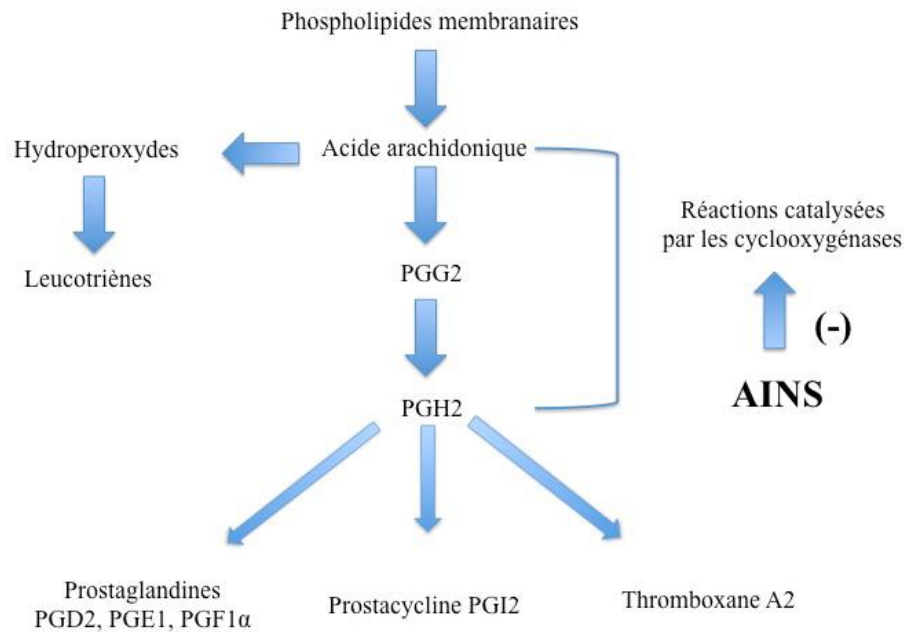


Figure 5 : Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

I.10. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau (3).

Tableau 3 : Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoires (Erdemoglu et al., 2003 ; Setty et Sigal, 2005; Goetz, 2011).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisés	Nom commun	Utilisation
<i>Helleborus orientalis</i> L.	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	œdèmes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	rhinite allergique, eczéma, goutte, douleurs rhumatismales
<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynaceae	Fleure	Laurier rose	douleurs, maux de tête
<i>Rhododendron ponticum</i> L.	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	œdèmes, états grippaux, mal de dents
<i>Juglans regia</i> L.	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria

CHAPITRE II

LA PHYTOTHÉRAPIE

ET

CENTAUREA S.P

II.1.Introduction

La phytothérapie est l'art de soigner par les plantes. Les découvrir et les utiliser à bon escient, montrent un respect vis-à-vis de la nature mais aussi vis-à-vis de soi-même. On peut considérer la phytothérapie comme une thérapie à part entière. Il est certain qu'elle ne menace pas l'équilibre du corps pour autant que l'on respecte les dosages appropriés (Pirard, 2016).

La connaissance des vertus thérapeutiques des plantes est plus ancienne que l'humanité elle-même. Sur le long chemin de l'évolution, au cours d'une interminable série d'essais et d'erreurs, les hommes ont accumulé pendant des millénaires des bonnes et de mauvaises expériences avec les composants des herbes, des arbres, des mousses, des lichens et des champignons. Ils ont intégré ce savoir, qui ne cessait de s'accroître, dans leurs stratégies de survivre (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

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).

II.2.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.

Nombreuses 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.3. Concept des plantes médicinales

Un grand nombre de plantes sont utilisées dans les pratiques de la médecine traditionnelle. La recherche de principes actifs naturels à partir des plantes médicinales qui peuvent traiter l'inflammation est d'un grand intérêt pour la santé. De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme anti-inflammatoires (Strang, 2006).

Toutes les données concernant les plantes médicinales sont regroupées dans un ouvrage officiel national ou international que l'on appelle pharmacopée. Y est décrit le mode de préparation, la composition, l'action des médicaments (Marie-Josèphe, 2011).

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

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

II.4. Métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques (Hartmann, 2007).

II.5. Utilisation des plantes médicinales

En générale, les plantes sont utilisées en infusion. Néanmoins, leurs effets bienfaits et thérapeutiques s'exercent aussi sous forme de sirops, des confitures, de jus, de teintures, de produit pour le bain, de cataplasmes, d'enveloppements, d'inhalations et de gargarismes. Les épices et plantes médicinales sont utilisées fraîches ou séchées, par voie interne ou externe, seules ou mélangées d'après des recettes parfois très anciennes. Souvent on obtient le meilleur résultat en utilisant les plantes fraîche, en infusion ou en jus. Afin d'en libérer les principes actifs (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

II.5.1. Les formes galéniques

Les formes galéniques ont pour but de faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs des plantes médicinales. Les plantes peuvent s'employer de différentes manières.

II.5.1.1. Tisanes

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

- ❖ **Infusion** : les infusions (Lucienne, 2013) sont souvent composées de plusieurs plantes médicinales, associées selon certaines règles. Préparation obtenues en versant de l'eau bouillant sur les herbes choisies, sèches ou fraîche (environ 2 cuillerées à café d'herbes par tasse).
- ❖ **Eau aromatisée = eau florale** : on mélange les huiles éthérées à de l'eau distillée en secouant vivement. On peut également procéder par distillation à la vapeur d'eau (Kunkele et Lobmeyer, 2007).
- ❖ **Décoction** : préparation obtenues en faisant bouillir des plantes dans l'eau. Elles sont plus actives que l'infusion et la macération. Verser de l'eau froide dans un récipient et y ajouter les plantes dans la proportion déjà indiquée selon le nombre de tasses. (Lucienne, 2013).
- ❖ **Macération** : ces préparations (Lucienne, 2013) s'obtiennent en mettant à tremper une certaine quantité de plantes sèches ou fraîches dans un liquide : eau, alcool à froid, et en laissant en contact pendant un temps plus ou moins long ; avec de l'eau quelques heures seulement (10 à 12 heures pour éviter la fermentation).

II.5.1.2. Gélules et comprimés

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

II.5.1.3. Autres formes liquides

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

- ❖ **Sirops** : Afin de constituer un sirop, on mélange l'extrait obtenu à base d'herbes médicinales (macération ou teinture) avec un sirop de sucre refroidi (faire fondre 150 à 200g de sucre petit feu dans 100ml d'eau) en remuant continuellement à l'aide d'une cuillère en bois, afin d'obtenir une texture épaisse (Kunkele et Lobmeyer, 2007).
- ❖ **Extraits hydroalcooliques** : Les extraits hydroalcooliques, aussi appelés teintures, sont obtenues par extraction des composés actifs suite à la macération des plantes médicinales dans de l'alcool éthylique à différents degrés. Des plantes fraîches ou sèches peuvent être utilisées, le macérât obtenu est alors respectivement qualifié de « teinture mère » ou de « teinture alcoolique ». Les extraits hydroalcooliques présentent de nombreux avantages : une grande stabilité, une durée de conservation quasiment illimitée grâce à leur teneur en alcool, une forte concentration en principes actifs, une absorption gastro-intestinale rapide, une excellente biodisponibilité des principes actifs, et une facilité d'administration (Fougère et Wynn, 2007; Labre, 2012).
- ❖ **Collyres** : employer pour traiter les affections des yeux et des paupières. Pour faire un collyre, il est préférable d'utiliser une infusion diluée, tiède et qui n'irrite pas la peau. Les collyres utilisés en bains sont préparés et filtrés avec soin car ils rentrent en contact avec l'œil (Lucienne, 2013).
- ❖ **Injection** : préparations liquides destinées à être introduites dans les cavités naturelles ou accidentelles (fistules) à l'aide d'une seringue, d'un bock avec canule, ou d'une douche. Le liquide est une infusion ou une décoction de plantes astringentes, émoullientes ou aromatiques. On utilise en principe 30 g de plantes par litre d'eau. La température doit être de 38°C à 50°C (Lucienne, 2013).

II.6. Généralités sur la plante utilisée

La famille des composées fait partie des plantes médicinales qui ont acquis une très grande importance, et constitue la plus vaste subdivision du règne végétal. Cette famille comprend en effet 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces (Menz et Winkelmann, 1987). Cette immensité systématique est disponible par sa répartition à travers tous les continents et se caractérise par son pouvoir d'adaptation aux milieux climatiques et pédologiques les plus divers.

Parmi les 1000 genres de cette famille le genre *Centaurea* qui compte environ 700 espèces et 600 sous-espèces (Trease et Evans, 1983). Il est répandu aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe, le bassin méditerranéen, l'ouest de l'Asie et le continent américain. Ce genre est présent en Algérie en majorité dans l'est et le sud-est dont 7 espèces sont sahariennes (Quezel et Santa, 1963).

II.6.1. Description botanique de *centaurea*

Capitules multiflores à fleurs homomorphes ou dimorphes. Involucre ovoïde ou globuleux à bractées imbriquées sur plusieurs rangs. Bractées soit homomorphes soit dimorphes, soit polymorphes. On y distingue pour la classification : les bractées extérieures (ou inférieures) plus courtes ; les bractées moyennes (dont la morphologie sera particulièrement exploitée) ; les bractées internes ou supérieures. Les bractées sont surmontées ou non par un appendice différencié. Cet appendice, très utilisé en systématique, peut être scarieux ou non, penné, pectiné, triangulaire, décurrent (se prolongeant sur le corps de la bractée), armé, constitué par une ou plusieurs épines, etc. Réceptacle plan ou sub-plan, garni de soies abondantes. Fleurs marginales généralement neutres et souvent rayonnantes ; celles du disque hermaphrodites et \pm irrégulières. Anthères sagittées à la base. Style à branches courtes. Akènes oblongs ou ovoïdes, lisses, à hile latéral, profond, barbu ou non. Aigrette soit absente, soit présente et simple ou double, persistante ou caduque. Plante herbacées, annuelles ou vivaces. La délimitation du genre varie considérablement suivant les auteurs (Quezel et Santa, 1963).

II.6.1.1. Répartition géographique de l'espèce *Centaurea*

C'est une espèce très répandue qui se rencontre dans le Nord de l'Afrique (l'Algérie et la Tunisie), l'Afrique du centre (Ethiopie) et presque dans toute l'Europe : la Corse de l'Italie, Malta, la Sardaigne, la Sicile, l'Espagne, (Fig.6) la France (anonyme c).



Figure 6 : répartition géographique de *Centaurea* .L.

■ *Centaurea*

II.6.1.2. *Centaurea* s.p

Plante vivace de 3-8 dm, bractées de l'involucre à appendices noirs ou brun-foncés, à contour arrondi, longuement ciliés-pectinés à cils très nombreux, réguliers et disposés sur plusieurs étages latéraux, plats et dressés. Plante vivace (fig.7). Feuilles inférieures ovales-lancéolées, atténuées en pétiole, sinuées-dentées, les supérieures sessiles, oblongues-lancéolées. Gros capitules solitaires à fleurs purpurines (rarement blanches). Bractées cachées par les appendices. Akènes à aigrette très courte Bois, chemins 01: Oran (Quezel et Santa, 1963).



Figure 7 : Aspect morphologique de *centaurea* s.p.

II.6.1.3. Noms communs

Tableau 4 : Noms vernaculaires des taxons de la BDTFX (Léger, 2007)

Langues	Nom
Arabe	Kantaryoun
Français	Centaurée
Anglais	knapweed

II.6.1.4. Classification botanique

Le classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et Santa, 1963) synthétisée dans le tableau (5).

Tableau 5 : classification botanique de l'espèce étudiée *Centaurea s.p* (Tela Botanica, 2011).

Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dictotyledones</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Centaurea</i>

II.6.1.5. Composition chimique

Les centaurées ont été amplement étudiées et restent un objet de plusieurs études et recherches phytochimiques qui ont révélé la présence de flavonoïdes, de composés acétyléniques (Bohlman, et *al.*, 1973), de lactones sesquiterpéniques, alcaloïdes (Ahmed et *al.*, 1970), et de stéroïdes (Picher et *al.*, 1984).

II.6.1.6. Vertus médicinale

La racine a une grande amertume (fig.8), qui annonce des principes actifs. Cette racine est un des ingrédients de la poudre antiarthritique de la Mirandole, laquelle avait autrefois une grande réputation. La racine de *Centaurea s.p* est tonique. Elle est tombée dans un oubli non mérité. Elle peut prendre rang parmi les amers indigènes. On l'a reconnue utile dans les

affections lentes du foie, dans le catarrhe pulmonaire chronique, dans les hémorragies passives. Administrée à dose élevée et en décoction chaude, elle agit, dit-on, assez puissamment sur le système cutané pour produire la sueur (Cazin, 1868).



Figure 8 : les racines de *Centaurea s.p.*

Les espèces du genre *Centaurea* possèdent plusieurs vertus thérapeutiques notamment des propriétés stimulantes, toniques (Buruk et *al.*, 2006) et (Skliar, et *al.*, 2005), antidiabétiques (Yayli, et *al.*, 2005), diurétiques (Kumarasamy, et *al.*, 2003) et antirhumatismales (Kulikowski et Mascarenhas, 1978).

CHAPITRE III

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

**MATÉRIELS ET
MÉTHODES**

Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *centaurea s.p* sur le modèle de l'inflammation aigue de l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine.

L'extraction a été réalisé au niveau de laboratoire de biochimie de l'université de Mostaganem, et l'étude histologique au niveau de l'hôpital militaire régionale universitaire d'Oran « service d'anatomie pathologie ».

III.1. Matériels et méthodes

III.1.1. Matériels

III.1.1.1 Matériel biologique

L'étude in vivo est réalisée sur des souris mâles et femelles de race SWISS fournies par l'institut pasteur d'Alger. Ces animaux sont élevés au niveau de l'animalerie de l'université de Mostaganem.

III.1.1.2. Matériel végétal

III.1.1.3. Site et conditions d'échantillonnage

Le matériel végétal utilisé est composé de racine de *Centaurea s.p*. Cet organe a été cueilli en Aout 2016 ; période correspondante à la saison de floraison, dans une zone localisée dans la commune de Sidi lakhder (Planche 1). Cette dernière est distante de Km à l'Est du Chef-lieu de la wilaya de Mostaganem. (Algérie) et située à 83m d'altitude, 36° 8' 34" N de latitude et 0° 27' 38" E de longitude.

Les prélèvements, réalisés d'une manière aléatoires, ont été transportés dans des sacs en plastique noir jusqu'au laboratoire.



Planche 1 : Carte géographique situant la commune de Sidi lakhder Mostaganem.

III.1.4. Drogue végétale

Au laboratoire, les racines de *Centaurea s.p* fraîchement récoltés ont été étalées à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin de préserver, au maximum, l'intégrité des molécules. Le séchage étant le moyen de conservation le plus simple, sa durée dépend de la teneur en eau dans le végétal, ainsi que la température ambiante.

Après lavage, les racines ont été mis à sécher quelques jours à l'étuve à une température relativement stable de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, jusqu'à obtention d'un poids fixe (matière sèche). Cette partie végétative a été, ensuite, finement broyées à l'aide d'un mortier en porcelaine. Le broyage a permis de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaire et de libérer, en même temps, les organites et les molécules contenues dans la cellule (Lafont et Duval, 2001). Sous cette forme, la drogue présente une plus grande surface de contact avec le solvant extracteur et permet ainsi d'améliorer le rendement des extractions (Bonnaillie et *al.*, 2012).

Pour son utilisation ultérieure et afin d'empêcher sa photo-oxydation, la drogue a été conservée à l'obscurité dans des bocaux hermétiquement fermés. Les précautions prises visent à réduire les divers mécanismes de dégradation relatifs aux caractères organiques de ses matières premières (Ferrari, 2002), à savoir la dénaturation des métabolites secondaires tels que les huiles étherées (Kümkele et Lobmeyer, 2007).

III.1.2. Méthodes

III.1.2.1. Préparation de l'extrait

La méthode d'extraction employée est la décoction à 10% (Kumar et *al.*, 2010). 100g de drogue végétale (racines) broyée ont été trempés dans un litre d'eau distillée, ce solvant a été choisi pour son action non destructive (Haya et Amour, 1992). Le mélange, recouvert de papier aluminium a été agité mécaniquement puis porté dans un bain marie à 90°C pendant 1 heure.

Après refroidissement, un filtrat a été récupéré dans un flacon opaque hermétiquement fermé à l'aide d'un filtre en microfibrilles de verre de Wattman (Senhaji et *al.*, 2005). La lyophilisation du filtrat constitue la dernière étape de la préparation d'un extrait sec ; celle-ci permet la meilleure conservation de la matière végétale.

III.2. Test de toxicité

III.2.1. 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 animaux et observés pour toute

manifestation de toxicité, augmentation dans l'activité, salivation, convulsion, coma et mort. Ces observations sont faites régulièrement jusqu'à 24 heures (Paschapur et al., 2009).

III.2.2. Protocole

Le test a été réalisé sur un effectif de 4 souris pesant 35 ± 5 g réparties en deux lots. Après une période d'adaptation, les souris sont pesées, marquées et soumises à jeûne, une nuit avant la période d'expérimentation. Chaque lot reçoit par voie orale la solution test à 2 doses :

Lot 1 : Reçoit l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* à la dose de 150 mg/Kg de poids corporel dissous dans du NaCl 0,9%.

Lot 2 : Reçoit l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel dissous dans du NaCl 0,9%.

III.3. L'Activité anti-inflammatoire

III.3.1. Prétraitement par les extraits

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 16 souris pesant 35 ± 5 g est divisé en quatre groupes, chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :

- **Groupe témoin (n=4) :** une solution de NaCl (0,9%).
- **Groupe standard (n=4) :** un anti-inflammatoire de référence (Diclofénac à 50mg/Kg dissous dans du NaCl 0,9% à la dose 10ml/kg).
- **Groupe A Dose 1 (n=4) :** l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%).
- **Groupe B Dose 2 (n=4) :** l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (300mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%).

III.3.2. Induction de l'inflammation

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'une plante médicinale, un modèle expérimental d'inflammation aiguë 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 (Fig.9).

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

III.3.2.1. 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 0.1% dissous dans du NaCl 0,9% (Fig.10).



Figure 9 :L'administration des extraits par voie orale.



Figure 10 : Injection sub-plantaire de la carragénine.

III.3.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

❖ Mesure de l'œdème

Le diamètre de la patte a été mesuré, à l'aide d'un micromètre digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant six heures (Fig.11). L'évolution de l'œdème de la patte a été déterminée chaque heure jusqu'à 6 heures.



Figure 11 : Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.

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

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe 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 i^{ème} heure après l'injection de la carragénine.

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

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

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

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

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

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

III.4. Analyses statistiques

Toutes les mesures ont été données en triplicata. Les données des traitements ont été examinées par l'analyse de la variance (ANOVA mono-factorielle). Les résultats sont présentés en moyennes \pm écarts types. Le test de Student-Neuman-Keuls est utilisé pour comparer ces moyennes, lorsque l'ANOVA montre une signification. $P \leq 0,05$ indique un effet significatif.

III.5. Etude histologique

III.5.1. Echantillons

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

III.5.2. Méthodes

L'étude histologique a été réalisée selon le protocole suivant :

III.5.2. 1. Fixation

Consiste à protéger les tissus prélevés (planche2.A) de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires. Les fixateurs les plus utilisés sont le liquide de Bouin et le formol à 10% (planche2.B) ; cette étape dure 5 à 15 jours, elle dépend de l'épaisseur du prélèvement.

Les pattes prélevées sont fixées avec du formol dilué à 10% (planche.2).

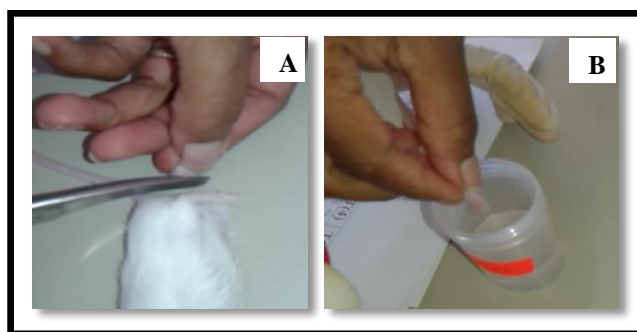


Planche2 : Technique de fixation.

III.5.2.2. 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 (980 ml de l'eau distillée + 20 ml de l'acide nitrique), pendant trois heures.

III.5.2.3. Macroscopie

Réalisation des fragments pour chaque organe, Introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord (Fig.12).



Figure 12 : Cassette d'inclusion.

III.5.2.4. Circulation

Introduction des cassettes dans un appareil de circulation ou de déshydratation durant 24 heures en passant par 12 bacs (Fig.13) comme suit:

- Bac1 : formol à 10% durant une heure et demi-heure,
- Bac2 : éthanol à 50° durant une heure,
- Bac3 : éthanol à 60° durant une heure,
- Bac4 : éthanol à 70° durant une heure,
- Bac5 : éthanol à 80° durant une heure,
- Bac6 : éthanol à 90° durant une heure,
- Bac7 : éthanol à 96° durant une heure,
- Bac8 : xylène ou toluène durant une heure et demi-heure,
- Bac9 : xylène ou toluène durant une heure et demi-heure,
- Bac10 : xylène ou toluène durant une heure et demi-heure,
- Bac11 : paraffine liquide durant deux heures,
- Bac12 : paraffine liquide durant deux heures.



Figure 13 : Appareil de circulation / déshydratation.

III.5.2.5. Inclusion et enrobage

Le paraffinage (planche3.A) a lieu grâce à un appareil muni d'un compartiment alimenté en chaleur pour faire couler la paraffine (56°C-58°C) et d'une plaque refroidissante (planche3.B) sur laquelle est mis un moule métallique contenant les cassettes (planche3.C) où les pièces sont mises. Une fois les pièces couvertes de paraffine liquide, elles sont laissées refroidir sur une plaque à froid, ainsi, on obtient les blocs qui seront utilisés pour donner de fines coupes. Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

Cette étape permet d'imprégner les tissus par un matériel inerte qui durcit pour obtenir des blocs homogènes renfermant des organes ou des fragments d'organe (planche.3).

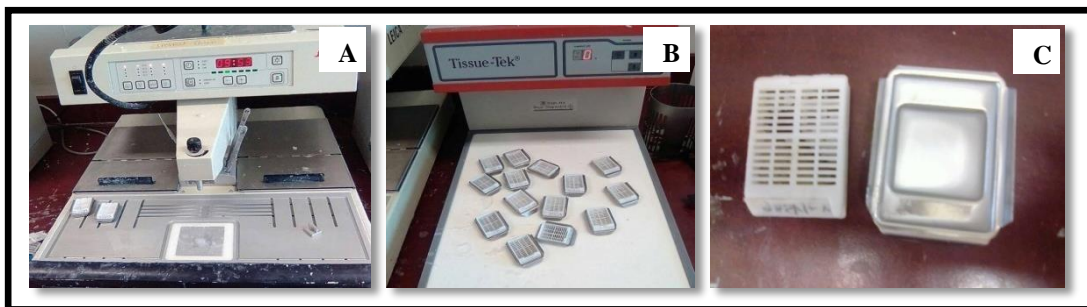


Planche 3: Méthode de l'inclusion ; A : Appareil de paraffinage ; B : plaque de refroidissement ; C : moule métallique.

III.5.2.6. Coupe

Une fois le bloc de tissu paraffine congelé, il nécessite d'être réduit en coupes microscopiques qui devront être collées sur lames. Cela est réalisé grâce à un microtome (planche 4.A). Une épaisseur de 4 μm des coupes permet aux rayons lumineux de microscope de traverser les prélèvements et d'éviter les superpositions tissulaires.

Les lames sont marquées sur leur bord par un stylo à diamant (planche 4.B). Ensuite elles sont mises dans un plateau et l'incubation(planche4.C) est effectuée sous une température de (50°C-56°C) pendant toute la nuit (Planche.4).



Planche 4 : Réalisation des coupes fines ; A : Microtome ; B : lame ; C : Etuve.

III.5.2.7. Coloration

La coloration a été réalisée dans un appareil spécifique avec de l'Hématoxyline et de l'Eosine, les échantillons sont traités par plusieurs produits et dans plusieurs bacs (Fig.14) comme suit :

- 3Bacs de xylène durant 5 minute chacune.
- 3Bacs d'éthanol de concentration de 50°, 60°, 90°.
- 1Bac d'eau distillée pendant 5 minutes.
- 1Bac d'hématoxyline d'Harris durant 8 minutes.
- 1Bac de solution de lavage, pour faire laver les lames pendant 5 minutes.
- 1Bac d'alcool-acide durant 3 secondes.
- 1Bac de solution de lavage
- 1Bac d'eau ammoniacale durant 15 secondes.
- 1Bac de solution de lavage durant 5 minutes.
- 1Bac d'Eosine durant 3 minutes suivi par un lavage pendant 5 minutes.
- 2Bacs d'éthanol de 5 minutes pour chacun
- 2Bacs de xylène de 5 minutes pour chacun



Figure 14 : Appareil de coloration.

III.5.2.8. Montage

Une goutte d'une solution (EUKITT) est déposée permettant l'adhésion sur la lame, en présence d'une lame propre et sèche en inclinant progressivement cette dernière de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'air. La lamelle est adhérente et la préparation est prête pour l'observation microscopique (Fig.5).

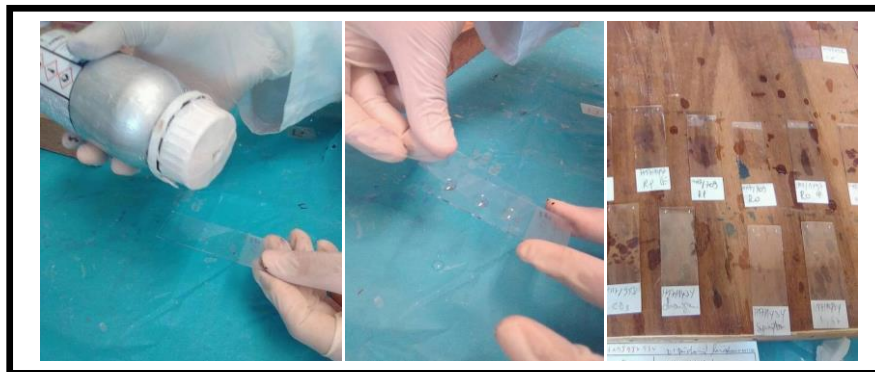


Figure15 : Technique de Montage.

III.5.2.9. Lecture microscopique

La lecture est réalisée par un photo-microscopique et chaque coupe est photographiée (Fig.15).



Figure 16 : Lecture microscopique.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.6. Test de toxicité aigüe

L'administration orale de l'extrait aqueux des racines de *Centaurea s.p* aux doses 150 et 300mg/kg de PC aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigüe au cours des 24 h d'observation (Tab.6).

Tableau 6 : Test de toxicité des différentes doses de l'extrait aqueux des racines de *Centaurea s.p* au cours des 24 heures.

	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot 1	Négative	Négative	Négative	Négative
Lot 2	Négative	Négative	Négative	Négative

III.7. L'activité anti-inflammatoire

III.7.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

III.7.1.1. Groupes Témoins

L'administration de la carragénine entraîne une augmentation significative du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris témoins à partir de la première heure de l'expérimentation comparée à la deuxième heure (Fig.17), de plus une augmentation significative du volume de la patte est observé à la deuxième heure comparée à la cinquième heure ($p < 0.001$).

III.7.1.2. Groupe standard

Les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire du Diclofénac (50mg/kg) provoque une diminution du volume de la patte des souris de deuxième heure jusqu'à cinquième heure de l'expérimentation (Fig.18).

III.7.1.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150mg/kg de PC)

Le traitement par l'extrait aqueux des racines de *Centaurea s.p* (150mg/kg) induit une diminution significative de volume de la patte des souris dès la deuxième heure (Fig.19) jusqu'à la fin de l'expérimentation ($P < 0.05$).

III.7.1.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (300mg/kg de PC)

Le traitement par l'extrait aqueux des racines de *Centaurea s.p* à la dose 300mg/kg induit une réduction significative pendant les 5 heures (Fig.20).

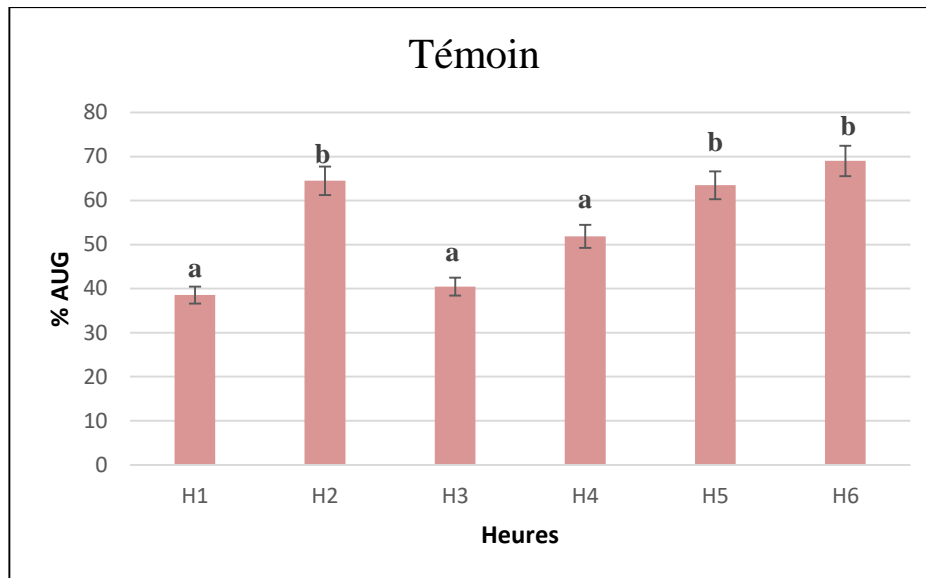


Figure 17 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

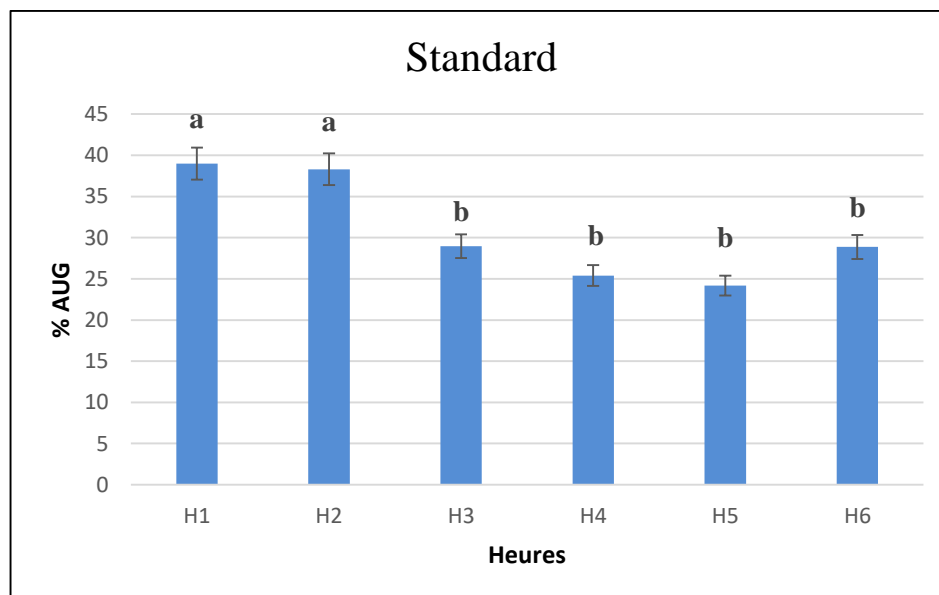


Figure 18 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standard pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

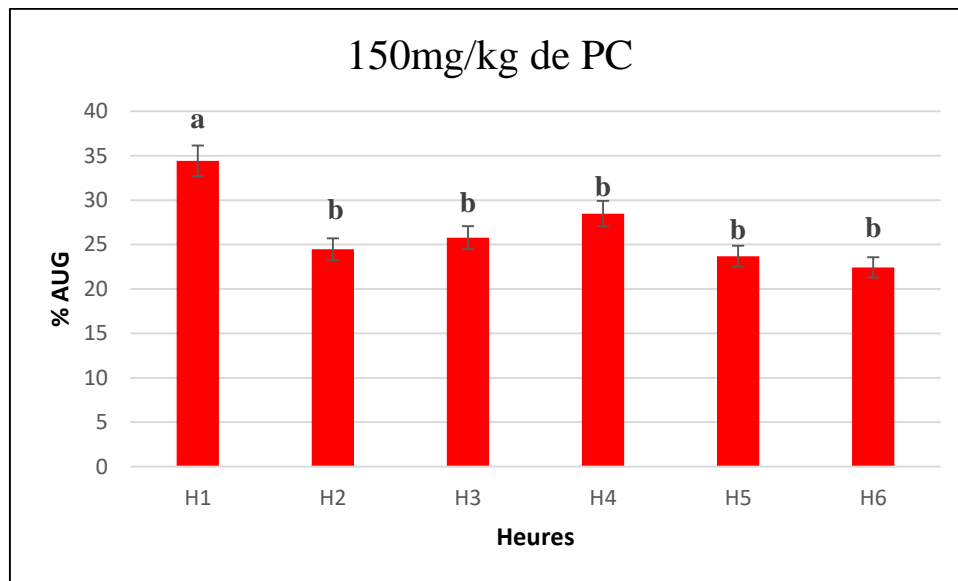


Figure 19 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées par l'extrait de *Centaurea s.p* (150mg/kg de PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

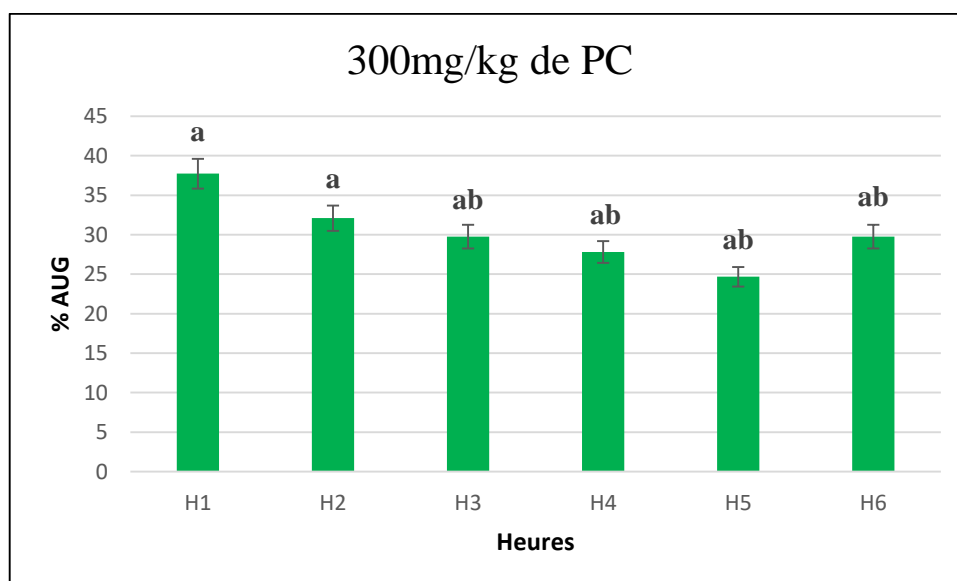


Figure 20 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées de l'extrait de *centaurea s.p* (300mg/kg de PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

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

III.7.2.1. Groupes standards :

L'activité d'inhibition de l'œdème de la patte des souris standards est significativement élevée à la deuxième heure comparée à la sixième heure (Fig.21).

III.7.2.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150mg/kg de PC)

L'effet inhibiteur de l'extrait de *Centaurea s.p* à la dose 150mg/kg de P.C se manifeste dès la deuxième heure qui suit l'injection de la carragénine (Fig.22). Cette activité est maintenue durant toute la période de l'expérimentation (6 heures).

III.7.2.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Centaurea s.pa* (300mg/kg de PC)

L'effet inhibiteur de l'extrait de *Centaurea s.p* à dose 300mg/kg de PC se manifeste dès la deuxième heure qui suit l'injection de la carragénine. L'analyse statistique de ce résultat a révélé une augmentation significative jusqu'à la cinquième heure (Fig.23).

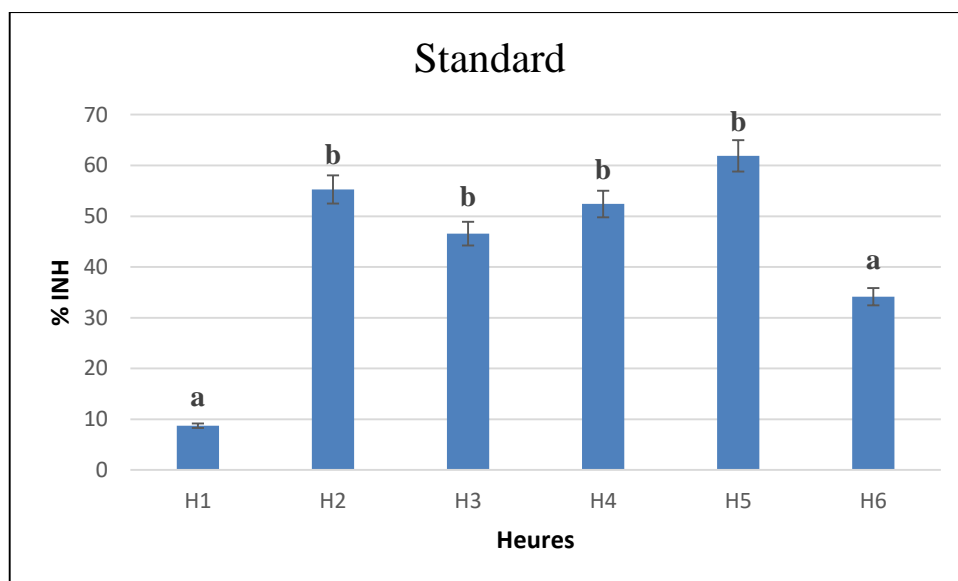


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard traité par Diclofénac pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes différents significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

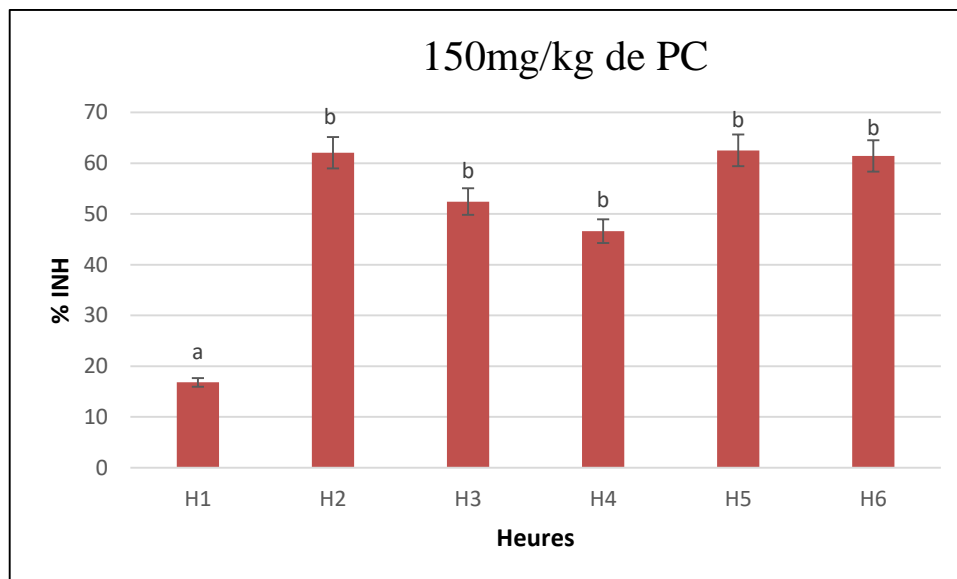


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150mg/Kg de PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

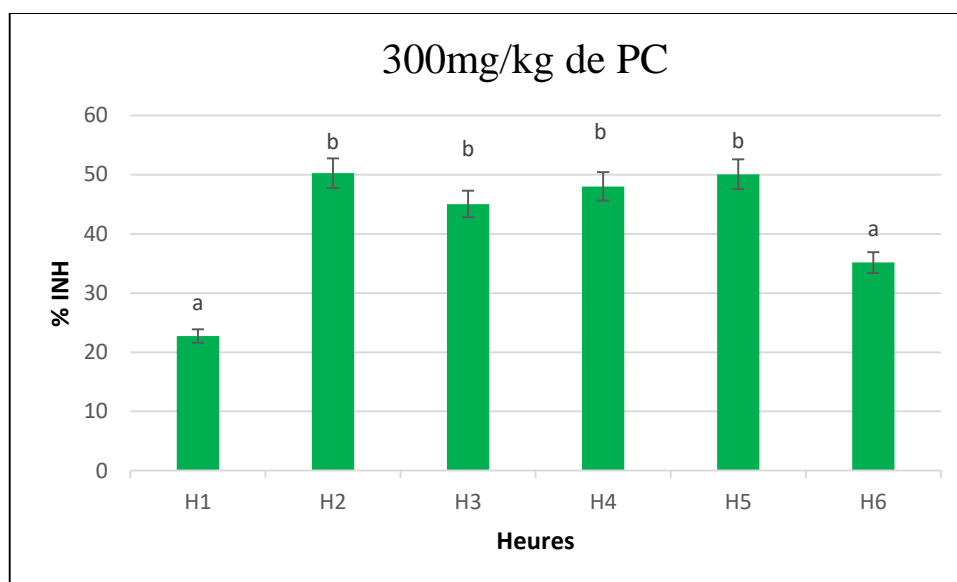


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (300mg/Kg de PC) pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls, $P < 0,05$).

III.7.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait de *Centaurea s.p* à la dose de 150mg/Kg de PC

La comparaison entre les deux groupe montrent que l'activité inhibitrice de l'extrait de *Centaurea s.p* à la dose 150 mg/Kg de PC est significativement plus importante par rapport à celle du Diclofénac particulièrement à la sixième heure ($p<0.05$).

III.7.4. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait de *Centaurea s.p* à la dose de 300mg/Kg de PC

L'activité inhibitrice de l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* à la dose 300mg/kg de P.C a le même effet sur la patte de souris comparé au groupe traité par le Diclofénac ($P<0.05$).

III.7.5. Groupe traité par l'extrait de *Centaurea s.p* à la dose 150mg/Kg de PC comparé au groupe de 300mg/kg de PC

Le traitement par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* à la dose 150mg/kg de PC provoque une activité inhibitrice très significative de l'inflammation de la patte de souris dès la deuxième heure jusqu'à la sixième heure comparé au groupe traité par l'extrait à la dose 300mg/kg de PC ($P<0.05$).

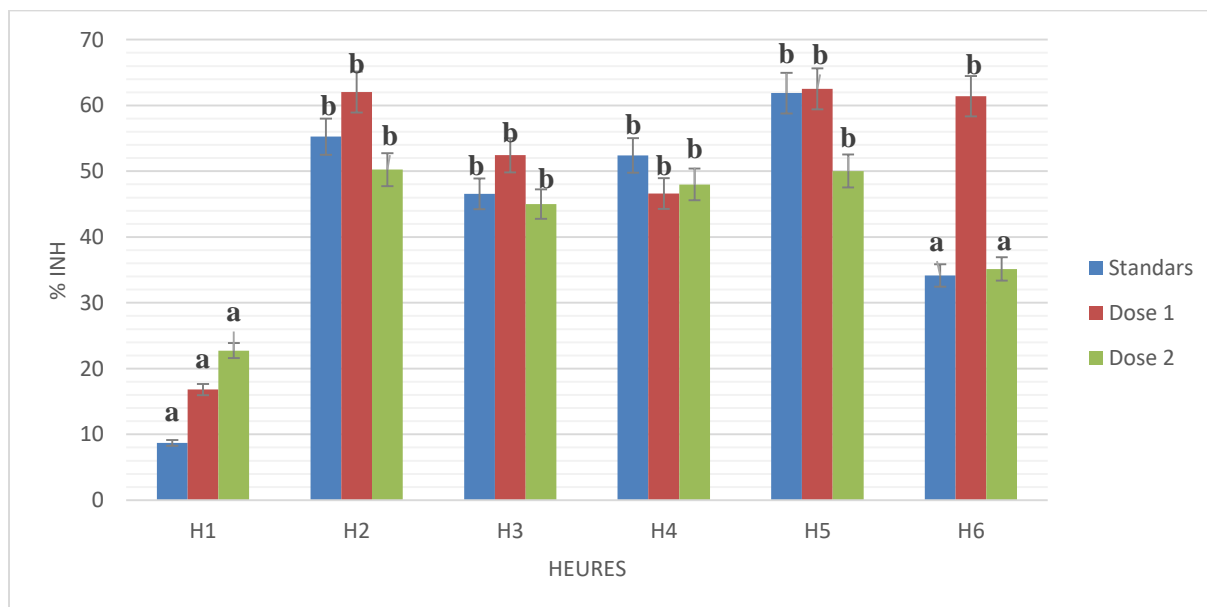


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150 et 300 mg/Kg de PC) comparées entre elles et aux souris standards pendant 6h. Moyennes suivies de lettres différentes différent significativement (Newman-Keuls, $P<0,05$).

III.8. Etude histologique

L'étude histologique a montré :

III.8.1. Groupe Témoin

Après l'étude microscopique des tissus de pattes de souris du groupe témoin on observe un infiltrat inflammatoire intense, pseudo folliculaire, polymorphe associé à l'œdème (Fig.25).

III.8.2. Groupe standard

Après l'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitée par le Diclofénac. Une disparition de l'œdème et de la congestion tissulaire, diminution de l'intensité de l'infiltrat inflammatoire ont été observée par rapport au témoin (Fig.26).

III.8.3. Groupe traité par l'extrait aqueux de *centaurea s.p* (150mg/kg de PC)

Diminution de phénomène inflammatoire est observée chez le groupe traitée avec l'extrait aqueux de *centaurea s.p* (150mg/kg), presque identique à ceux du standard (Fig.27).

III.8.4. Groupe traité par l'extrait aqueux de *centaurea s.p* (300mg/kg de PC)

Disparition presque totale de l'infiltrat inflammatoire, discret de l'œdème par rapport au témoin. (Fig.28).



Figure 25 : Présentant les tissus enflammés de la patte de souris témoin (GX200).

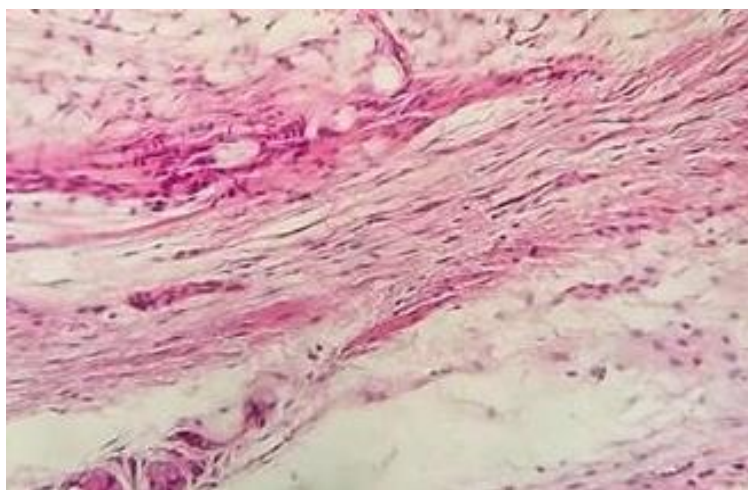


Figure 26 : Présentant les tissus enflammés de la patte de souris standard (GX100).

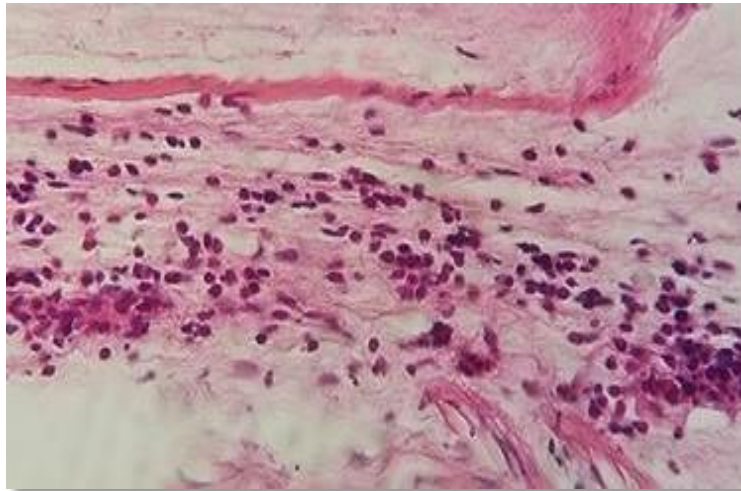


Figure 27: Présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* 150mg/kg (GX100).

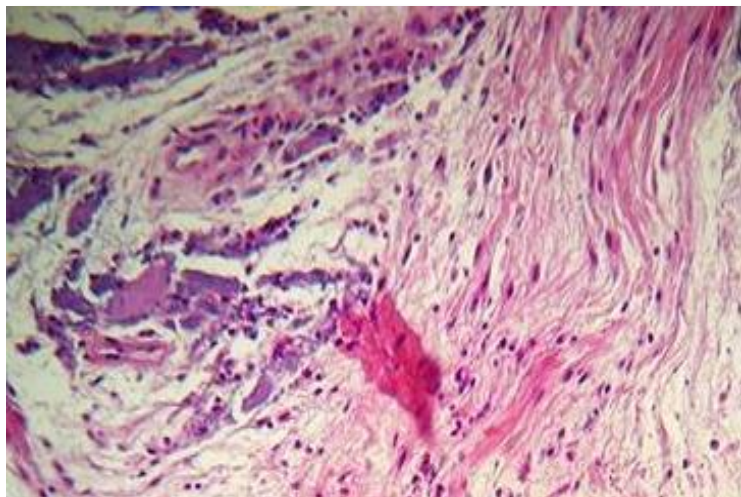


Figure 28 : présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *centaurea s.p* à la dose 300mg/kg (GX100).

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* aux différentes doses sur un modèle de la patte inflammatoire induit par la carragénine (Winter et *al.*, 1962). Cet agent phlogogène induit au niveau de la patte de souris, un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés (Morris, 2003).

Dans cette expérimentation, le test de toxicité réalisé n'a révélé aucun effet toxique de l'extrait de *Centaurea s.p* aux doses 150 et 300 mg/kg de poids corporel aux souris.

Au cours du suivi des souris témoins et des souris traitées pendant les six heures après l'injection de la carragénine, une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots été observée. Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez le groupe témoin a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que la carragénine à induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème. A cet effet, L'augmentation du volume de l'œdème de la patte postérieure droite en fonction du temps permettra d'apprécier l'importance de l'effet anti-inflammatoire des extraits testés.

Dans les conditions expérimentales la carragénine a provoqué l'œdème dont le volume est maximal au bout de trois heures (Singla et Pathak, 1990 ; Viana et *al.*, 1998). Cette réponse inflammatoire est biphasique dont la phase initiale, qui dure environ une heure, est due à la libération de l'histamine et de la sérotonine, la bradykinine est libérée au cours de la deuxième phase (de 1,5 à 3 heures), et la biosynthèse des prostaglandines intervient au-delà de la troisième heure (Wantana et *al.*, 2009). Ces médiateurs augmentent la perméabilité des capillaires de la région. En conséquence, l'exsudat s'échappe de la circulation sanguine vers l'espace interstitiel. Cet exsudat est la cause de l'œdème localisé, qui, à son tour, comprime les terminaisons nerveuses et détermine ainsi une sensation de douleur (Devulder et *al.*, 2002 ; Rousselet et *al.*, 2005). La carragénine provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (Sen et Nag, 1991 ; Singh et *al.*, 1997 ; Suzuki ; Kishimoto; Misawa, 1996).

Par ailleurs, l'administration des extraits par voie orale prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris après l'administration de la carragénine. Dans cette étude, cet effet sera observable par la faiblesse du pourcentage d'augmentation de l'œdème. En effet, les extraits ingérés par les souris, une heure avant de provoquer l'œdème, jouent un rôle préventif en limitant la taille de l'œdème pour les sujets traités.

De plus, l'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test d'inhibition de l'œdème de la patte droite postérieure de souris. Cependant, l'extrait aqueux *Centaurea s.p* s'est révélé plus actif, plus précisément à la sixième heure avec la dose 150mg/Kg de PC. En outre, L'inhibition de l'œdème de l'extrait aqueux de la plante est comparable, à celle de Diclofénac.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs recherches qui rapportent que le genre *Centaurea.L* a un effet anti inflammatoire (Talhouk et al 2008 ; Kitouni et al., 2015).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait peut s'expliquer par la présence des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes. (Gonzalez-Gallego et al., 2010).

De plus, les résultats obtenus dans l'étude histologique montrent que l'injection de la carragénine induit une réaction inflammatoire aigue. D'ailleurs, 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'une 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.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Centaurea s.p* montre que cette plante possède un pouvoir pharmacologique, et par ce fait, elle pourrait être utilisée comme composés alternatifs particulièrement dans la prévention contre l'inflammation.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

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.

La phytothérapie désigne la médecine fondée sur les extraits de plante et les principes actifs naturels. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle. Les maladies inflammatoires est l'un des pathologies qui peuvent être traité par la phytothérapie.

Dans cette étude l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des racines de *Centaurea s.p* a été déterminée chez les souris model de la patte inflammatoire. Un effective de 16 souris a été utilisé, ces souris sont réparties en quatre lots (quatre souris par lot). Chaque lot reçoit respectivement par voie orale la dose 10ml/kg de PC, d'une solution de NaCl (Lot témoin), de Diclofénac (Lot standard) et d'extrait aqueux de *Centaurea s.p* (150 et 300mg/Kg de PC). Une heure après, les quatre lots reçoivent une injection de carragénine à 0,1%. L'œdème a été évalué par la mesure du diamètre (mm) de la patte dans l'axe dorsal-plantaire avant et après l'injection à des intervalles d'une heure, pendant 6 heures.

De plus, une étude histologique des pattes enflammée est réalisée à la fin de l'expérimentation.

Les résultats montrent que l'injection de la carragénine (0,1%) entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris de tous les lots. Par ailleurs, l'administration orale du Diclofenac (50mg/Kg de PC) prévient de façon significative l'inhibition de l'œdème de la patte de souris au cours de deuxième, quatrième et cinquième heure de l'expérimentation avec 55.25 ± 10.43 , 52.4 ± 25.84 et $61.87 \pm 20.24\%$, respectivement.

Les pourcentages d'inhibition de l'œdème inflammatoire après le traitement par l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* à la dose 150mg/kg de PC présentent une activité inhibitrice de l'œdème de la patte de souris à la deuxième, troisième et sixième heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de 62.04 ± 2.92 , 52.4 ± 12.06 et de

61.42±9.89% respectivement. A la dose 300mg/kg de PC le pourcentage de l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux se manifeste au cours de la deuxième, quatrième et cinquième heure d'expérimentation avec 50.24±7.97, 47.99±9.83 et de 50.04±29.19% respectivement.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *C. s.p* à la dose 150 et 300mg/kg de PC a un effet sur l'œdème aigue de la patte de souris induit par la carragénine, l'extrait aqueux à la dose 150mg/kg de PC est plus efficace que l'extrait aqueux à la dose 300 mg/kg de PC et l'anti-inflammatoire non stéroïdien (Diclofénac).

L'étude histologique a révélé que l'extrait aqueux à la dose 150 et 300 mg/kg de PC a un effet anti-inflammatoire, car la disparition de l'infiltrat inflammatoire est totale.

L'ensemble de ces résultats montre que l'extrait aqueux de *Centaurea s.p* exerce un effet anti-inflammatoire. De ce fait, elle pourrait être utilisée comme composés alternatifs particulièrement dans la prévention contre l'inflammation.

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

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Adrie C**, Pinsky MR. (2000).The inflammatory balance in humansepsis. Intensive care Med; 26 :364_375.
- **Aggarwal BB**, Shishodia S sandur SK, Pandey MK, sethi G (2006) inflammation and cancer : biochempharmacol 72 : 1605_1621.
- **Ahmed, Z. F.**, Hammoud, F. M., Rizk, A. M. and Ismail, S. L. (1970), *Planta Med.*, 18, 227-231.
- **Ammon H. P**, Safayhi H.; Mack T.;Sabieraj J., (1993).- Mechanism ofanti-inflammtory actions of curcumne and bowellicacids. *Ethnopharmacology*, 38:113-119.
- **Barnes Peter J** (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecularmechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.
- **Barton G M** (2008) A calculatedresponse: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, 413-420
- **Bianchi M E** (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all weneed to know about danger. *J LeukocBiol*, 81, 1-5.
- **Blain, Jouzeau**, Netter and Jeandel (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *RevMéd Interne*, 21, 978-88.
- **Bnouham, M.**, Merthfour, F, Z., Legsser, A., Mekhfi, H., Maâllem, S., Ziyyat, A. (2007). Antihyperglycemic activity of *Arbustus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsuta*. published in Germany, 62 (8) : pp630-2.
- **Bohlman, F.**, Burkhardt, T. and Zdero, C. (1973), *Naturally Occuring Acetylenes*, Academic Press, London, 452.
- **Buruk, K.**, Sokmen, A., Aydin, F. and Murat Erturk, M. (2006), *Fitoterapia*, 77: 388 391.
- **Calvano SE**, Xiao W, Richards DR (2005). A network-basedanalysis of systemic inflammation in humans. *Nature*, 437, pp. 1032-1037
- **Carl crouzilles** et carole siebert, (2010) ; precessus inflammatoires et infectieux ; pp 200 ; (9,12) pp, Italie.
- **CazinFrançois Joseph**, (1868). *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes*, troisième édition.

- **Charles Duyckaerts**, pièrefourret et jean_jacqueshauw ;(2003). Anatomie pathologique, niveau PCEM2.
- **Charles N Serhan**, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010). Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.
- **Clarke J. M.**, Sabrena M. B.; Edward C.; Jo Rae W.,(1996).- Surfactant protein A protects growing cells and reduces TNF-alpha activity from LPS-stimulated macrophages. American Journal of Physiology, 271:310-319.
- **Coussens LM**, Werb Z. (2002). Inflammation and cancer. Nature ; 420: 860-7
- **Eming, S.A.**, Werner, S., Bugnon, P., Wickenhauser, C., Siewe, L., Utermöhlen, O. et al.(2007). Accelerated wound closure in mice deficient for interleukin-10. *Am J Pathol*; 170: 188–202
- **Erdemoglu N**, Küpeli E, silada E Y (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. Journal of Ethnopharmacology, 89, 123–129.
- **Ferrari, J.** (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. Thèse de doctorat. Ex A. Rich. Université de Lausanne, pp9, 17, 27, 42, 48, 158, 182.
- **Fonteneau Paul**, (2004), immunologie (traduction de la 4ème édition anglaise).
- **Fouché, J.G.**, Marquet, A., Hambuckers, A. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, B77. B-4000 Liège.
- **Girre, L.** (1991). *Journal de Pharmacie de Belgique*, 46(5), 325-6.
- **Gonzalez-Tejero**, M.R, Casares-Porcel, M., Sanchez-Rojas, C.P., et al. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol*, 116 : 341–57
- **Graham, J.G.**, Quinn, M.L., Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R. (2000). Plants used against cancer extension of the work of Jonathan Hartwell. *J. Ethnopharmacol*, 73: 347–77
- **Grandin Matthieu** ; (2013). les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances en pratique officinale, thèse de doctorat en pharmacie, pp. 24-26.

- **Gurtner G. C.**, Werner S., Barrandon Y., Longaker M. T. (2008). Woundrepair and regeneration. *Nature* 453, 314–321.
- **Hans W. K.** 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.
- **Hans, W. K.** (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.
- **Haya, B.**, Amour, R. 1992 .Extraction des huiles essentielles du clou de girofle. Université de Blida: Institut de chimie industrielle, P.F.E.
- **Henzen .C** (2003). Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442-446.
- **Hogan S.P.**, Rosenberg H.F., Moqbel R., Phipps S., Foster P.S., Lacy P. et Kay A.B. (2008). Rothenberg ME (2008). Eosinophils:BiologicalProperties and Role in Health and Disease. *Clinical and ExperimentalAllergy*, 38: 709-750.
- **Kaij-A-Kamb, M.**, Amoros, M., Chulia, A. J., Kaouadji, M., Mariotte, A. M., Girre, L. (1991). *Journal de Pharmacie de Belgique*, 46(5), 325-6.
- **Kaij-A-Kamb, M.**, Amoros, M., Chulia, A. J., Kaouadji, M., Mariotte, A. M.,
- **Kumar Vinay**, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell (2007). *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition, 20-60
- **Kumar, G.**, Karthik, L., Kokati, V.B. 2010. Antimicrobial activity of latex of *Calotropis gigantea* against pathogenic microorganisms - An in vitro study. *Pharmacologyonline*, 3: 155-163.
- **Kumarasamy, Y**, Middleton, M., Reid, R. G., Nahar, L. and Sarker, S.D. (2003), *Fitoterapia*74: 609–612.
- **Lafont et Duval**, (2001). *Le preparateur en pharmacie dossier1 chimie-biochemie paris Technique et documentation.*
- **Léger Jean-François**, 2007, taxons de la BDTFX.
- **Majno G.** et Joris I. (2004). *Cellules, tissus et maladies.* Oxford Univ. Press.
- **Male D.**, Roitt Y., Brostoff J. et Roth D.B. (2007). *Mécanisme de l’immunité innée.* Immunologie. Eds, Masson (France), 155p.
- **Medzhitov R**, origin and physiologicalroles of inflammation. *Nature* 2008, 454, pp. 428-435
- **Menz, J.**, Winkelmann, R. K. (1987), *Contact dermatitis*, 16, 169.
- **Middleton, M.**, Cox, P. J., Jaspars, M., Kumarasamy, Y., Nahar, L., Reid, R., Sarker, S. D. (2003). *BiochemicalSystematics and Ecology*, 31(6), 653-656.

- **Millogo H.**, 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.
- **Mohr**, et al.2001, the impact of medicaltechnology on future health care costs : final report. Bethesda : projecthope.
- **Monea, M.**, Racz-Kotilla, E. (1978). *RevistaMedicala*, 24(2), 166-71.
- **Nathan C** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852
- **Nicolas Jean-François**, Florence Cousin and Jean Thivolet (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John LibbeyEurotext, 2001, 55-58.
- **NoursharghSussan**, Fritz Krombach, and ElisabettaDejana (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulatingleukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of LeukocyteBiology*, 80, 714-718.
- **Ochsmann, Jörg.** (2005). The Knapweed pages. <http://www.centaurea.net>
- **Patrice Magnard.** (2014). La réaction inflammatoire aiguë.Copyright 2000-2014 Maxicours RCS PARIS B432623429.
- **Picher, M.**, Savane, T. and Ampara, T. J. (1984), *J. Nat. Prod.*, 47, 184-185.
- **Pirard Mady**, Initiation à la phytothérapie Guide pratique d'une herboriste, 2016.
- **Prin L**, Hachulla E, Hennache B, Bonnotte B, Dubucquoi S, Abbal M, Faure G, Bouletreau P; (2009).
- **Quezel, P.** and Santa, S. (1963), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, TOME II, France – Paris, 1016, 1020.
- **R. Kulikowski**, R. R. and Mascarenhas, J. P. (1978). *Plant Physiol.* 61, 575-580
- **Rankin J.A.** (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15: 3-17.
- **Rodet Henri**, (1872). Botanique agricole et médicale ou étude des plantes qui intéressent principalement les médecins, les vétérinaires et les agriculteurs, 2^e édit
- **Rousselet MC**, Vignaud JM, Hofman P, Chatelet FP. (2005). Inflammation et Pathologie Inflammatoire. Paris Maloine; 320-331.
- **Ruslan M.** (2008). Origin and physiological roles of inflammation *Nature*, 454: 428-435
- **Sarker, S. D.** (2003). *BiochemicalSystematics and Ecology*, 31(6), 653-656.

- **Sen T.** ; Nag C. A. K., 1991.- Antiinflammatory evaluation of Plucheaindicarootextract. *J. of Ethnopharmacology*, 33: 135-141.
- **Senhaji, O.**, Faid, M., Elyachioui, M., Dehhaoui, M. 2005. Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. pp222.h
<http://france.elsevier.com/direct/mycmed/>.
- **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.
- **Singh S.** ; Bani S. ; Singh S. B. ; Gupta B. D. ; Banerjee S. K. ; Singh B., (1997). Antinflammatory activity of lupeol. *Fitoterapia*, LXVIII (1) : 9-16.
- **Singla A. K.** ; Pathak k. (1990). Topical antiinflammatory effects of Euphorbia prostrata on carrageenan-induced foot pad oedema in mice. *Journal. Of Ethnopharmacology*, 29: 291-294.
- **Skliar, M. I.**, Toribio, M.S. and Oriani, D.S. (2005), *Fitoterapia*, 76: 737– 739
- **Steinhubl S.R.** (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 21:115-121.
- **Strang C.** 2006. Larousse medical. Ed Larousse.
- **Suzuki T.** ; Kishimoto Y.; Misawa M., (1996). Formalin-and carrageenan-induced inflammation attenuates place preferences produced by morphine, methamphetamine and cocaine. *Life Science*, 59: 1667-1674.
- **Swynghedauw Bernard**, (2009). Quand le gène est en conflit avec son environnement (une introduction à la médecine darwinienne). 366, pp. 131-132
- **Tela Botanica**, (2011). Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica.
- **Thiefin G.** ;(2003). Complications gastro-intestinales des anti-inflammatoires non stéroïdiens et de l'aspirine à faible dose, *Gastroentérologie clinique et biologique*, vol. 27, 498-510.
- **Trease, G. F.** and Evans, W. C. (1983), *Pharmacognosy*, 225, 514, Bailliére, Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Janeiro, Tokyo, Hong Kong.
- **Viana C. F. G.** ; Aragao A. G. M.; Ribeiro R. A.; Magalhaes J. F. G.; Yale M . R., (1998). Effects of *Ageratum conyzoides* in nociception and inflammation response induced by zymosan. *Fitoterapia*, LXIX (4): 349-354.

- **Wagner EF**, Eferl R (2005). Fos/AP-1 proteins in bone and the immune system. *ImmunolRev* 208: 126–140
- **Wagner, J.G.** et Roth, R.A. (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacolrev* 52 : 349.
- **Weill B.**, Batteux F. et Dhainaut J. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris). 12-23.
- **Winter.C.A**, E.A. Riskey et G.W. Nuss (1962). Carragenin-induced edema in hindpaw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 544-547.
- **Yayli, N.**, Ahmet Yas, A., Canan Gulec, C., Usta, A., Kolaylı, S., Coskunc, E. K. and S_Engui, (2005), *Phytochemistry*, 66: 1741–1745.

ANNEXES

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

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	38.53	64.5	40.46	51.86	63.47	69
ecartype	3.62	14.43	21.73	15.13	23.52	7.24

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

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	39	38.31	28.96	25.4	24.19	28.87
ecartype	8.43	6.07	15.35	13.79	12.84	6.73

Tableau 9 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris traitées par *Centaurea nigra* à la dose 150mg/kg de PC.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	32.42	24.49	25.78	28.48	23.7	22.44
ecartype	7.13	1.88	6.53	16.85	13.86	5.75

Tableau 10 : pourcentage d'augmentation du volume de la patte des souris traitées par *Centaurea nigra* à la dose 300mg/kg de PC.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	37.72	32.10	29.76	27.80	24.68	29.76
ecartype	7.99	5.14	4.67	5.90	5.68	4.67

Tableau 11 : pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris Standard.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	8.71	55.25	46.57	52.40	61.87	34.145
Ecartype	12.42	10.43	28.33	25.85	20.24	10.43

Tableau 12 : pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par *Centaurea nigra* à la dose 150mg/kg de PC.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	16.81	62.04	52.43	46.62	62.535	61.42
Ecartype	17.42	2.92	12.06	31.58	22	9.89

Tableau 13 : pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par *Centaurea nigra* à la dose 3000mg/kg de PC.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Moyenne	22.73	50.24	45.01	47.99	50.04	35.15
Ecartype	12.14	7.97	10.88	9.83	29.19	13.73