



DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BOUCHIKHI Siham et MEKKI Amina**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité : Nutrition et Pathologie**

**THEME**

*Exploration des Activités Biologiques de  
l'Extrait des graines de *Lepidium sativum* linn.  
In vitro et In vivo*

Soutenue publiquement le ...../ 07/2018

DEVANT LE JURY

Présidente	Dr. ZIAR Hasnia	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Dr. YAHLA Imène	MAB	U. Mostaganem
Examinatrice	Mme. KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima	MAA	U. Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments fonctionnels et de la Santé (LMBAFS)*



# *Dédicace*

*C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant tous les moments que j'ai traversé,*

*A ma très chère **mère** et Mon très cher **père**.*

*J'espère Que dieu vous protège et vous garde.*

*A mes très chères sœurs : Manal, Amira et Ritadj khadidja.*

*A ma binôme : Mekki Amina.*

*On pensant à mes chères amies : Fatiha, Nouriya, Ikram, Souhila, Ahlam, Sara,  
Mimouna*

*A mes ami(e)s de la promotion de master Nutrition et Pathologie.*

*A mes cousin(e)s : Fatma, Sara, Soumaya, Ikram, Chahinaz, Omar, Mouaradj,  
Ali, Abdarahman, Ben'amer, Chaima, Ahlam, baraa,...*

***Siham***



# *Dédicace*

*C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant les moments que j'ai traversé,*

*A ma très chère **mère** et Mon très cher **père**.*

*J'espère Que dieu vous protège et vous garde.*

*A mes très chers frères : Mohamed, Mohamed lamine, Mustapha, Saddam et Mourad*

*A mes très chères sœurs : Torkia et Salima*

*A ma binôme : Bouchikhi Siham*

*A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir : Hafida, Saida, Amina, Chahra, Ikram, Hadjer, Anissa, Sarah, Nesarine et Djihane*

*A toute ma famille et surtout à mes cousines : Amoula, Manel et Chaima*

*A mes ami(e)s de la promotion de master Nutrition et Pathologie*

*A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin*

***Amina***

# *Remerciements*

*Avant tout propos, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous remercions notre encadreur **Dr. YAHLA Imène** pour avoir encadré et dirigé ce modeste travail avec une grande rigueur scientifique pour sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordée et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail ; sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus universitaire.*

*Nous remercions **Dr. Ziar** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions également **Dr. Kouadri Boudjelthia** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous adressons nos remerciements à la technicienne du laboratoire des Microorganismes Bénéfique, des Aliments Fonctionnels et de la Santé, **Mme Djahira** pour son aide précieuse, sa disponibilité, sa gentillesse, sa patience et sa bienveillance*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail de recherche et qu'on n'a pas cités, on vous présente l'expression de nos remerciements les plus sincères.*

**« Merci »**

***Siham et Amina***

## Résumé

Notre travail a porté sur l'étude des activités biologiques de l'extrait des graines de *Lepidium sativum*. L'analyse de cet extrait a révélé la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols totaux et flavonoïdes) susceptibles d'exprimer les activités recherchées et leurs teneurs ont été déterminées par des méthodes spectrophotométriques. L'extrait a été également soumis à un criblage pour son activité antimicrobienne possible *in vitro*, contre huit souches de bactéries pathogènes et deux espèces de levure, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. L'extrait a réagi positivement sur les souches microbiennes testées et les CMI ont été déterminées.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée avec deux méthodes différentes : technique de réduction du radical libre DPPH et le test de réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait peut agir en tant que piègeur de radicaux.

L'exploration de l'activité anti inflammatoire *in vitro* a montré que l'extrait possède une forte capacité d'inhiber la dénaturation protéique à raison de 70.5%. Comme il a prouvé significativement son efficacité *in vivo* dans la réduction de 80,26% de l'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris.

En outre, l'extrait a prouvé significativement son activité analgésique en réduisant les contorsions induites par l'acide acétique de 40% chez la souris. De même, l'administration de l'extrait a exercé une inhibition de 72,94% de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.

Mots clé : graines de *Lepidium sativum*, effet antibactérien, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, effet analgésique, perméabilité vasculaire.

## ملخص

تركز عملنا على دراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلص بذور *Lepidium sativum* وكشف تحليل هذا المستخلص عن وجود بعض المجموعات الكيميائية (البوليفينول الكلي والفلافونويد) القادرة على التعبير عن الأنشطة المرغوبة وتم تحديد محتوياتها بواسطة طرق القياس الطيفي. كما تم فحص المستخلص لنشاطه المضاد للميكروبات *in vitro* ، مقابل ثمانية سلالات من البكتيريا المسببة للأمراض واثنين من أنواع الخميرة ، وذلك باستخدام طريقة الانتشار في القرص الصلب. تفاعل المستخلص إيجابيا على السلالات الميكروبية التي تم اختبارها وتم تحديد CMI .

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة *in vitro* بطريقتين مختلفتين: تقنية تقليل الجذور الحرة DPPH واختبار الحد من الحديد (FRAP) وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص يمكن أن يعمل كمزيل للراديكالين.

وقد أظهر التحقيق في النشاط المضاد للالتهابات *in vitro* أن المستخلص له قدرة قوية على منع تمسخ البروتين بنسبة 70.5%. كما أثبتت بشكل كبير في فعالية الجسم الحي في الحد من 80.26% من الوذمة الأخصية الناجمة عن الكاراجينين في الفئران.

بالإضافة إلى ذلك ، أظهر المستخلص بشكل ملحوظ نشاطه المسكن عن طريق تقليل التشوهات التي يسببها حمض الخليك بنسبة 40% في الفئران. وبالمثل ، فإن تناول المستخلص قد تسبب في تثبيط نفاذية الأوعية الدموية التي يسببها حمض الأسيتيك بنسبة 72.94% في الفئران.

**الكلمات المفتاحية:** بذور *lepidium sativum* ، تأثير مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، تأثير مسكن ، نفاذية الأوعية الدموية.

## Abstract

The present study aimed to highlight the biological activities of *Lepidium sativum* seeds extract. The analysis of this extract revealed the presence of some chemical groups (total polyphenols and flavonoids) capable of expressing the desired activities and their contents were determined by spectrophotometric methods. The extract was also screened for its possible antimicrobial activity *in vitro*, against eight pathogenic bacteria strains and two yeast species, using the diffusion method from a solid disc. The extract reacted positively on the microbial strains tested. Then, the MICs were determined.

*In vitro* antioxidant activity was studied with two different methods: free radical reduction technique DPPH and iron reduction test (FRAP). The results obtained showed that the extract could act as a scavenger of radicals.

The investigation of the anti-inflammatory activity *in vitro* has shown that the extract has a strong ability to inhibit 70.5% of protein denaturation. As it proved significantly its *in vivo* efficacy in reducing 80.26% of carrageenin-induced plantar edema in mice.

In addition, the extract significantly demonstrated its analgesic activity by reducing acetic acid-induced contortions by 40% in mice. Similarly, administration of the extract exerted a 72.94% inhibition of acetic acid-induced vascular permeability in mice.

**Key words:** *Lepidium sativum* seeds, antibacterial effect, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, analgesic effect, vascular permeability.

## La table des matières

Remerciements.....	i
Résumé.....	ii
ملخص.....	iii
Abstract.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Liste des abréviations.....	vii
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	<b>.</b>
<b>Chapitre I : Etude botanique</b>	
I – Espèce végétale étudiée.....	03
I - 1 Classification.....	03
I –1.1 L’ordre des <i>Brassicales</i> .....	03
I – 1.2 La famille <i>Brassicacée</i> .....	03
I - 1.3 Le genre <i>lepidium</i> .....	04
I –2. L’espèce de <i>lepidium sativum linn</i> .....	05
I–2.1.Nomenclatures de <i>lepidium sativum linn</i> .....	05
I - 2.1.1 Nom scientifique.....	05
I - 2.1.2.Nom commun.....	05
I - 2.1.3. Nom régional.....	05
I – 2.2 Description de la plante .....	05
I –2.3 Description des graines du cresson alénois.....	06
I –2.4 La valeur nutritive du cresson.....	06
I –2.5. L'origine du cresson alénois.....	07
I – 2.6. Utilisations et propriétés .....	07
I – 2.6.1. Propriétés chimiques.....	07
I – 2.6.2. Propriétés pharmacologiques .....	07
II Les métabolites secondaires .....	08
II - 1. Définition .....	08
II - 2. Classification des métabolites secondaires .....	08
II -2.1. Les polyphénols .....	08
II -2.1.1. Tannins .....	09
II -2.1.2. Les Flavonoïdes .....	09
II- 2.2. Les composés Terpénoides .....	09
II -2.3. Les alcaloïdes .....	10
<b>Chapitre II : Les activités biologiques de L. sativum</b>	
I - Les activités biologiques de <i>L. sativum</i> .....	11
I –1. Activité anti-microbienne .....	11
I – 2. Activité anti-oxydante.....	11
I – 3.Activité anti-inflammatoire .....	11
II- Autres propriétés pharmacologiques .....	12
II- 1. Effet antihypertenseur et antidiabétique .....	12
II- 2. Effet anti-cancérigène .....	13
II- 3. Effet anti-diarrhéique et antispasmodique .....	13
II- 4. Effet de guérison de la fracture osseuse .....	14
II- 5. Effet hépato-protecteur .....	14
II-6. Effets chimio-protecteurs .....	15

II- 7. Effets diurétique, néphrocuratif et néphroprotecteur .....	15
III- Autres effets bénéfiques .....	16

## **Partie II : études expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthode**

I – Matériels.....	17
I – 1. Matériel végétal .....	17
I – 2. Modèle animal.....	17
I – 3. Réactifs chimiques et instrumentations.....	18
I – 4. Appareillage utilisé.....	19
II – Méthodes.....	19
II- 1 Méthode d'extraction.....	19
II- 1.1 principe .....	19
II- 1.2. Protocole.....	20
II- 1.3. Rendement de l'extraction .....	20
II -2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	20
II – 2.1.1. Principe.....	20
II – 2.1.2. Protocole.....	20
II – 2.1.3.Expression des résultats.....	21
II – 2.2. Dosage des flavonoïdes.....	21
II – 2.2.1 Principe .....	21
II – 2.2.2 Protocole.....	21
II – 2.2.3 Expression des résultats.....	21
II – 3. Détermination de l'activité antimicrobienne.....	21
II - 3. 1. Milieux de culture et conditions d'incubation.....	22
II - 3.1.1. Souches bactériennes et fongiques utilisées.....	22
II - 3.1.2. Réactivations et l'inoculum les souches bactériennes .....	22
II - 3. 2 Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque) .....	23
II - 3. 2.1. Préparation des disques.....	23
II - 3. 2.2. Protocole.....	23
II - 3. 3.Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	24
II – 4. Activité Anti-oxydante.....	24
II - 4.1. Mesure du pouvoir anti-oxydant par le test au 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	24
II - 4.1.1. Principe.....	24
II - 4.1.2. Protocole.....	25
II - 4.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power).....	25
II - 4.2.1. Principe.....	25
II - 4.2.2 Protocole.....	26
II – 5. Détermination de l'Activité Anti-inflammatoire ( <i>in vitro</i> ).....	27
II – 6. Activités biologiques <i>in vivo</i> .....	27
II 6.1. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion).....	27
II 6.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	28
II 6.2.1. Test de l'œdème plantaire induit par carragénine.....	28
II - 6.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique.....	30

### **Chapitre II : Résultats et discussion**

I - Extraction .....	33
II – 1.1. Teneur en polyphénols totaux .....	33
II – 1.2. Teneur en flavonoïdes.....	34
II – 2. Etude de l'activité antimicrobienne.....	35
II - 2.1. Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque).....	35

II - 2. 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	39
II – 3. Etude de l’activité antioxydante .....	41
II - 3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	41
II - 3.2. Test de la réduction du fer (FRAP).....	42
II – 4. Etude de l’activité anti-inflammatoire ( <i>in vitro</i> ).....	43
II – 4.1. Test de dénaturation des protéines.....	43
II – 5. Activités biologiques ( <i>in vivo</i> ).....	44
II 5.1. Etude de l’activité analgésique (Test de torsion).....	46
II 5.2. Etude de l’activité anti-inflammatoire in vivo.....	46
II 5.2.1. Test de l’œdème plantaire induit par la carragénine.....	46
II 5.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l’acide acétique chez la souris.....	47
Conclusion.....	49
Annexes.....	51
Références bibliographiques.....	53

## Liste des Abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**A** : Absorption

**ALP** : phosphatase alcaline

**AST** : l'aspartateaminotransférase

**ALT** : l'alanine aminotransférase

**Abs** : Absorbance

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CCl<sub>4</sub>** : Tetrachloromethane

**C** : Carbone

**DO** : la densité optique

**DMSO** : diméthyl-sulfoxyde

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

**EELS** : l'extrait éthanolique de *lepidum sativum*

**EAG/g**: Equivalent d'acide gallique par gramme

**EQ/g** : Equivalent de quercétine par gramme de matière sèche

**FRAP** : ferric reducing-antioxydant power

**GAE** : équivalents d'acide gallique

**h** : heure

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50 %

**IQ** :imidazoquinolin

**ip** : intra-péritonéale

**g** : gramme

**mm** : millimètre

**mg** : Milligramme

**min** : Minutes

**ml** :Millilitr

**µg** : microgramme

**µl** : Microlitre

**QE** : Equivalents de Quercétine

**R** : Rendement

**SBA** : sérum bovine albumin

**UDPG** : glucurosyltransferrase

**UI** : Unité Internationale

**v/v** : Rapport volume par volume

**%** : Pourcentage

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Valeur nutritive du cresson (Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010).....	6
<b>Tableau 2</b> : liste des souches bactériennes et fongiques étudiées.....	18
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques de l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> .....	33
<b>Tableau 4</b> : Teneur en phénols totaux dans l'extrait éthanolique.....	34
<b>Tableau 5</b> : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique.....	35
<b>Tableau 6</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'EELS exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm .....	36
<b>Tableau 7</b> : Détermination de la CMI de l'extrait éthanolique de <i>lepiduim sativum</i> .....	40
<b>Tableau 8</b> : Les valeurs des IC50 des extraits testés.....	42
<b>Tableau 9</b> : Effets anti inflammatoire de l'EELS in <i>vitro</i> .....	43

## Liste Des Figures

<b>Figure 1</b> : Plante de cresson alénoi (Pandya,2011) .....	05
<b>Figure 2</b> : la vue picturale de (a) les graines de cresson, (b) les graines dans l'eau, et (c) la poudre de graines de cresson (Rasavi et al., 2007) .....	06
<b>Figure 3</b> : la classification des composés phénoliques (luthria, 2006).....	09
<b>Figure 4</b> :(A) Les graines de cresson alénois et (B) Les graines de cresson alénois en poudre.....	17
<b>Figure 5</b> : Modèle animal étudié .....	18
<b>Figure 6</b> : Appareillage d'extraction sous vide .....	20
<b>Figure 7</b> : Réactivation les souches (Institut Pasteur, 2017) .....	23
<b>Figure 8</b> : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012) .....	24
<b>Figure 9</b> : Schéma de la réaction de test FRAP (PRIOR et al., 2005) .....	26
<b>Figure 10</b> : Injection intra-péritonéale d'acide acétique à 1% chez les souris.....	28
<b>Figure 11</b> : (a) administration d'EELS ; (b) injection sub-plantaire de le carragénine.....	29
<b>Figure 12</b> : Mesure de l'épaisseur de la patte à l'aide d'un pied à coulisse digital.....	30
<b>Figure 13</b> : (a) injection intraveineuse de bleu d'Evans ; (b) injection intra-péritonéal de l'acide acétique.....	30
<b>Figure 14</b> : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	34
<b>Figure 15</b> : Droite d'étalonnage de la Quercétine.....	35
<b>Figure 16</b> : % d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait.....	41
<b>Figure 17</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> et l'acide ascorbique. ....	43
<b>Figure 18</b> : une souris avec une crampe.....	45
<b>Figure 19</b> : Les pourcentages d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> (EELS) et du paracétamol.....	45
<b>Figure 20</b> : Inhibition de l'œdème plantaire (en %) par l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> (EELS) et le diclofénac (D).....	46
<b>Figure 21</b> : Les pourcentages d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> (EELS) et de l'indométacine.....	47

## Introduction

Les plantes ont constitué le premier et principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme et ce, pendant de nombreux siècles. Dans diverses civilisations et sur tous les continents, les pharmacopées végétales se sont développées et enrichies grâce à l'empirisme. Avec un don d'observation inégalé, les anciens ont pu mettre en évidence des propriétés curatives ou préventives des plantes médicinales qui n'ont d'ailleurs, jamais été démenties par l'usage (**Carillon, 2009**).

Les plantes médicinales sont devenues importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**OMS, 1998**). Ainsi, malgré le développement du médicament de synthèse, le médicament végétal sous ses différentes formes continue à occuper une place de choix. Entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Adossides, 2003**), soit un total de 120 composés provenant de 90 plantes différentes (**Kar, 2007**).

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

Le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national.

*Lepidium sativum* Linn. Appartient à la famille des *Brassicacées* (famille des choux) et est communément appelé "cresson alénois", "cresson de jardin". La plante est appelée "Hab el Rashaad" ou "hurf" en Algérie. L'origine du cresson alénois est assez floue dans Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen Orient, Asie de l'Ouest. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Egypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. (**Jansen, 2007**).

Le cresson alénois est utilisé comme aliment et source de médicaments, et il est efficace contre diverses maladies telles que l'hypertension, l'arthrite, l'hépatotoxicité, l'inflammation, le diabète, le cancer, la bronchite, etc. sur la base de nombreuses études, *Lepidium sativum* a prouvé sa valeur et mérite par des études plus approfondies sur ses utilisations nutritionnelles et médicinales (Falana et al., 2014).

Notre travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres. Le premier chapitre aborde les études botaniques d'espèce végétale étudiée tandis que le deuxième chapitre, s'intéresse aux activités biologiques de *lepiduim sativum* et particulièrement, l'activité anti-microbienne, anti-oxydante et anti-iinflamatoire.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- La méthode utilisée pour l'extraction ;
- La détermination des taux des polyphénols et des flavonoïdes de notre extrait ;
- La mise en évidence des activités anti-microbienne, anti-oxydante et anti-inflammatoire *in vitro* ;
- La mise en évidence des activités anti-inflammatoire et analgésique ainsi que le test de l'inhibition de la perméabilité vasculaire *in vivo*.

Le second est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

---

## Chapitre I : Etude botanique

### I - Espèce végétale étudiée

#### I – 1. Classification

- Règne :** *Plantae* (plante)  
**Division :** *Angiospermes*  
**Classe :** *Dicotyledonae*  
**Sous- classe:** *Polypetalae*  
**Série :** *Thalamiflorae*  
**Ordre :** *Brassicales*  
**Famille :** *Brassicacées, (Crucifères)*  
**Genre:** *Lepidium Linn*  
**Espèc :** *Lepidium sativum Linn (George, 1959)*

#### I – 1.1. L'ordre des Brassicales

Les brassicales rassemble près de 4500 espèces en 17 familles dont certaines sont monospécifiques ; elles ont acquis des carpelles « ouverts » ; les brassicacées, plantes herbacées surtout des régions tempérées y sont largement dominantes. Il y a aussi les capparacées, résédacées, caricacées et tropéolacées (**Dupont et Guignard, 2012**).

#### I – 1.2. La famille Brassicacée

Les brassicacées comprennent 3400 espèces, réparties sur toute l'étendue du globe, mais plus abondantes dans l'hémisphère Nord. C'est une famille facile à définir et très reconnaissable par ces fleurs à pétales disposés en croix, d'où le nom ancien de Crucifères (du latin « cruce m ferre », porter une croix) (**Dupont et Guignard, 2012**).

La famille **Brassicacée** composée d'environ 300-420 genres dans l'ordre des Brassicales, les principaux genres de la famille Brassicacées sont :

- *Lepidium*, (les passerages) ;
- *Arabis*, (arabette) ;
- *Capparis* ;
- *Isatis*, (pastel) ;
- *Draba*, (drave) ;
- *Cleome* ;

- *Crataeva* ;
- *Thlaspi*, (tabouret) (**Spichiger, 2009**).

Quelques genres exotiques :

- *Anastatica* (*A. hierochuntica*, rose de jéricho) ;
- *Xerodraba* (andes, argentine);
- *Heliophila* (afrique du sud) (**Martin, 2013**)

### I - 1.3. Le genre *lepidium*

Le genre *Lepidium* est constitué d'environ 175 espèces, largement distribuées à travers le monde, sur tous les continents excepté en Antarctique. C'est l'un des genres les plus représentés de la famille des Brassicacées. Peu d'informations sont connues sur la période d'apparition de ce genre. Il semble que celui-ci soit originaire du bassin méditerranéen, où la plupart des espèces diploïdes ont été trouvées.

Les *Lepidium* sont connus sous le nom vernaculaire de "Passerage", nom proclamant l'ancienne utilisation comme antidote de la rage.

*Lepidium* est la transcription du grec lepidion, diminutif de lepis, coquille, et signifie petite coquille, sans doute par allusion à la forme des fruits.

Ce sont des plantes annuelles, vivaces ou sous-ligneuse, à fleurs petites, blanches, rose ou violacées, caractérisées par la silicule déhiscente, à loge renfermant une ou rarement deux graines (**Drouet, 2002**).

Les principales espèces sont :

- **Cresson Alénois** : *Lepidium sativum* L
- Passerage Drave : *Lepidium draba* L.
- Passerage des champs : *Lepidium campestre* L.
- Grande Passerage : *Lepidium latifolium* L.
- Petite Passerage : *Lepidium graminifolium* L.
- Passerage des décombres : *Lepidium rudérale* L (**Drouet, 2002**).

## I – 2. L'espèce de *lepidium sativum* linn

### I – 2.1. Nomenclatures de *lepidium sativum* linn

#### I - 2.1.1. Nom scientifique : *lepidium sativum* linn

I - 2.1.2. Noms commun : passeraige, cressonnette, nasitort, cresson des prés, cardamine, cresson de fontaine, cresson d'eau, cresson officinal.

#### I - 2.1.3. Noms régional

- **Français** : Cresson Alénois ou passeraige cultivée.
- **Arabe** : Hab archad ou Hurf.
- **Berbère** : Belachaquine.
- **Anglais** : Garden Cress.
- **Espagnol** : Lepido ou Mastuerzo
- **Russe** : Sad kress

### I – 2.2. Description de la plante

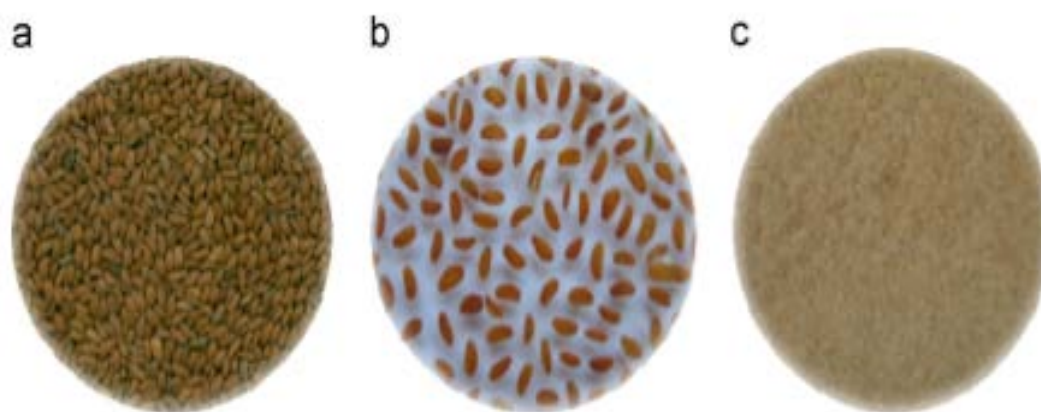
Le cresson alénois est une plante annuelle de croissance rapide. Il développe en quelques mois une plante haute de 20 à 50 cm au moment de la floraison. Cultivé pour la salade, il forme une petite rosette de feuilles très découpées et tendres, au gout bien relevé. Les inflorescences sont apicales : quelques groupes de petites fleurs blanches à 4 pétales. Les graines sont produites par 2 dans de petites siliques dressées, longue de 2 à 3 cm. les graines sont allongées, brun rouge, elles ont un gout de moutarde (**Corinna, 2000**).



**Figure 1** : Plante de cresson alénois (**Pandya, 2011**)

### I – 2.3. Description des graines du cresson alénois

Les graines du cresson alénois sont petites, de forme ovale, pointues et triangulaires à une extrémité, lisses, d'environ 3- 4 mm de long, 1-2 mm de large, de couleur brun rougeâtre. Un sillon présent sur les deux surfaces s'étendant jusqu'aux deux tiers vers le bas, une légère extension en forme d'aile présente sur les deux bords de la graine. En trempant dans l'eau, le tégument se gonfle et se recouvre d'un mucilage transparent, incolore et mucilagineux (Bigoniya, 2011).



**Figure 2 :** la vue picturale de (a) les graines de cresson, (b) les graines dans l'eau, et (c) la poudre de graines de cresson (Rasavi et al., 2007)

### I – 2.4. La valeur nutritive du cresson

**Tableau 1 :** La valeur nutritive du cresson (Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010).

	Cresson de fontaine cru haché, 1 tasse (250 ml)/35 g	Cresson alénois cru, 1 tasse (250 ml)/55 g	Cresson alénois bouilli, ½ tasse (125 ml)/70 g
<b>Calories</b>	4	17	16
<b>Protéines</b>	0,8 g	1,4 g	1,4 g
<b>Glucides</b>	0,5 g	2,9 g	2,7 g
<b>Lipides</b>	0,0 g	0,4 g	0,4 g
<b>Fibres alimentaires</b>	0,2 g	0,6 g	0,5 g

### I – 2.5. L'origine du cresson alénois

L'origine du cresson alénois est assez floue : Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen Orient, Asie de l'Ouest, mais on pense qu'il pourrait s'agir de l'Ethiopie et des pays avoisinants. Sa domestication s'est probablement faite en Asie occidentale. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Egypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. On le trouve aussi dans la nature, échappé des cultures, mais on ne sait pas s'il existe quelque part à l'état sauvage (**Jansen, 2007**).

### I – 2.6. Utilisations et propriétés

#### I – 2.6.1. Propriétés chimiques :

La graine de *Lepidium sativum* donne près de 25% d'une huile brune jaunâtre semi-siccative à odeur particulière et déplaisante. L'huile est riche en acides oléique, linoléique et urique, et contient également des alcaloïdes imidazoles. Le tégument de la graine germée contient beaucoup de mucilage, lequel présente une substance allélopathique, le lépidimoïde (**Jansen, 2007**).

L'espèce comprend également des tanins, saponines, flavonoïdes (lutéoline, apigénine et leurs glycosides, quercitine, naringénine, eriodictyol, cirsilinéol, salvigénine, cirsimaritrine, thymonine, thymusine, taxifoline, genkwanine, sakuranétine et vicénine-2), des acides phénoliques (acide caféique, rosmarinique, labiatique et chlorogénique) (**Berehe et Boru, 2014**)

#### I – 2.6.2. Propriétés pharmacologiques :

*Lepidium sativum* est une plante médicinale bien connue. Cette plante se révèle efficace contre de nombreux troubles digestifs en raison de son action stimulante, laxative et diurétique. De plus, il lutte contre la constipation et les hémorroïdes et il apaise les maux de ventre. Par ailleurs, le *Lepidium sativum* est utile en cas d'asthme ou de toux (**Hordé, 2015**) Le Cresson alénois est un puissant antiscorbutique. Il se montre aussi "apéritif, diurétique et dépuratif". Il se consomme frais, en salade. Sa croissance est extrêmement rapide. La gaine s'est vue également préconisée comme "stomachique, expectorante et emménagogue" (**Drouet, 2002**).

## II- Métabolites secondaires :

### II - 1. Définition :

Le métabolisme secondaire implique les voies métaboliques primaires spécifiques à certains organismes végétaux. Donc les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction **(Laurent, 2012)**.

Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Ces composés ne se trouvent pas dans toutes les plantes **(Laurent, 2012)**.

### II - 2. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques ou les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes. Ces composés se trouvent dans les parties des plantes mais distribués selon leurs rôles défensifs.

#### II - 2.1. Les polyphénols :

Les polyphénols est un groupe de molécules de structures variées, d'une grande utilisation en phytothérapie **(Hennebelle et al., 2004)** et ils sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ces molécules sont présentes dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont généralement impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

On détermine le contenu des polyphénols dans les aliments végétaux par des facteurs génétiques et des conditions environnementales, la germination, le degré de maturité, la variété, le traitement et le stockage. En concernant leur classification, Ils peuvent être divisés en classes variées en fonction de leur structure chimique de base **(Sanchez-moreno, 2002)** (figure 3). Ils existent dans les plantes, considérés comme des antioxydants et connus par leur capacité de piégeage des radicaux libres par un mécanisme d'inhibition des enzymes responsables de la production des ROS et interviennent dans la prévention de plusieurs maladies **(Li et al., 2014)** Les polyphénols sont classés en deux catégories, les tannins et les flavonoïdes (figure 3)

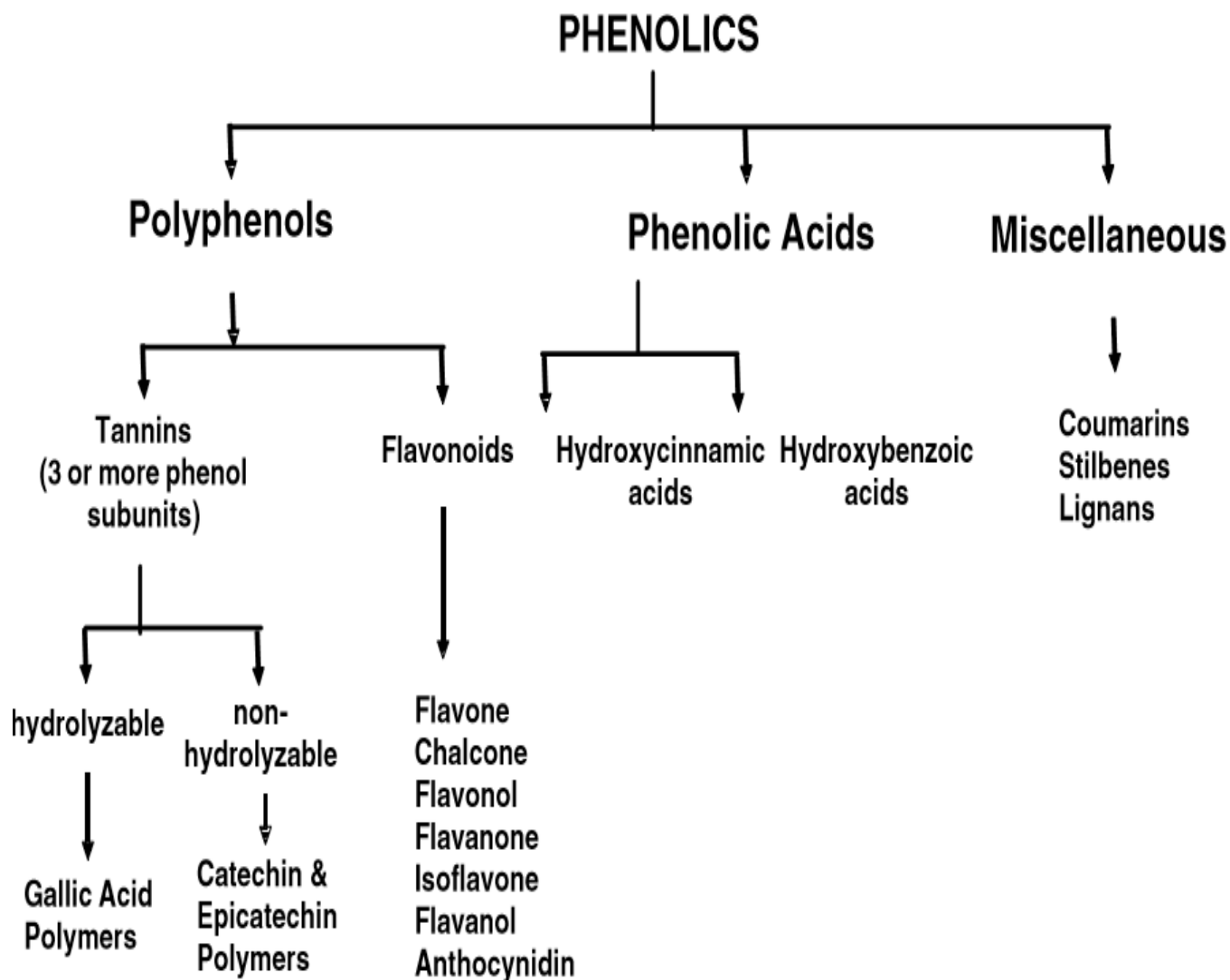


Figure 3 : la classification des composés phénoliques (Iuthria, 2006)

### II - 2.1.1. Les Tannins :

Les Tannins ont le potentiel d'être la classe la plus importante des métabolites secondaires dans la défense des plantes contre l'herbivorie et cela s'agissant de leur mode d'action ils sont généralement considérés comme une substance défensive généralisée dont les effets néfastes ne sont que très peu dépendants de la structure moléculaire (Hemingway et Lak, 1992)

### II - 2.1.2. Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont le groupe le plus commun des polyphénols végétaux, Plus de 8000 flavonoïdes différents ont été décrits et ils sont prérogative du royaume des plantes. Les flavonoïdes sont structurés comme un squelette carboné commun de diphenyle propanes, deux anneaux de benzène reliés par une chaîne linéaire à trois carbones (C6-C3-C6) formant

habituellement un noyau hétérocycle oxygéné, le noyau flavan (anneau C). Selon la complicité structurale des flavonoïdes et sur l'état d'oxydation de l'anneau central les flavonoïdes sont sous-classés comme flavonols, flavones, flavanones, flavanols ou flavan-3-ol, isoflavone, anthocyanidines (**Grassi et al., 2010**) Ce groupe est donc un des groupes de constituants naturels les plus nombreux et les plus répandus sont importants pour l'homme et ils contribuent à la couleur des plantes (**Harborne et al., 1975**).

### **II- 2.2. Les composés Terpénoides :**

Le terme Terpénoides désigne un ensemble de substances présentant le squelette des Terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.).

Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des Isoprénoides dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales sont de structure Terpénique. Ce sont des produits hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaînes ouverte formées de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-Méthyle butadiène, appelées unités isopréniques (**Hopkins, 2003**).

### **II - 2.3. Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes (**Boutaghane, 2013**).

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (**Rakotonanahary, 2012**)

## Chapitre II : Activités Biologiques de *L. sativum*

### I - Les activités biologiques de *L. sativum*

*Lepidium sativum* est utilisé comme aliment et source de médicaments, et il est efficace contre diverses maladies telles que l'hypertension, l'arthrite, l'hépatotoxicité, l'inflammation, le diabète, le cancer, la bronchite, etc. sur la base de nombreuses études, *Lepidium sativum* a prouvé sa valeur et mérite par des études plus approfondies sur ses utilisations nutritionnelles et médicinales (Falana et al., 2014).

#### I – 1. Activité anti-microbienne

L'activité anti-microbienne de *Lepidium sativum* a été prouvée par Shama et al. (2011) contre les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Une autre étude réalisée par Siy Adam et al. (2011) a démontré l'activité antimicrobienne de l'extrait de graines de *Lepidium sativum* contre six micro-organismes pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et le champignon *Candida albicans*. L'extrait d'éther de pétrole de graines de *Lepidium sativum* à différentes concentrations, s'est révélé être un anti-microbien actif contre l'ensemble des 6 agents pathogènes ayant une forte activité antifongique.

Une autre étude établie par Sharma et al. (2012) a prouvé l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de graines de *Lepidium sativum* contre *Fusarium equiseti*, *Aspergillus flavus* et *Alternaria*.

#### I – 2. Activité anti-oxydante

Une étude réalisée par Yadav et al. (2011) a mis en évidence le potentiel antioxydant de l'extrait éthanolique de graines de *Lepidium sativum in vitro*.

Une étude ultérieure menée par Indumathy et Aruna (2013) a montré que l'extrait méthanolique de graines de *Lepidium sativum* possède un potentiel anti-oxydant.

#### I – 3. Activité anti-inflammatoire

Al-Yahya et al. (1994) ont exploré les activités anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques d'un extrait éthanolique de graines de *Lepidium sativum* chez des rats. L'extrait a

significativement inhibé l'œdème pédieux induit par la carragénine chez le rat. L'administration d'extrait de graines de *Lepidium sativum* prolongeait significativement le temps de réaction de la plaque chauffante révélant son activité analgésique. Les études de coagulation ont montré que l'extrait induisait une augmentation significative du taux de fibrinogène et une diminution insignifiante du temps de prothrombine.

Une autre étude réalisée par **Raval et Ravishankar (2010)** a mis en évidence l'effet analgésique des graines de *Lepidium sativum* chez des rats Charles Foster Albino et des souris Swiss albinos. Dans la réponse au léchage de la patte induite par le formaldéhyde, il y avait une inhibition significative de la douleur neurogène. Dans la réponse au coup de queue, un effet léger à modéré a été rapporté par les auteurs.

En outre, les extraits de feuilles et de graines ont un effet anti-inflammatoire. La présence de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de glycosides cyanogéniques, de tanins, les glucosinolates, les stérols et les triterpènes contribuent à cet effet. Des graines meurtries mélangées à du jus de citron vert peuvent être utilisées localement pour réduire l'inflammation et les douleurs rhumatismales (**Wadhwa et al., 2012**).

## II- Autres propriétés pharmacologiques

### II- 1. Effet antihypertenseur et antidiabétique

Les effets antihypertenseurs et diurétiques de l'extrait aqueux de *lepidium sativum* ont été vérifiés par **Wadhwa et al. (2012)**, sur des rats normo-tendus (WKY) et d'autres spontanément hypertendus (SHR). L'étude a montré qu'une administration de 20 mg / kg de l'extrait aqueux pendant 3 semaines a induit une diminution significative de la pression artérielle.

Une étude antérieure menée par **Eddouks et al. (2005)** a examiné l'activité hypoglycémiant de *Lepidium sativum* chez des rats diabétiques. Une diminution significative dans des niveaux de glucose de sang dans des rats diabétiques a été notée après des traitements oraux aigus et chroniques avec l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum*. Les auteurs ont conclu que cet extrait expose une activité hypoglycémiant puissante chez des rats et le mécanisme de l'activité hypoglycémiant était indépendant de sécrétion d'insuline.

Une étude plus récente d' **Eddouks et Megharani (2008)** a rapporté que l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum* a causé une inhibition puissante de réabsorption de glucose rénale qui a à son tour réduit la glycémie.

## II-2. Effet anti-cancérigène

**Mahassni et Al-Reemi (2013)** ont étudié l'effet cytotoxique de l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum* sur des cellules cancéreuses mammaires humaines en utilisant la lignée cellulaire épithéliale du cancer du sein MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7). La lignée cellulaire du carcinome mammaire ducal invasif, qui est un récepteur d'oestrogène et de progestérone positif par exclusion du colorant bleu trypan et des dosages de la sulforhodamine B par rapport à son effet sur les fibroblastes cutanés humains normaux (HSF).

Les résultats ont révélé que l'extrait de graines de *Lepidium sativum* avait un effet cytotoxique significatif sur les cellules MCF-7. L'effet de l'extrait de *Lepidium sativum* sur les cancers est généralement attribué aux isothiocyanates constitutifs, en particulier l'isothiocyanate de benzyle, dont la présence dans l'extrait de graines de *Lepidium sativum* a également été confirmée par les auteurs utilisant la HPLC. L'étude fournit des preuves solides que l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum* a la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses du sein.

## II- 3. Effet anti-diarrhéique et antispasmodique

**Divanji et al. (2009)** ont étudié l'activité anti-diarrhéique de l'extrait méthanolique de *lepidium sativum* et utilisant trois modèles de diarrhées induite expérimentalement, à savoir la diarrhée induite par l'huile de ricin. Les extraits méthanoliques de graines de *lepidium sativum* ont montré une réduction significative du poids des fèces de manière dose-dépendante dans la diarrhée induite par l'huile de ricin.

Les auteurs ont conclu que l'extrait méthanolique de graines de *lepidium sativum* possède une activité anti-diarrhéique significative en raison de son effet inhibiteur sur la propulsion gastro-intestinale et la sécrétion de liquide (**Divanji et al., 2009**).

D'une autre part, **Rehman et al. (2012)** ont étudié l'activité anti-diarrhéique et les activités anti-spasmodiques de l'extrait brut de graines de *lepidium sativum in vivo* et *in vitro*. L'extrait a inhibé la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat. Dans un iléon de rat isolé, l'extrait de graine de *lepidium sativum* a inversé les contractions induites. Les auteurs ont conclu

que les graines de *lepidium sativum* possèdent des activités antidiarrhéiques et antispasmodiques.

**Rehman et al. (2011)** ont effectué un test de transit gastro-intestinal et un test d'activité laxative chez des souris BALB / c et ont également réalisé des expériences *in vitro* sur des tissus isolés à partir des souris, de cobayes et de lapins pour évaluer les activités laxatives des extraits aquo-méthanoliques des graines de *lepidium sativum*. Les auteurs ont rapporté des effets prokinétiques et laxatifs de la graine de cresson alénois chez la souris, qui sont partiellement médiés par une voie cholinergique. L'effet spasmodique *in vitro* de l'extrait de graines de *lepidium sativum* est également médié par un mécanisme similaire avec la sélectivité des espèces et des tissus.

#### **II- 4. Effet de guérison de la fracture osseuse**

L'une des utilisations traditionnelles de *Lepidium sativum* est d'augmenter la vitesse de guérison des fractures osseuses. La plante et ses graines ont été utilisées à cet effet principalement en Arabie Saoudite et d'autres pays arabes. Selon les auteurs de plusieurs articles sur cet aspect, les observations cliniques ont été favorables à cette utilisation. Parmi les études, qui visaient à étudier la validité de la plante pour cet usage, une a été réalisée sur des lapins (**Manohar et al., 2011**). Les graines de *Lepidium sativum* ont été incorporées dans l'alimentation des animaux, et la radiographie a été utilisée pour mesurer la progression de la guérison de la fracture sur 6 à 12 semaines. Les observations et les statistiques ont montré que *Lepidium sativum* a un potentiel important dans l'accélération de la guérison des fractures osseuses, ce qui confirme la rationalité de son utilisation traditionnelle à cette fin. Plusieurs autres études ont montré des résultats similaires soutiennent ces données (**Manohar et al., 2011**) et (**Wadhwa et al., 2012**).

#### **II- 5. Effet hépato-protecteur**

Les extraits de graines de *Lepidium sativum* ont démontré des effets hépato-protecteurs contre les lésions hépatiques induites par le CCl<sub>4</sub>. Une étude sur le rat Albino wistar a montré une diminution significative de l'hépatotoxicité et des dommages induits par le CCl<sub>4</sub> lors du mélange d'une dose d'extrait de graines avec un régime alimentaire quotidien (**Agarwal et Sharma, 2011**).

La raison de cet effet hépato-protecteur est due à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de coumarines et de tri-terpènes qui induisent un effet antioxydant et une

diminution de la formation de radicaux libres à partir de CCl<sub>4</sub>, principal déclencheur de l'hépatotoxicité (Agarwal et Sharma, 2011).

Une Autre étude menée par Abuelgasim et al. (2008) pour examiner l'effet hépatoprotecteur de l'extrait méthanolique de graines de *Lepidium sativum* dans la prévention des dommages du foie induits par le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>). L'extrait méthanolique de graines de *Lepidium sativum* a été administré à des rats ayant subits l'induction d'une lésion hépatique. Les activités sériques de la phosphatase alcaline (ALP), de l'aspartate aminotransférase (AST), de l'alanine aminotransférase (ALT) et de la concentration de bilirubine ont été réduits significativement chez les groupes ayant reçu l'extrait de graines de *Lepidium sativum*, les changements graisseux sévères dans les foies des rats provoqués par CCl<sub>4</sub> ont également diminué. Sur la base des résultats obtenus, les auteurs ont conclu que l'extrait méthanolique des graines de *Lepidium sativum* semble posséder une activité hépatoprotectrice chez le rat.

## II-6. Effets chimio-protecteurs

*Lepidium sativum* a également été étudié pour ses propriétés chimio-protectrices vis-à-vis des agents génotoxiques de 2 amino-3-méthyl imidazo quinolin (IQ) et de la réduction des lésions périplasiques coliques. Les médiateurs de ces effets protecteurs sont certains composés de l'extrait de *lepidium sativum*. Les résultats étaient significativement. Les dommages à l'ADN induits par IQ dans les cellules du côlon et du foie chez les rats F344 étaient réduits de 75% à 92%. Il est suggéré que cet effet chimioprotecteur est médié par la glucurosyltransferrase (UDPG) qui est une enzyme clé dans la détoxification du QI. La quantité de l'extrait de *Lepidium sativum* nécessaire pour induire ces effets est assez faible et similaire à la quantité consommée dans la salade régulière (Wadhwa, 2011 ; Manohar, 2011)

## II- 7. Effets diurétique, néphrocuratif et néphroprtecteur

L'effet diurétiques de l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum* a été étudié chez des rats (Maghrani et al., 2005). Les auteurs ont rapporté que l'administration orale quotidienne de l'extrait aqueux de graines de *Lepidium sativum* pendant 3 semaines présentait des activités diurétiques.

En outre, Patel et al. (2009) ont évalué l'effet diurétique des extraits aqueux et méthanoliques des graines *Lepidium sativum* chez des rats Wistar mâles adultes. L'administration des extraits de graines *Lepidium sativum* a montré une augmentation dose-dépendante de l'excrétion urinaire.

### III- Autres effets bénéfiques

*Lepidium sativum* est en général de nature antiasthmatique ; par conséquent, il procure une respiration naturelle pendant l'asthme et le guérit. Il a la capacité d'améliorer l'appétit chez les patients anorexiques. Il expulse efficacement les ténias du corps. Il inhibe avantageusement l'oxydation. Il fournit un soulagement de Hoquet. Il protège le corps contre les maladies de la peau. C'est stimulant dans la nature qui augmente l'endurance. Il stimule également les fonctions du corps et du cerveau. Ainsi, il est utilisé pour traiter les troubles cérébraux (**Cassidy et al., 2002**).

Les graines sont optimales pour contrer la goutte. Il traite la diarrhée. Il a des propriétés analgésiques qui soulagent potentiellement de la douleur. Il atténue la toux. Il est largement utilisé pour soigner les symptômes du Scorbut. Il est considéré comme un remède efficace pour guérir la constipation. Il a une action diurétique qui évacue les toxines du corps. Il purifie et élimine efficacement les impuretés du sang. Il évite le risque de maladies abdominales (**Cassidy et al., 2002**).

D'autre part, *Lepidium Sativum* élimine la mauvaise haleine de la bouche. L'effet digestif de cette plante dans le corps maintient les troubles digestifs à distance. L'attribut Emmenagogue stimule et normalise le flux des règles pour prévenir les troubles menstruels. Souvent, c'est un remède alimentaire pour arrêter les saignements menstruels abondants. Il stimule le système immunitaire et protège le corps contre les maladies. Il est puissant pour réduire le poids et procure un soulagement de l'obésité.

De plus, l'effet galactagogue de cette plante dans le corps favorise le lait après la grossesse (**Cassidy et al., 2002**). Ainsi, il empêche de l'expérience de l'insuffisance du lait maternel. Les graines sont efficaces pour réparer les fractures et réparer les os. L'herbe a également un attribut ophtalmique. Cela en fait un bon remède pour guérir les maladies oculaires. Il réduit facilement les imperfections de la peau. Il enlève complètement et réduit les pellicules. Les feuilles de *Lepidium sativum* agissent comme un antidote contre la morsure de serpent (**Cassidy et al., 2002 ; Jabeen et al., 2017**)

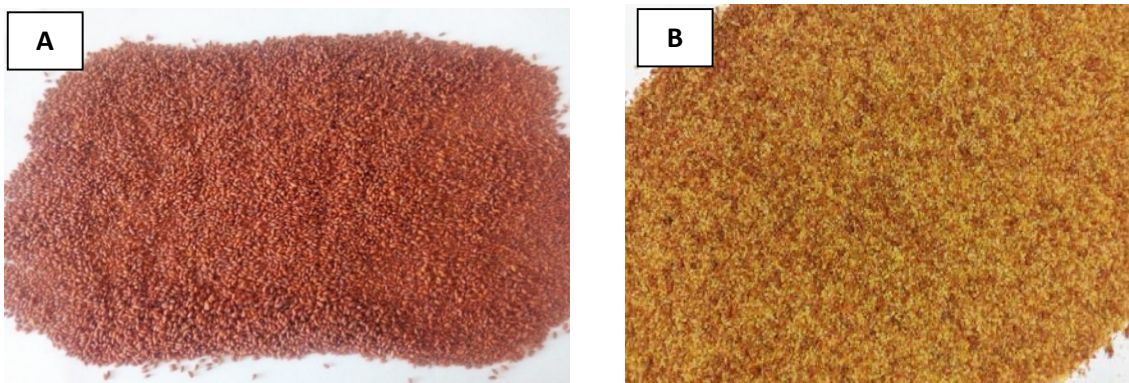
## Chapitre I : Matériels et méthode

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire des micro-organismes bénéfique, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS, site INES), de l'université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

### I - Matériels

#### I – 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans nos expériences correspond à des graines de cresson alénois (*lepidium sativum*). Les grains ont été achetés en février 2018 de la région de wilaya de Mostaganem, située à l'ouest d'Algérie. Les graines ont été bien nettoyées puis broyées en poudre par un broyeur électrique, après stockées à température 4°C à l'abri de la lumière.

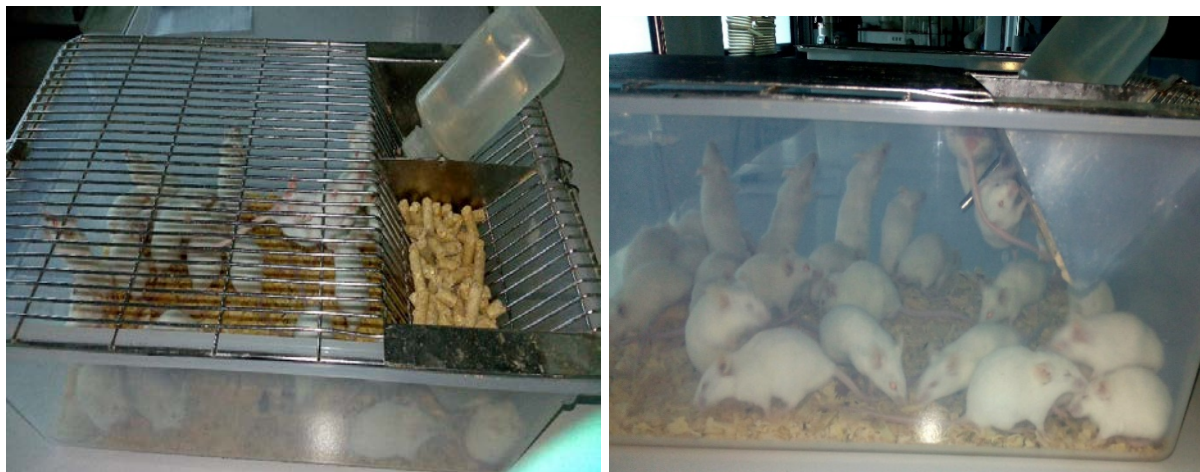


**Figure 4** : (A) Les graines de cresson alénois, (B) Les graines de cresson alénois en poudre

#### I – 2. Modèle animal

Des souris Swiss albinos mâles adultes fournies par l'Institut Pasteur d'Alger ont été utilisées dans cette expérimentation. Leurs poids corporel moyen est de 20 à 30g.

Les cages métaboliques abritant les souris ont été placées dans des conditions favorables d'élevage à un cycle de lumière/ obscurité de 12 h, une température constante à 25°C et un taux d'humidité de 55± 10%. L'accès à la nourriture et à l'eau était ad libitum. L'éthique générale d'utilisation des animaux de laboratoire a été respectée (ECRA/AIBUM).



**Figure 5** : Modèle animal étudié

### **I – 3. Réactifs chimiques et instrumentations**

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits :

acide chlorhydrique(HCl), acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), Hydroxyde de sodium (NaOH), Chlorure de sodium (NaCl), dimethyl sulphoxide (DMSO), éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ), méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), eau distillé, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Diclofénac sodique, papier filtre, Boites pétris, Bovine sérum albumine (BSA), Hydrogène-phosphate de sodium ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), Phosphate de potassium monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), Peptone, Diméthyle sulfoxide ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ ), Extrait de viande, Chlorure de potassium (KCl), Foline-ciocalteu (FCR), Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), gélose nutritive (GN), Formol, bleu d'Evans, Hydroxytoluène butylé (BHT), Chlorure de fer II ( $\text{FeCl}_2$ ), Chlorure de fer III ( $\text{FeCl}_3$ ), Magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), Carraghénane.

### **I – 4. Appareillage utilisé**

Spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (JENWAY 7305 UV/VIS), Chambre D'observation UV « 264/3645 nm »(VILBERCOURMAT), Bain Marie (KOTTERMANN), Etuve universelle de 5 à 220°C, Agitateur magnétique (VELP scientifica), vortex (Stuart), Balance (KERN) Max 421g d= 0.01g, Balance (KERN) Max 6100g d= 0.1g PH mètre (WTW Ph 330), Micro pipette (Smart) « 100 -1000  $\mu\text{l}$  », Micro pipette (Unique) « 10 – 50  $\mu\text{L}$  », Centrifugeuse (ROTOFIX 32 A), Évaporateur rotatif (HAHN SHIN SH-3001).

## II - Méthodes

### II- 1.1 Méthode d'extraction

#### II- 1.2 principe

La méthode d'extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité ; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (**Brian, 1995**)

#### II- 1.2. Protocole

Une prise de 230 g de poudre de graines de cresson alénois a été mise à macérer dans 2300 mL d'éthanol dans un récipient en verre fermé et a été recouverte d'une feuille d'aluminium et maintenue dans un agitateur à mouvement alternatif pendant 24 heures pour une agitation continue à 150 tr / min pour un mélange complet et également une élucidation complète des matières actives à dissoudre dans le solvant respectif. Ensuite, l'extrait a été filtré en utilisant un tissu de mousseline suivi de papier filtre Wattman n° 1 et finalement filtré 3 fois et en utilisant une pompe à vide et à pression (AP-9925 Auto Science). Le solvant de l'extrait a été éliminé en utilisant l'évaporateur sous vide rotatif (HAHN SHIN SH-3001) avec la température du bain-marie de 50 ° C (figure 5). Finalement, l'extrait obtenu a été conservé à 4°C jusqu'à utilisation (**Nagappan, 2012**).

#### II- 1.3. Rendement d'extraction

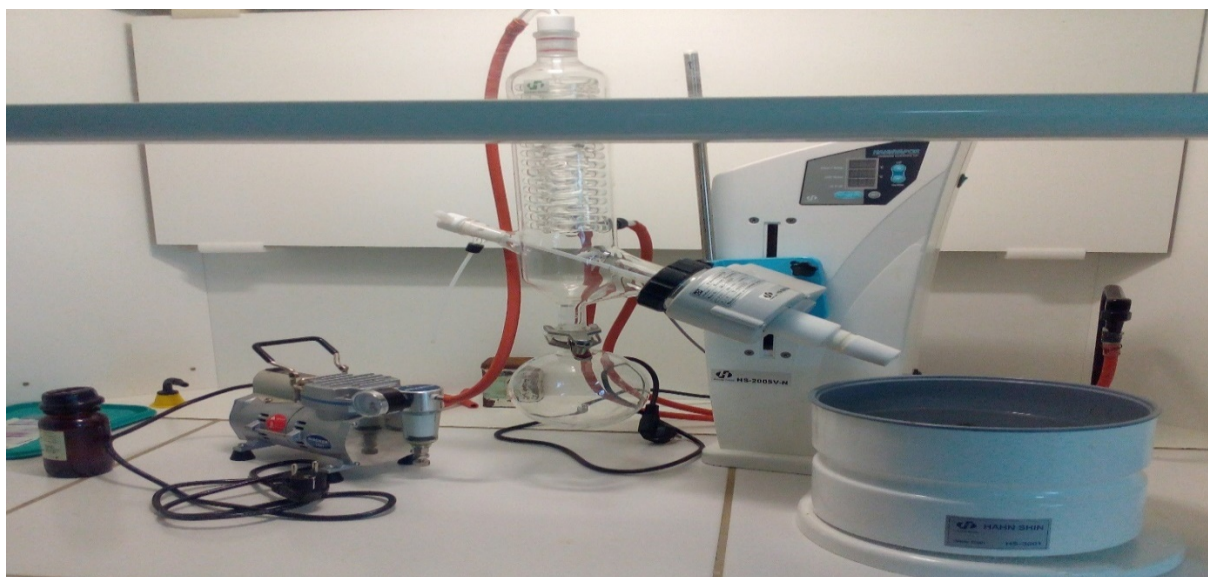
Nous pouvons déterminer le rendement de l'extrait éthanolique des graines broyées de *Lepidium sativum* en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = (P1-P2) / P3 \times 100$$

**P1** : Poids du ballon après évaporation ;

**P2** : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide) ;

**P3** : Poids de la matière végétale de départ.



**Figure 6 :** Appareillage d'extraction sous vide

## II -2.1. Dosage des polyphénols totaux

### II – 2.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phospho-molybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

### II – 2.1.2. Protocole

Un volume de 0,2 mL d'extrait pur a été mélangé avec 1,5 mL de Folin-Ciocalteu (10 %). Après 5 minutes, on rajoute 1,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (6 %). Le mélange est incubé à température ambiante à l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm sur un spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec ( $\mu g$  EAA/g ES) **(Singleton et Rossi ,1965)**

### II – 2.1.3. Expression des résultats

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul et al., 2008). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, cette dernière est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,01-0,1 mg/ml), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

### II – 2.2. Dosage des flavonoïdes

#### II – 2.2.1 Principe

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al_3^+$  sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (Bahorun et al., 1996).

#### II – 2.2.2 Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) cité par (Chang et al., 2002 et Djridane et al., 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole du dosage consiste à mélanger, dans des tubes à essai, 1000  $\mu$ L d'extrait dilué avec 1000  $\mu$ L de solution d' $AlCl_3$  (2%). Après 10 mn d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances est faite à 430 nm. Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1000  $\mu$ L d'éthanol.

#### II – 2.2.3 Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

### II – 3. Détermination de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'EELS a été effectuée par les méthodes suivantes :

- Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque)
- Détermination minimale inhibitrice (CMI)

**II - 3. 1. Milieux de culture et conditions d'incubation**

Les milieux de culture utilisés sont :

- Bouillon nutritif (BN) et Mueller Hinton (MH).

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 H (Remmal et al., 1993).

**II-3. 2. Souches bactériennes et fongiques utilisées**

Les 10 souches pathogènes utilisées sont présentées dans le tableau 2.

**Tableau 02** : liste des souches bactériennes et fongiques étudiées

<b>Souches</b>	<b>Code</b>	<b>Famille</b>
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 106404	<i>Trichocomaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	<i>Bacillaceae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Bacillaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	<i>Saccharomycetaceae</i>
<i>Shigella boydii</i>	ATCC 8700	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Carnobacterium Maltoaromaticum</i>	ATCC 35586	<i>Carnobacteriaceae</i>

ATCC: American Type Culture Collection.

### II - 3.3. Réactivations et l'inoculum les souches bactériennes

100  $\mu$ L de chaque souche ont été inoculés dans 10 mL de bouillon nutritif (figure 6). Après 24h d'incubation à 37°C, les inoculums ont été ajustés à 0,5 MC Ferland ( $10^7$  UFC/ml) soit à une D.O qui s'étend de 0,08 à 0,10 à 620 nm.

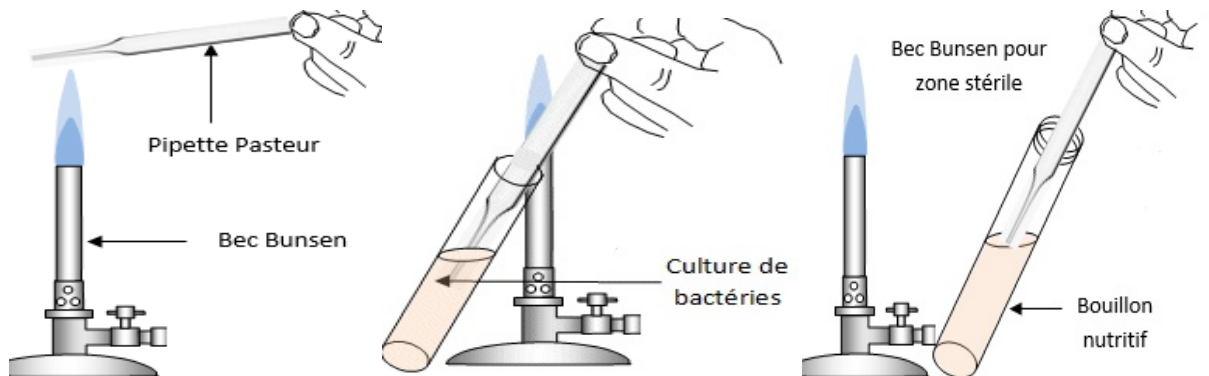


Figure 7: Réactivation des souches (Institut Pasteur, 2017)

### II - 3. 2 Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque)

#### II - 3. 2.1. Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir du papier de wattman N°3 de 5mm de diamètre, les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 20 min. Après stérilisation, ils ont été émargés pendant 15 min dans notre EELS.

#### II - 3. 2.2. Protocole

L'activité antibactérienne de l'extrait végétal a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par **Bauer et al. (1966)** et reprise par **BARRY et al. (1985)**. Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu MH pour tester l'effet de l'EELS pur et dilué à 10% dans le diméthyl-sulfoxyde (DMSO). Les boîtes de pétri contenant le milieu de culture ont été ensemencées en nappe avec les inoculums bactériens. Les disques ont été déposés ensuite à la surface du milieu de culture (deux disques par boîte), ensuite les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h (**ADESOKAN et al., 2007**). L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle et exprimé en mm (**Doughari et al., 2007**).

### II - 3. 3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

Pour l'extrait, on prépare par la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stérile, allant de 80 à 1,25 mg/mL avec l'eau distillée. On prépare également

pour chaque souche bactérienne ou fongique, un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland (soit 108 UFC/mL) et ramené à  $10^6$  UFC/mL dans du bouillon Mueller-Hinton deux fois concentré. Ensuite, on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 mL de chaque concentration et 1 mL d'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque extrait subit alors une dilution de moitié et s'étale comme suit : 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 et 0,625 mg/mL. On prépare également un tube témoin de croissance contenant 1 mL d'eau distillée stérile et 1 mL d'inoculum ; puis un tube témoin de stérilité contenant 1 mL d'eau distillée stérile et 1 mL de bouillon stérile. Ainsi que les deux témoins sont incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe (Bolou et al., 2011).

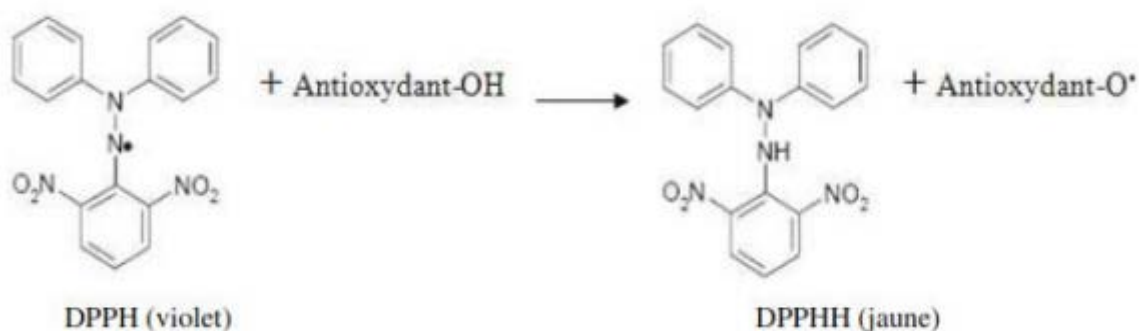
## II – 4. Activité Anti-oxydante

### II - 4.1. Mesure du pouvoir anti-oxydant par le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

#### II - 4.1.1. Principe

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité anti-oxydante. La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneyx, 2004).

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Figure 8) (Maataoui et al., 2006).



**Figure 8** : Réaction du test DPPH (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

## II - 4.1.2. Protocole

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH (**Sanchez *et al.*, 1998**). 50 $\mu$ L de l'EELS à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/ml) ont été ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 $\mu$ L de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif a été représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test a été répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

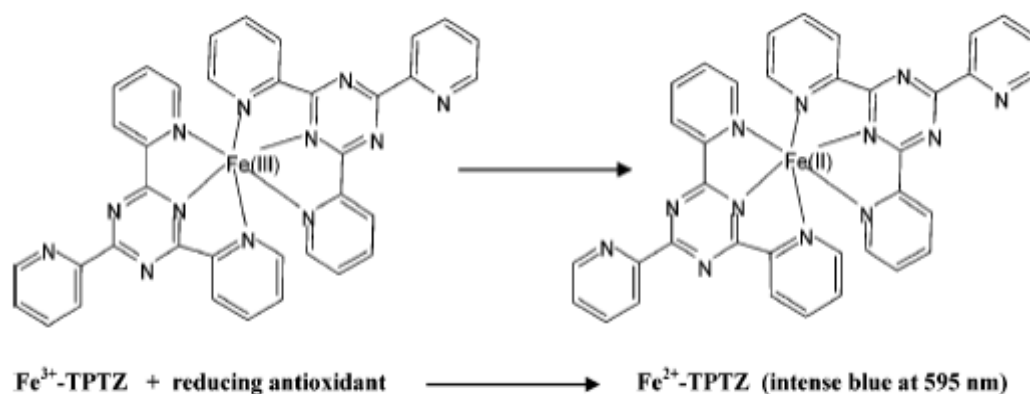
$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Deux autres paramètres ont été introduits pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire ; la concentration effective à 50% (EC50) et le pouvoir anti-radicalaire (APR = 1/EC50) (**Prakash *et al.*, 2007**). La valeur EC50 (aussi appelée IC 50) qui a été déterminée pour l'extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH. Les valeurs EC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par l'activité antioxydant en pourcentage (**Mensor *et al.*, 2001**).

## II - 4.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

### II - 4.2.1. Principe

Le pouvoir réducteur du fer (Fe<sup>3+</sup>) dans l'extrait est déterminé selon la méthode décrite par **OYAIZ (1986) (bougandoura et bendimerad, 2012)**. La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (**Boxin *et al.*, 2001**) selon la figure 9.



**Figure 9** : Schéma de la réaction de test FRAP (Prior et al., 2005).

- TPTZ : ferric2,4,6-tripyridyl-s-triazine.
- $\text{Fe}^{2+}$ : Ions ferreux.
- $\text{Fe}^{3+}$  : Ions ferriques (Prior et al., 2005).

#### II - 4.2.2 Protocole

1 millilitre (1 mL) de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) a été mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5mL d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5mL d'acide tri-chloro-acétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction et les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5mL) de surnageant est combinée avec 2,5mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965) rapporté par (bougandoura et bendimerad, 2012).

Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par la réaction suivant :

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100.$$

- $A_0$  : est l'absorbance de  $\text{FeCl}_3$ .
- $A_1$  : est l'absorbance de  $\text{FeCl}_3$  solution en présence de l'extrait (GHASAS et al., 2008).

## II – 5. Détermination de l'Activité Anti-inflammatoire (*in vitro*)

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'EELS a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. La méthode consiste à préparer trois solutions.

- La solution d'échantillon : (0,5 mL) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (SBA) 5 % et 0,05 mL d'extrait éthanolique.
- La solution témoin : (0,5 mL) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 mL d'eau distillé.
- La solution standard (0,5 mL) compose de 0,45 mL de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 mL de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 100mg.

Toutes les solutions ont été ajustées à un pH de 6,3 par une solution d'HCl (1N). Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57° cependant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5mL de la solution tampon phosphate saline (PBS) à (pH=6,3) ont été ajoutés aux solutions préparées. L'absorbance a été lue par le spectrophotomètre à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - [(D.O \text{ de l'échantillon} - D.O \text{ du témoin}) / D.O \text{ du témoin}] \times 100$$

## II – 6. Activités biologiques *in vivo*

### II 6.1. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion)

Les expériences ont été réalisées sur un modèle de douleur induit par l'acide acétique chez des souris mises à jeun 16 heures avant l'expérimentation. L'injection intra-péritonéale (ip) d'acide acétique à 1% chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale. Le nombre d'étirements est comptabilisé 20 minutes après injection de l'acide acétique (Sy et al, 2009).



**Figure 10** : Injection intra-péritonéale d'acide acétique à 1% chez les souris.

- **Lot témoin** : Les souris de ce lot ont reçu 1mL de l'eau physiologique par voie ip.
- **Lot référence** : Les souris de ce lot ont reçu un analgésique utilisé en thérapeutique le paracétamol à la dose de 200 mg/ kg, 30 minutes avant l'injection ip de l'acide acétique.
- **Le lot essai** : Les souris reçoivent, par voie ip 0,5mL d'EELS à raison de 780mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.

Le pourcentage d'inhibition des crampes est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = [(N_{\text{Cte}} - N_{\text{Ctr}}) / N_{\text{Cte}}] \times 100$$

Avec :

$N_{\text{Cte}}$  : nombre moyen des contorsions dans le lot témoin.

$N_{\text{Ctr}}$  : nombre moyen des contorsions dans le lot traité.

## II 6.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire in vivo

### II 6.2.1. Test de l'œdème plantaire induit par carragénine

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par **Winter et al. (1962)**. Pour ce faire, les souris ont été soumises à un jeun 16 heures avant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. Elles ont été réparties en 3 lots de 3 animaux chacun.

- **Le Lot témoin** : Les souris de ce lot ont reçu la solution véhicule (eau physiologique) par voie intra-péritonéale (ip), 30 mn avant l'injection de carragénine.

- **Le Lot référence :** Les souris de ce lot ont été traitées par voie (ip) (le diclofénac dose 50  $\mu\text{L}/\text{kg}$ .) un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique, 30 mn avant l'injection de carragénine.
- **Le Lot essai :** L'EELS à tester a été administré aux souris par voie ( ip) à raison de 780 mg/kg ; 30 mn avant l'injection de carragénine.

Trente minutes après le traitement par administration orale, l'œdème a été induit par injection de 50  $\mu\text{L}$  de carragénine (1% p/v) au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure droite (figure 11).

L'épaisseur de la patte (mm) a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant injection ( $V_0$ ) et toutes les 60 min pendant 6 H après induction de l'inflammation (figure12) (Vasudevan et al., 2006).

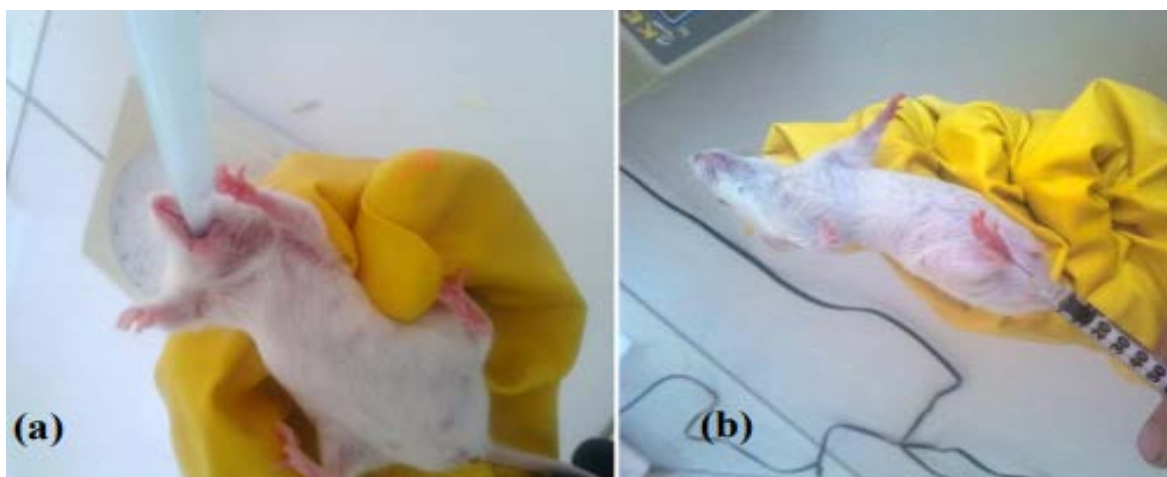
Le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été calculé selon la formule suivante (Lanhers et al., 1992):

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(V_t - V_0)_{\text{témoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}] \times 100 / (V_t - V_0)_{\text{témoin}}$$

Nous considérons :

$V_0$  : Volume de la patte avant injection de la carragénine ;

$V_t$  : Volume de la patte à un intervalle de temps déterminé après injection de la carragénine.



**Figure 11 :** (a) administration de l'EELS ; (b) injection sub-plantaire de le carragénine



**Figure 12** : Mesure de l'épaisseur de la patte à l'aide d'un pied à coulisse digital

## II- 6.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique

La perméabilité vasculaire chez la souris a été évaluée selon la méthode de **Kou et ses collaborateurs (2006)**. Trois groupes de neuf souris sont utilisés.

- **Le Lot témoin** : Les souris du groupe témoin ont reçu 0,2 mL d'une solution de NaCl 0,9 %.
- **Le Lot référence** : Les souris de ce lot ont été traitées par 50 mg/Kg d'indométacine, par voie orale.
- **Le Lot essais** : L'EELS à tester a été administré aux souris par voie (ip) à raison de 780 mg/kg.

Une heure après, les souris ont une injection intraveineuse de 10 mL/kg d'une solution de bleu d'Evans 1%, suivie d'une injection intra-péritonéal de 10 mL/kg d'acide acétique 0,7% (figure 13).



**Figure 13** : (a) injection intraveineuse de bleu d'Evans ; (b) injection intra-péritonéal de l'acide acétique

Trente minutes après, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale. Après lavage de la cavité péritonéale par 3 mL d'une solution physiologique. L'exsudat a été récupéré puis centrifugé et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 610 nm contre une solution Na Cl 0,9% (blanc) **Kou et ses collaborateurs (2006)**.

Le pourcentage d'inhibition de la perméabilité vasculaire est calculé selon la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{traité}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

## Chapitre II : Résultats et discussion

### I - Extraction

La préparation d'extrait à partir des graines de cresson alénois (*Lepidium sativum*) broyées a été effectuée par l'éthanol. Cette extraction a permis d'obtenir un extrait brut : l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* (EELS).

Après extraction et récupération de l'extrait, le rendement, la couleur et l'aspect physique sont déterminés et représentés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Caractéristiques de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum*

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement
EELS	Pâteux	Jaune foncé	12,4 %

De nombreux travaux ont été effectués sur le cresson alénois provenant du Maroc, l'Arabie Saoudite, la Turquie et l'Inde. Les résultats affichent des rendements très variables Ils sont respectivement de 34.2%, 18%, 5%, 0.78% (**Chatoui et al., 2016 ; Özlem et al., 2010 ; Wafeka, 2010 et Chundawat et al., 2017**).

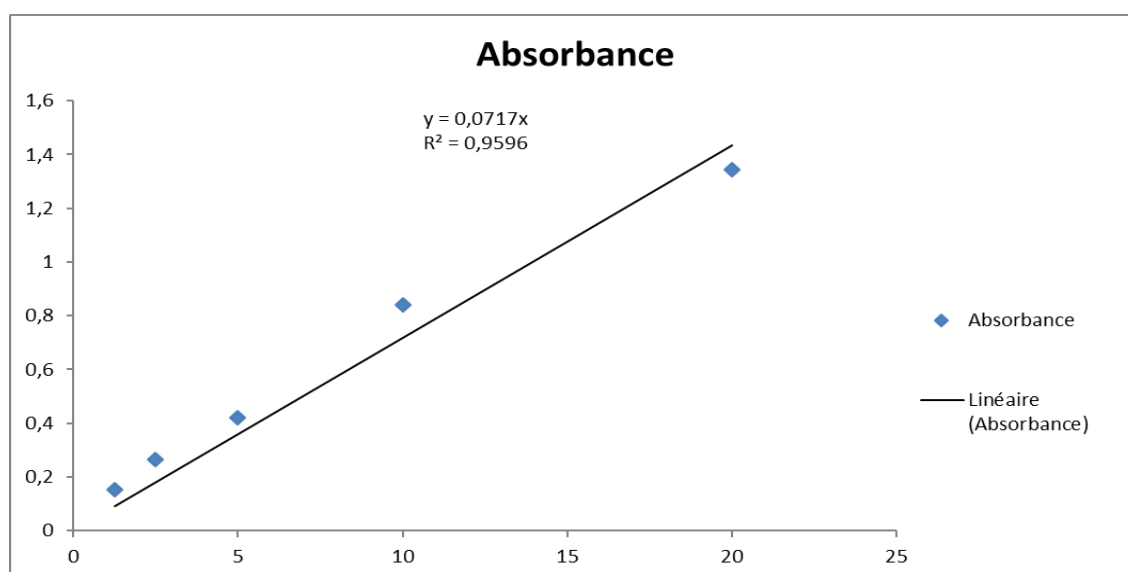
### II – 1.1. Teneur en polyphénols totaux :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Afin de caractériser l'extrait préparé à partir des graines de *Lepidium sativum*, la quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (figure 14).

La quantité des polyphénols correspondante à l'extrait étudié a été rapportée en milligramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (tableau 4).

Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques est de  $255,8 \pm 0.05$  mg d'acide gallique/mg d'extrait. La teneur en polyphénols est relativement grande dans notre extrait.



**Figure 14** : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

**Tableau 04** : Teneur en phénols totaux dans l'extrait éthanolique

Echantillon dosé	Teneurs en phénols totaux (Mg d'Equivalent d'Acide Gallique par Gramme d'Extrait)
<b>L'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i></b>	<b>255,8±0.05</b>

Le résultat que nous avons obtenus est presque comme à celui obtenu par (Pramod et al., 2012) qui ont trouvé un teneur égale à  $279 \pm 0.02$  mg GAE/mg d'extrait.

Les travaux conduits par Iqbal et al. (2011), Jency et al. (2014), Snehal et Manisha (2014) et Chatoui et al. (2016) confirment nos résultats en indiquant que l'extrait de la plante *Lepidium sativum* est riche en polyphénols totaux.

## II – 1.2. Teneur en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) (Chang et al., 2002). La quecétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe

d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique qui est exprimée en mg équivalent de la quercétine (EQ) par gramme d'extrait (Figure15)

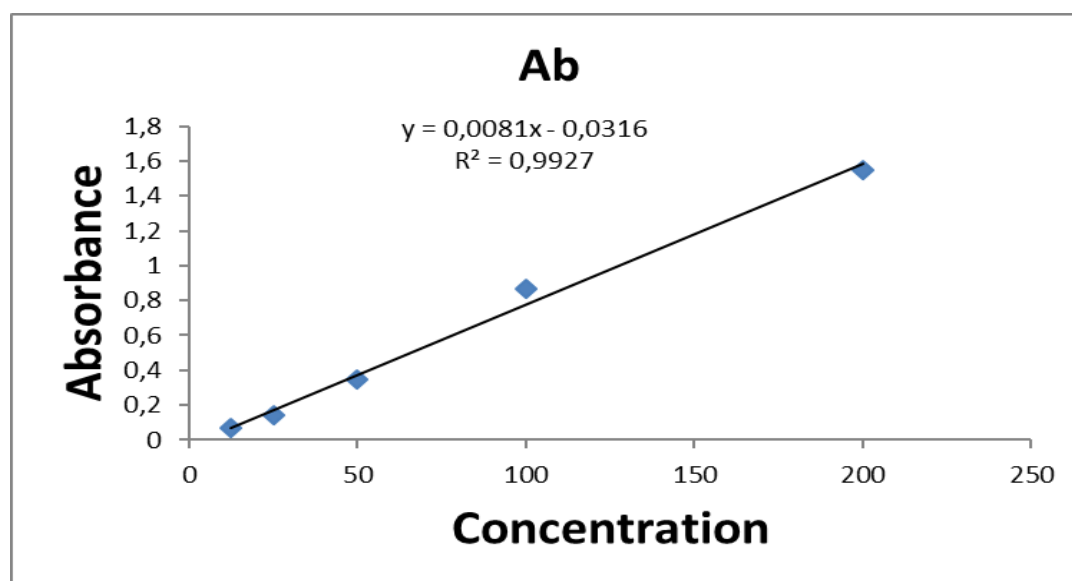


Figure 15 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

Tableau 05 : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique.

Echantillon dosé	Teneurs en Flavonoïdes (Mg d'Equivalent de la Quercétine par Gramme d'Extrait)
L'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i>	303,5±0.02

La teneur en flavonoïdes de l'extrait de *Lepidium sativum* étudié est égale à 303,5±0.02 mg EQ/g d'extrait. Les résultats obtenus par Chatoui et al. (2016), Jency et al, (2014), Snehal et Manisha (2014), Iqbal et al, (2011) et Roshin et al. (2015) sont conformes avec notre résultat et confirment la richesse de la plante étudiée en flavonoïdes.

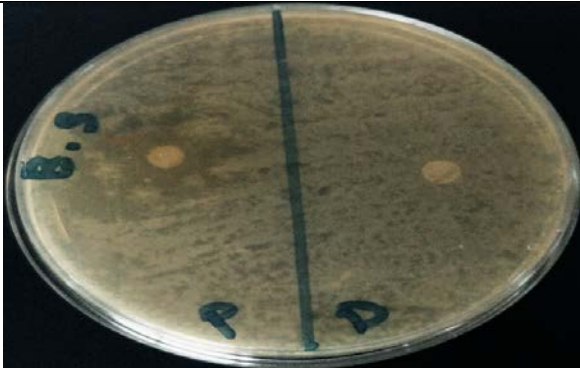

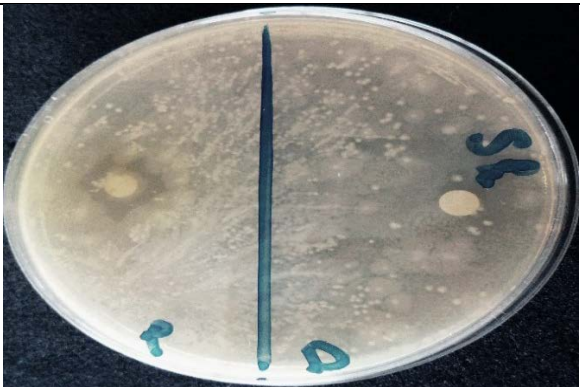
## II – 2. Etude de l'activité antimicrobienne


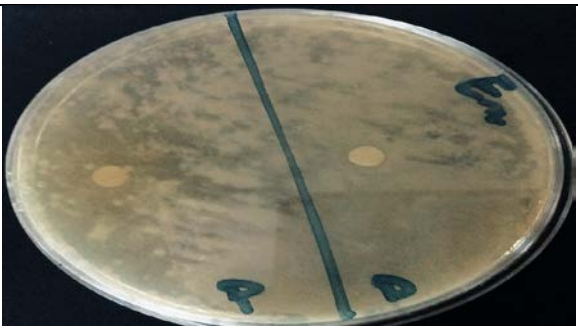

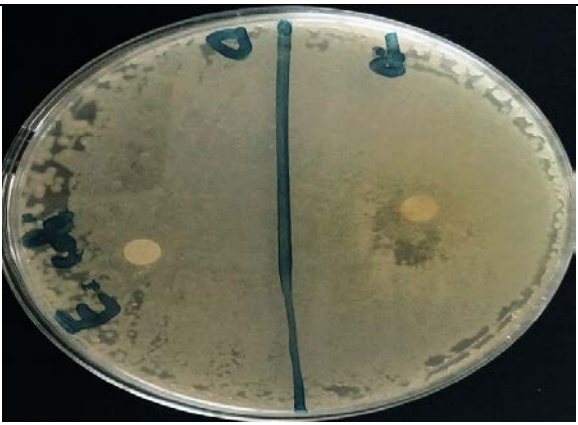
### II - 2.1. Technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque)

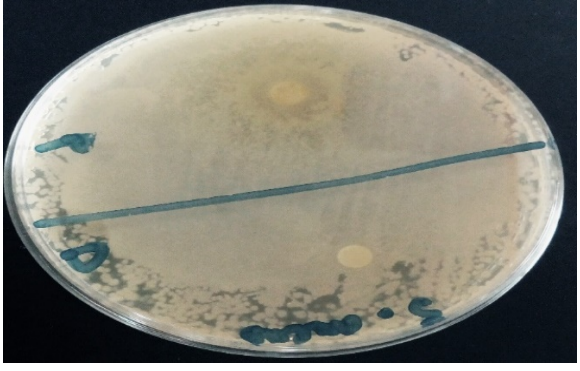
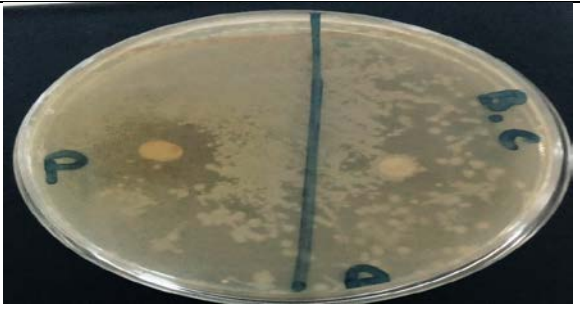
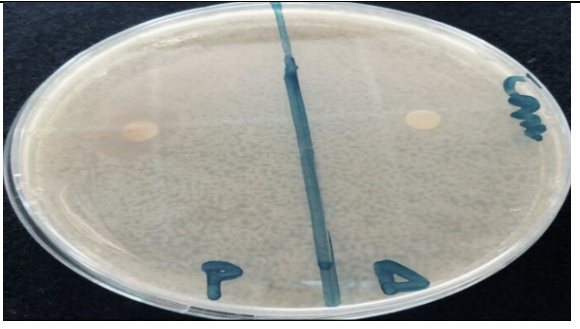
L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau 6. Nous remarquons que les souches les plus sensibles sont *Bacillus*

*subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*, suivies par *Carnobacterium maltoaromaticum* et *Bacillus serius*. Une sensibilité moins importante a été affichée par *Shigella boydii*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. En effet, celles-ci ont été les seules à être inhibées par notre extrait.

**Tableau 6 :** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'EELS exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

Souches	Diamètres	Aspects
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 10876	19 mm	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20 mm	
<i>Shigella boydii</i> ATCC 8700	13 mm	

<p><i>Carnobacterium maltoaromaticum</i> ATCC 35586</p>	<p><b>16 mm</b></p>	
<p><i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047</p>	<p><b>09 mm</b></p>	
<p><i>Aspergillus niger</i> ATCC 106404</p>	<p><b>09 mm</b></p>	
<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p><b>12 mm</b></p>	

<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862</p>	<p><b>11 mm</b></p>	
<p><i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876</p>	<p><b>16 mm</b></p>	
<p><i>Candida albicans</i> ATCC10231</p>	<p><b>07 mm</b></p>	

Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 07 et 20 mm. Par comparaison entre les souches, les souches les moins sensibles aux l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* sont *Candida albicans* ATCC10231, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 et *Aspergillus niger* ATCC 106404. En effet, les diamètres des zones d'inhibition obtenus par ces souches sont les plus faibles (de 07 à 09 mm). La plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *Bacillus subtilis* ATCC 10876 (20 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (19 mm).

Des travaux antérieurs confirment que l'extrait de *lepiduim sativum* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes (Shama et al. 2011 ; Siy et al. 2011), les diamètres des zones d'inhibition obtenus en testant l'extait méthanolique de *lepiduim sativum* contre les souches *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC10231 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 sont respectivement de 17 mm, 17 mm, 09mm et 15 mm. Les résultats sont plus ou moins semblables aux nôtres.

Certaines études ont rapporté l'inefficacité l'extrait de *lepiduim sativum* contre certaines souches incluant *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* **Hero et Jwan (2012)**. Ce qui est en accord avec nos résultats tandis que, d'autres rapports ont montré que notre extrait ont inhibé la croissance des deux bactéries suscitées, en plus de certaines autres souches sélectionnées lors de notre étude.

D'autre part, **Besufekad et al. (2017)** ont constaté que l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* était inactif contre certaines souches notamment, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

## II - 2. 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La détermination du paramètre antimicrobien (CMI) de l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* a été effectuée sur les mêmes souches qui été utilisées dans la méthode de disque. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 7 en terme de (+) et (-) :

(+) : Présence des bactéries.

(-) : Absence des bactéries.

Nous remarquons que l'extrait de *lepiduim sativum* a exercé une grande activité contre les 10 souches testées (tableau 7).

Les valeurs ont été obtenues à une gamme allant de 0,08 à 3,12 µl/ml de CMI. Par comparaison entre les souches, la plus sensible à l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* est *Bacillus subtilis* ATCC 10876 (CMI = 0,32).

Par contre les souches les moins sensibles à l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* sont *Candida albicans* ATCC10231, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 et *Escherichia coli* ATCC 25922 (CMI= 0,08).

A l'issu de ces résultats et les résultats dela technique de diffusion en milieu solide (méthode de disque), on concle que l'extrait éthanolique de *L.sativum* possèderait des propriétés antimicrobiens.

Des résultats similaires ont été obtenus par **Siy et al. (2011)**, **Hero et Jwan (2012)**, **Shama et al. (2012)** et **Besufekad et al. (2017)**

**Tableau 7** : Détermination de la CMI de l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum*

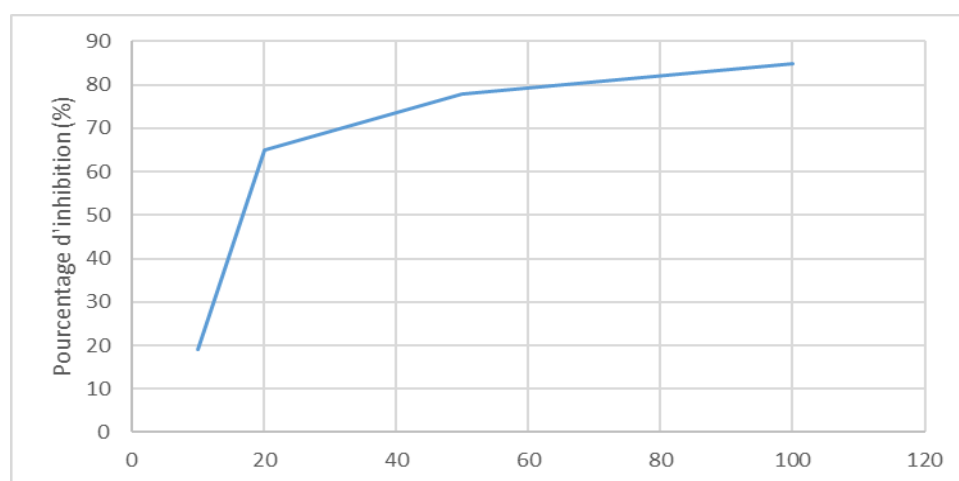
Les concentrations Les souches	1/200	1/100	1/50	1/25	1/12,5	1/6,25	1/3,12	1/1,56	1/0,78	1/0,39	1/0,19	1/0,09	<b>CMI</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	0.08
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0.32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.16
<i>Shigella boydii</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.16
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.16
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	0.08
<i>Carnobacterium Maltoaromaticum</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.16
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	0.08
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.16
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	0.08

## II – 3. Etude de l'activité antioxydante

### II - 3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH\*) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 700nm.

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires. Les résultats obtenus sont exprimés dans la figure 16.



**Figure 16** : % d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence de l'extrait de la plante est inférieur à celle de l'acide ascorbique. Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC50.

#### Evaluation de l'IC50 :

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est élevé (**Pokorny et al, 2001**).

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

- Les valeurs des IC50 trouvées pour les deux extraits testés sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 08** : Les valeurs des IC50 des extraits testés.

L'échantillon	IC50
Acide ascorbique	37µg/ml
<i>Lepidium sativum</i>	61 µg/ml

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus de l'activité anti-radicalaire de l'extrait des graines de *Lepidium sativum*, montrent que l'extrait testé possède une activité anti-radicalaire avec un IC50% de l'ordre de 61 µg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un IC50%=37µg/ml, nous constatons que notre extrait est moins actif par rapport au standard.

Les graines de *Lepidium sativum* ont fait l'objet de nombreux travaux dont les résultats sont variables. Les travaux d'**Yadav et al. (2011)** ; **Malara et al. (2014)** et **Rizwan et al, (2015)** présentent des valeurs respectives d'IC50% à raison de 18,46µg/ml, 0,429mg/ml et 62µg/ml.

Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique de l'extrait ainsi que sur leurs activités biologiques.

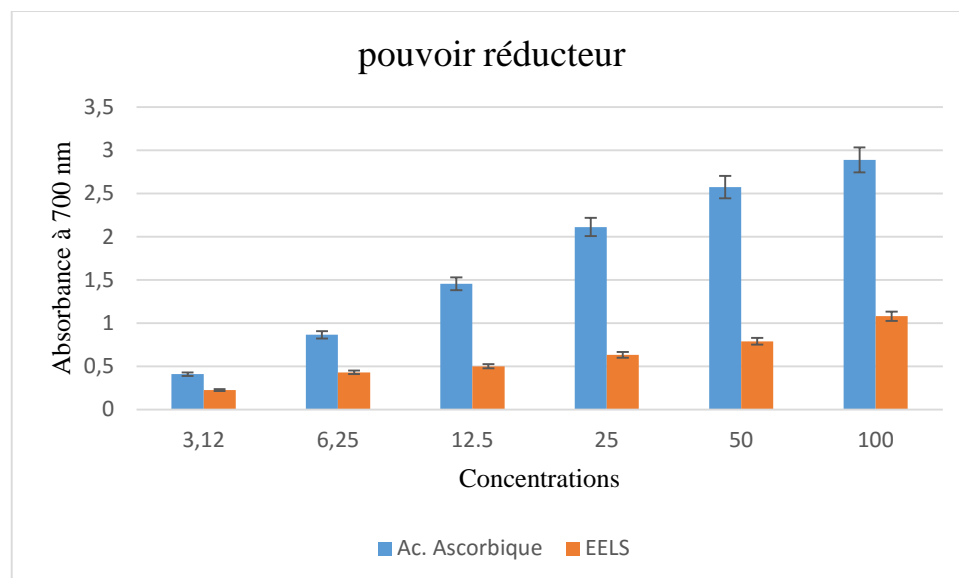
### II - 3.2. Test de la réduction du fer (FRAP) :

L'activité antioxydante d'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est une expérimentation simple, rapide et productible. Elle est universelle et peut être appliquée aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al, 2008**).

La présence des réducteurs dans les extraits de plantes provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe<sup>2+</sup> peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm.

Les résultats obtenus dans la figure 16 montrent que la capacité de la réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. L'extrait de la plante présente une activité antioxydante nettement inférieure à celle du produit de référence (acide

ascorbique). Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Malara et al, (2014)** et **MohdMujeeb et al, (2015)** sur les extraits de *Lepidium sativum*.



**Figure 17** : Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* et l'acide ascorbique.

## II – 4. Etude de l'activité anti-inflammatoire (*in vitro*)

### II – 4.1. Test de dénaturation des protéines

Le tableau 9 montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait éthanolique de *lepidum sativum* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de sérum albumine bovin (BSA).

**Tableau 9** : Effets anti inflammatoire de l'EELS *in vitro*

	EELS	Diclofenac
<b>Concentration (µg/ml)</b>	1000	1000
<b>% d'inhibition</b>	70,5	118,4
<b>IC50 (µg/ml)</b>	766	485

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation l'EELS était efficace avec une inhibition égale à 70,5%. Les résultats obtenus pour cet extrait sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exerce un pourcentage d'inhibition à la même concentration.

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Barros et al., 2008**) (**Bagad et al., 2011**). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintient la structure tridimensionnelle des protéines (**Barros et al., 2008 ; Mizushima et Kobayashi., 1968**).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme lephénylbutazone et L'indométhazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (**Mizushima et Kobayashi., 1968**).

D'après les résultats, on constate que l'extrait éthanolique de *lepidum sativum* est capable de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines.

L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes dans l'EELF trouvés lors des criblages phytochimiques. De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011 ; Barros et al., 2008 ; Mizushima et Kobayashi., 1968**).

## II – 5. Activités biologiques (*in vivo*)

### II 5.1. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion)

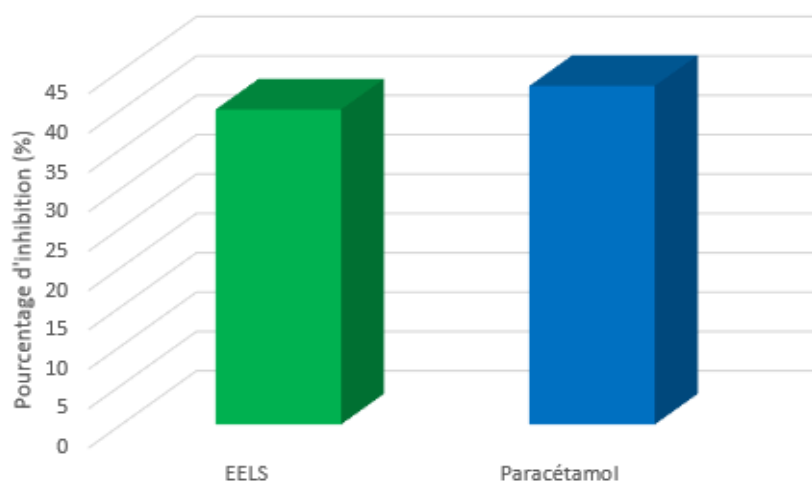
Le criblage de l'effet analgésique est réalisé par le test de l'acide acétique, très répandu pour sa haute sensibilité et sa capacité de mettre en évidence les molécules aussi bien à effet périphérique que central. On injecte une solution d'acide acétique à 1% par voie ip, 5 min après, on compte pour chaque souris le nombre de contorsion (NC) sur une durée de 20 minutes (figure 19).

- Le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique présente après injection intrapéritonéale de l'acide acétique à 1%, une moyenne de contorsions de 15 fois pendant 15 secondes.

- L'administration par intrapéritonéale de Paracétamol à la dose de 200 mg/kg, présente un nombre de contorsions qui est égale à 2 fois lié à l'administration de l'acide acétique.
- Après l'administration de l'acide acétique et l'extrait de *Lepidium sativum* à 780mg/kg par voie ip, présente un nombre de contorsions qui est égale à 9 fois.



**Figure 18** : une souris avec une crampe.



**Figure 19** : Les pourcentages d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* (EELS) et du paracétamol

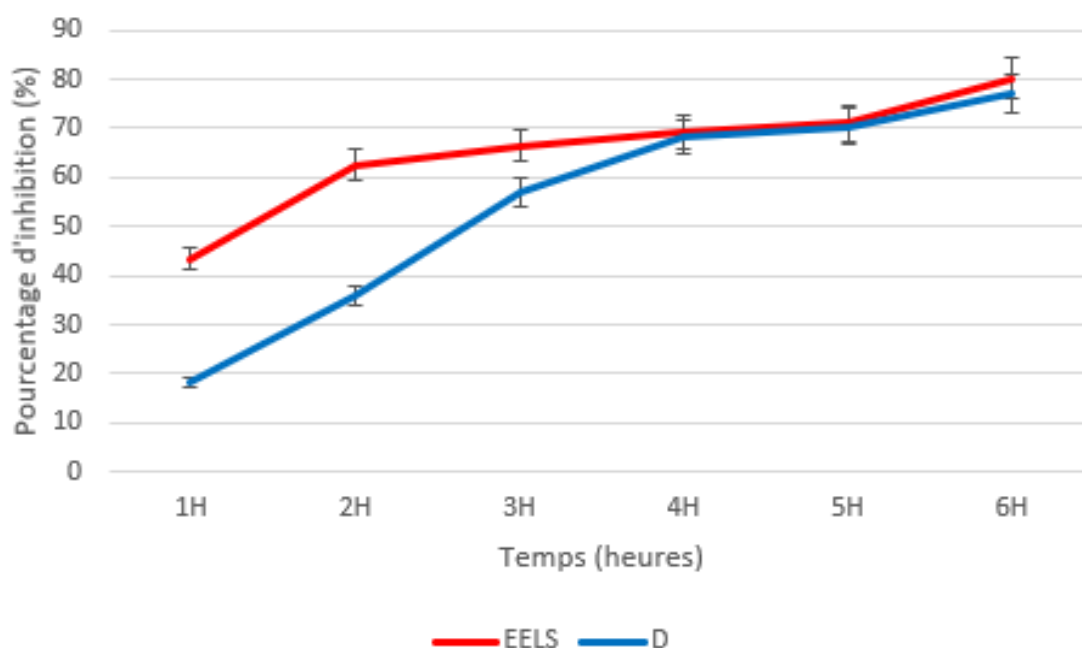
Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* présente un effet analgésique en réduisant le nombre de contorsions abdominales. Ceci suggère que l'extrait posséderait des composés qui agiraient selon le même mécanisme que le paracétamol, et par ce fait, inhiberait la COX-1 et la COX-2, empêchant la synthèse des prostaglandines (**Le Bars et al, 2001**).

A l'issue de ces résultats, il ressort que l'extrait éthanolique de *L.sativum* posséderait des propriétés analgésiques. Des résultats similaires ont été obtenus par **Al-Yahya et al. (1994)** ; **Raval et Ravishankar, (2010)**.

## II 5.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire in vivo

### III 5.2.1. Test de l'œdème plantaire induit par la carragénine

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Lepidium sativum* a été réalisée par le test de l'œdème plantaire induit par injection de la carragénine chez les souris. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 20.



**Figure 20 :** Inhibition de l'œdème plantaire (en %) par l'extract éthanolique de *Lepidium sativum* (EELS) et le diclofénac (D)

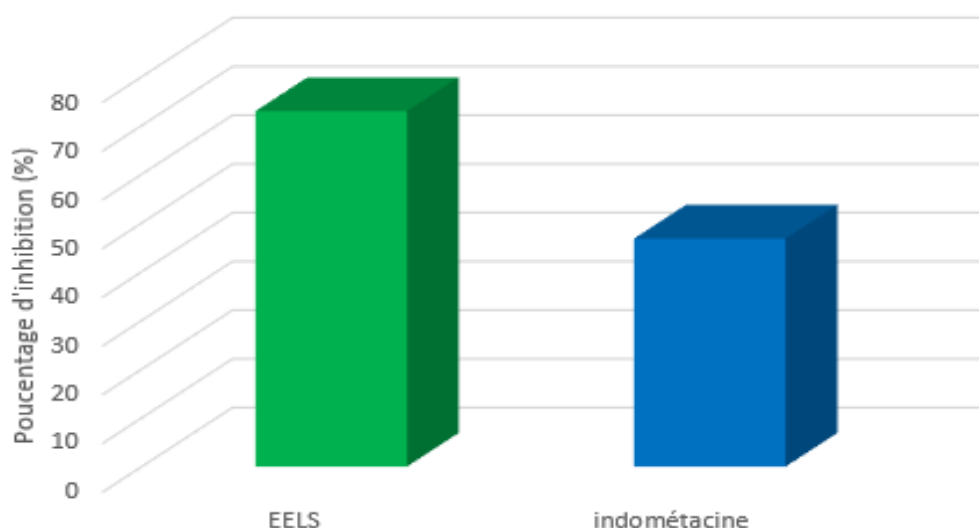
La figure 20 montre l'effet inhibiteur exercé par l'extract éthanolique de *Lepidium sativum* et le diclofénac sur le développement de l'inflammation en fonction des heures. Nous remarquons que le seuil maximal a été atteint à 6 heures. En effet, le pourcentage d'inhibition obtenu a été 77,17% pour l'extract éthanolique de *Lepidium sativum* à raison de 780 mg/kg. L'œdème plantaire est l'un des principaux facteurs utilisés pour l'évaluation du degré d'une inflammation aiguë et de l'efficacité des nouveaux médicaments anti-inflammatoires (**Begum et Sadique, 1988**). Son induction par injection de la carragénine est utilisé comme modèle expérimental standard (**Banerjee et al., 2000**). Ce phénomène se caractérise habituellement par une réponse biphasique. La première phase (1 - 2 heures) dépend de la libération de médiateurs chimiques tels que, l'histamine, la sérotonine et la bradykinine. La deuxième phase (3 - 6 heures) est soutenue par la libération de prostaglandines, leucotriènes, lysozymes, protéases et oxyde nitrique (NO) (**DiRosa et al., 1971; Olajide et al., 1999; Posadas et al., 2004**).

A travers nos résultats, nous avons constaté que l'extrait de *Lepidium sativum*, possédait un effet anti-inflammatoire considérable, ce qui lui a permis, à partir des premières heures, d'inhiber l'inflammation de façon hautement significative par rapport au groupe témoin.

On conclue que l'extrait de *Lepidium sativum* auraient empêché la libération des médiateurs pro- inflammatoires de la phase tardive (3 – 6 heures) en inhibant l'expression des principaux précurseurs (iNOS et COX-2) (Vigo et al., 2004).

### II 5.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'EELS a été déterminée aussi par l'effet de l'extrait de *Lepidium sativum* sur la perméabilité vasculaire induite au niveau péritonéal par l'acide acétique chez les souris (Kou et al., 2006). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 21.



**Figure 21 :** Les pourcentages d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* (EELS) et indométacine.

Les résultats obtenus montrent que les groupes ayant reçu un traitement avec l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum*, ou l'indométacine une heure avant l'induction de l'inflammation par l'acide acétique affichent une réduction significative ( $p < 0.05$ ) dans la perméabilité vasculaire au niveau péritonéal. Le traitement par 50 mg/kg d'indométacine induit une inhibition de la perméabilité vasculaire de 46 %. Le traitement par 780 mg/kg d'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* par voie orale provoque une inhibition de 70 % de la perméabilité vasculaire, cette inhibition est supérieure à celle obtenue avec l'indométacine.

Le prétraitement des souris par l'extrait éthanolique entraîne une inhibition significative de la perméabilité vasculaire. Cette inhibition est statistiquement supérieure à celle exercée par l'indométacine.

La perméabilité vasculaire est derrière l'exsudation plasmatique qui contribue à enrichir le milieu extravasculaire en facteurs destinés à entretenir et à amplifier la réponse inflammatoire (**Regnault, 1992**). La capacité de l'extrait d'inhiber la perméabilité vasculaire indique qu'il peut moduler l'amplitude de la réaction inflammatoire, ce qui peut expliquer l'effet anti-œdémateux observé dans le test précédent.

## Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a suscité un grand intérêt dans la recherche biomédicale, une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Le présent travail vise à l'évaluation des effets antibactérien, antioxydant et anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro*, et analgésique de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* (EELS).

Tout d'abord, nous avons commencé par l'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans l'extrait, les résultats obtenus montrent qu'il est riche par ces métabolites. La teneur en polyphénols est égale à 255,8 mg d'acide gallique/mg d'extrait, et celle des flavonoïdes est égale à 303,5 mg d'Equivalent de quercetine/g d'extrait.

Après l'étude de l'activité antimicrobienne par la technique de diffusion en milieu solide, les diamètres des zones d'inhibition affichés varient entre 07 et 20 mm. La comparaison entre les souches, les souches les moins sensibles aux l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum* être *Candida albicans* ATCC10231 (07 mm), *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 et *Aspergillus niger* ATCC 106404 (09 mm). Cependant, les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues contre *Bacillus subtilis* ATCC 10876 (20 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (19 mm). En outre, la méthode de macrodilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrices dont les valeurs varient entre 0,08 à 3,12 µl/ml.

L'activité antioxydante a été explorée par la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrasyl (DPPH) et la méthode de réduction du fer (FRAP), chacune cible un mécanisme d'action des antioxydants. L'extrait éthanolique testé jouie d'un potentiel anti-radicalaire appréciable avec un IC50 de 61 µg/ml.

L'activité anti-inflammatoire (*in vitro*) d'EELS a été effectuée par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation l'EELS était efficace avec une inhibition égale à 70,5%. Les résultats obtenus pour cet extrait sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac.

Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire a été réalisée *in vivo* via le test d'œdème plantaire induit par injection de la carragénine. Les souris ont été réparties en trois lots recevant de l'EES (780 mg/kg), le diclofénac (50 µl/kg) et le groupe témoin, les résultats obtenus montrent que

l'EELS possède un effet anti inflammatoire considérablement significatif qui s'est manifesté par une réduction de 80.26% d'œdème .

Quant à l'activité analgésique, les souris ont été réparties en trois lots recevant de l'EELS (780 mg/kg), le paracétamol (200 mg/ kg) respectivement, et le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique. Après 20 min injection intrapéritonéale de l'acide acétique à 1%, Les résultats obtenus montrent que l'EELS présente un effet analgésique comparable à celui du paracétamol qui s'est prononcé par la réduction de 40% des torsions.

Dernièrement, l'effet de l'EELS sur la perméabilité vasculaire induite au niveau péritonéal par l'acide acétique a été exploré. Les souris ont été réparties aussi en trois lots recevant de l'EES (780 mg/kg), l'indométacine (50 mg/kg), et le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique. Une heure après, les souris des trois derniers lots ont reçu une injection intraveineuse de 10 ml/kg d'une solution de bleu d'Evans 1%, suivie d'une injection intra-péritonéale de 10 ml/Kg d'acide acétique 0,7%. Les résultats obtenus montrent que l'EELS possède une inhibition de 70 % de la perméabilité vasculaire, cette inhibition est supérieure à celle obtenue avec l'indométacine.

En fin, L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active

## Annexe n° 01

### 1 - Bouillon nutritif (BN)

- 1000 mL d'eau distillée
- 100 g de peptone
- 05 g d'extrait de viande
- 0.5 g de chlorure de sodium

### 2 – Milieu Mueller Hinton (MH)

Les proportions ci-dessous sont calculées pour 1000 mL d'eau distillée.

- Infusion de 300 grammes de viande de bœuf déshydratée.
- Hydrolysate acide de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 10 à 15 g
- pH final du milieu : 7,4

Porter le tout à ébullition et verser le milieu dans les tubes avant qu'il ne se solidifie.

### 3 - Tampon PBS

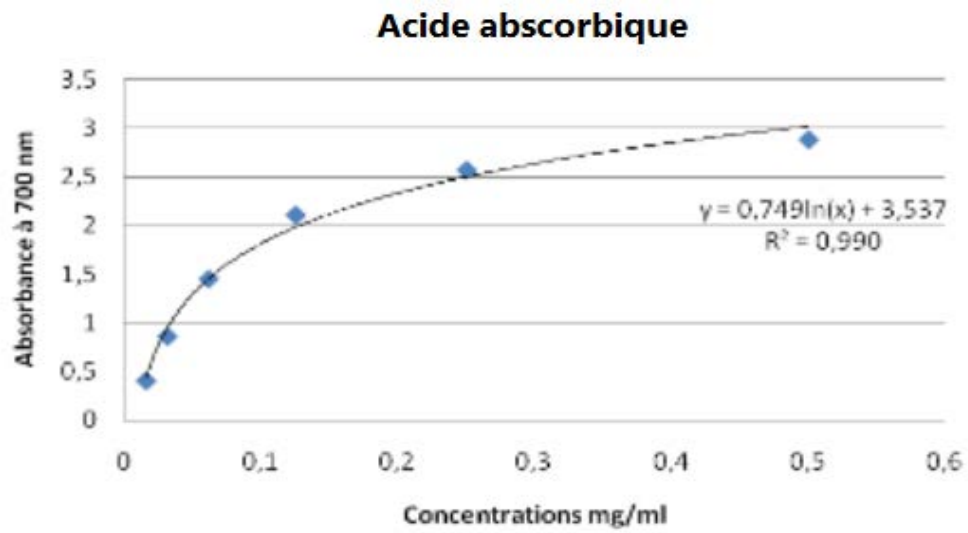
- 1000 ml d'eau distillée
- 8 g NaCl
- 0.2 g KCl
- 1.44 g Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>
- 0.24 g KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>
- pH à 7, 4.

## Annexe n°02

Tableau : Détermination de la CMI de l'extrait éthanolique de *lepiduim sativum*

Les concentrations Les souches bactériennes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(1) <i>Enterobacter cloacae</i>												
(2) <i>Bacillus subtilis</i>												
(3) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>												
(4) <i>Shigella</i>												
(5) <i>Aspergillus niger</i>												
(6) <i>Candida albicans</i>												
(7) <i>Carnobacterium maltoaromaticum</i>												
(8) <i>Staphylococcus aureus</i>												
(9) <i>Bacillus cereus</i>												
(10) <i>Escherichia coli</i>												

### Annexe n°03



**Figure :** la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

## Références bibliographiques

### « A »

- **Adossides A, 2003**, La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole, 70p
- **ADESOKAN A. A., AKANJI M.A., and YAKUBU M.T, (2007)**, Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, African Journal of Biotechnology, 6 (22), p. 2502 - 2505.
- **Ahmed A.A ; El-Moghazy S.A ; El-Shanawany M.A ; Abdel-Ghani H.F ; Karchesy J ; Sturtz G ; Dalley K ; Pare P.W. J, 2004** : Nat. Prod, 67, 1705–1710.
- **Agarwal Nidhi and Sharma Sheel, (2011)**. Nourishing and healing prowess of garden cress (*Lepidium sativum* Linn). Indian journal of natural products and resources septemper 2011,pp, 292-297.
- **AI Abuelgasim, HS Nuha, AH Mohammed, (2008)**. Research Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2008, 3, 20-23.
- **Adarshvm, ajaykp, Kavitha d, Anurag kb.(2011)**. Anti-denaturation and antioxidant activities of *annonacherimola* in-vitro. International Journal of Ppharma and Bio Sciences ;2(2):0975-6299

### « B »

- **Bigoniya P, CS Singh and A Shukla (2011)**. Indian Journal of Natural Products and Resources, 2011, 2(4), 464-471.
- **Boizot N, Charpentier J-P (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra 79 – 82
- **Boutaghane.N, 2013**: Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulcinosa* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Asteraceae). Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences. Université de Constantine 1. Page 11-58
- **BOUGANDOURA Nabila, BENDIMERAD Nassima (2012)** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.*Nepeta* (L.) Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09. Pages 14 à 19.
- **Boxin Ou, Maureen Hampsch-Woodill and Ronald L. Prior (2001)**. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of Agricultural and Food Chemistry. (49): 4619-4626.

■ **BARRY A.L. and THORNSBERRY C., (1985)**, Susceptibility test, diffusion test procedure, American Journal of Clinical Pathology, 19, p. 492 - 500.

■ **BAUER A.W., KIRBY W.M.M., SHERRIS T.C., and TRUCK M. (1966)**, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, American Journal of Clinical Pathology, 45, p. 493 - 496.

■ **Bahorun.T ; Grinier.B ; Trotin.F ; Brunet.G ; Pin.T ; Luncky.M ; vasseur.J ; Cazin.M ; Cazin.C et Pinkas.M, 1996** : Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations .Arzneimittel-Forschung, 46(11):1086-1089.

■ **Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.(2008)**. Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. Food Chem. 111, 61–66.

■ **Bagad YM, Umarmkar AR, Tatia AU, SuranaSJ.**Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of brideliaairyshawii (Euphorbiaceae). J pharm Res 2011;4(5):1326- 1332

« C »

■ **Carillon A, 2009**, Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. In: Conférence SIPAM, Djerba, Tunisie, Mars 2009, 7p

■ **Chatoui, A. Talbaoui, M. Aneb, Y. Bakri, H. Harhar and M. Tabyaoui1 (2016)**: Phytochemical Screening, Antioxidant and Antibacterial activity of Lepidium sativum seeds from Morocco, J. Mater. Environ. Sci. 7 (8) (2016) 2938-2946.

■ **CONGO M., 2012**. Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de Salvadora Persica L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso: 42p.

■ **Cassidy, Frederic Gomes and Hall, Joan Houston (2002)**. Dictionary of American regional English, Harvard University Press, 2002. Page 97. ISBN 0-674-00884-7, ISBN 978-0-674-00884-7

■ **Chundawat R.S., Patidar D.K., Haldar A. and Meena K.C, 2017**: Growth and Seed Yield of Asalio (Lepidium Sativum L.) as Influenced by Seed Rates and Sowing Methods, ISSN: 2347-4688, Vol. 5, No.(3) 2017, Pg. 288- 291

« D »

■ **Dupont. F et Guignard. J. L, 2012**. Botanique les familles de plantes,15ième édition. Vol 471426-(1)-(3,2). Imprimé en Espagne. page 198 et 202.

■ **DOUGHARI J.H., PUKUMA M.S., and DE N. (2007)**, Antibacterial effects of Balanites aegyptiaca L. Drel. and Moringa oleifera Lam. on Salmonella typhi, African Journal of biotechnology, 6 (19), p. 2212 - 2215.

■ **Deshpande V, Jadhav VM and Kadam VJ.** In-vitro anti-arthritic activity of *Abutilon indicum* (Linn.) Sweet. *J Pharm Res* ,2:644-645.

■ **DROUET Ludovic.** Le 24 janvier 2002. CONTRIBUTION A L'ETUDE DU *LEPIDIUMMEYENII* (LAMACA), page 4 et 5.

■ **Duh PD, Tu YY, Yen GC (1999).** Antioxidant activity of water extract of *Harnng Jyur* (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *LMT- Food Sci. Tech.* 1999; 32: 269-277. 26.

■ **Dohou.N ; Yani.K ; Thahrouch.S ; Idrissi Hassani.L.M ; Badoc.A ; Gmira.N, 2003 :** Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides*. *Bull. Soc, Pharm. Bordeaux.*142:61-78.

« E »

■ **Eddouks, M Maghrani, NA Zeggwagha, JB Michel (2005).** *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 97, 391–395.

■ **Ehouan.E, 2007 :** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpinaceae*).

■ **Eddouks, M Maghrani (2008).** *Phytotherapy Research*, 2008, 22, 1–5.

« F »

■ **Falana1, W.Nofall, H.Nakhleh1 (2014).** A Review Article *Lepidium Sativum* (Garden cress)1.Pharm-D Program, College Of Nursing, Pharmacy And Health Professions .Birzeit University.Submitted: May 10, 2014

« G »

■ **George H. M.1959:** An introduction of the plant Taxonomy. Lawrence. United Sates of America.

■ **Grassi D, Desideri G, Ferri C (2010)**Flavonoids: Antioxidants Against Atherosclerosis. *Nutrients.* 2 (8):889

■ **GHAISAS M., NAVGHARE V., TAKAWALE A., ZOPE V., DESHPANDE A., 2008.** In-vitro antioxidant activity of *tectona grandis* linn. *Pharmacologyonline.* (3): 300p.

« H »

■ **Hatano T, Edamatsu R, Mori A (1989).** Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* 1989; 37: 2016–2021

■ **Hopkins.G.W, 2003 :** *Physiologie végétale.* Boeck université. 2ème édition.

■ **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F (2004)**. Polyphénols végétaux, sources utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif .Phytothérapie. 2(1) : 3-6

■ **Harbome JB, Marby H, Marby T J (1975)**. The flavanoids. London: Chapman & Hall. P X.

■ **HÊRO F.S. AKRAYI et JWAN D. TAWFEEQ, 2012**: ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEPIDIUM SATIVUM AND ALLIUM PORRUM EXTRACTS AND JUICES AGAIN T SOME GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE BACTERIA, Biology Department, College of Education/Scientific Departments,University of Salahaddin, Erbil-Iraq.Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences 20:1, 10-16, 2012

■ **Hemingway RW, Lak PE (1992)**. Plant poly phénols : synthesis, properties, significance. Plenum Press, New York. P 639- 690.

« I »

■ **Iqbal Hussain ; Moneeb Ur Rehman Khattak ; Riaz ullah ; Zia Muhammad ; Naeem Khan ; Farhat Ali Khan ; Zahoor Ullah and Sajjad Haider, 2011** : Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(6), pp. 746-750.

■ **luthria D (2006)**. Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86(14) 2266 – 2272

« J »

■ **Jabeen Asra, Dr. S. Rani<sup>2</sup>, Dr. Mohammed Ibrahim, Abdul Saleem Mohammad (2017)**, A REVIEW ON LEPIDIUM SATIVUM, Department of Pharmacognosy,2017, (Dist)-508284

■ **Jansen P. (2007)**. PROTA Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands.

■ **Jayaprakasam R and Ravi T.K, 2012**. EVALUATION OF ANTI ARTHRITIC ACTIVITY OF THE ROOT EXTRACT OF ACALYPHA INDICA LINN. USING IN VITRO TECHNIQUES. Scholar Science Journals vol 2 (6), pp.169-173

■ **Jency Malara ; K.Chairmanb ; AnitaR.J.Singhc ; J.ShifaVanmathid ; Yves-Alain Bekro ; J.A.Mamyrbekova Békro ; B.B.Boua, Fézan.H ; TRA BI<sup>2</sup> et Indumathy.A and Aruna.A, 2013** : International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(4), 634-637.

« K »

- **Kar A, 2007**, Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. 2nd edition, New Age International Publishers, 898p
- **Kou J, Si M, Dai G, Lin Y and Zhu D (2006)**.Antiinflammatory activity of Polygala japonica extract. Fitoterapi, 77, 411–415.

« L »

- **Li .H.B ; Cheng.K.W ; Wong.C.C ; Fan.K.W ; chen.F ; Tian.Y, 2007** : Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. Food Chimestry, 102 : 771-776.
- **Locatelli M ; Travaglia F ; Coisson J.D ; Martelli A ; Stevigny C ; Arlorio M, 2010** :Total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. Food Chemistry. Pp1647-1655.
- **Laurnet.B, 2012** : initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales conservation du jardin botanique de la ville paris science végétales
- **Li A, Li S , Zhang Y-J , Xu X-R , Chen Y-M , Li H-B (2014)**.Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. Nutrients.6(12) , 6020 - 6047

« M »

- **Maghrani, NA Zeggwagh, JB Michel and M Eddouks (2005)**. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 100(1-2), 193– 197.
- **Martin philippe, 2013** : Les familles des plantes à fleurs d’Europe. Presses universitaires de Namur. Vol 978-2-87037-776-5 imprimé en Belgique, page 105.
- **MAATAOUI B S., HMYENE A., HILALI S., 2006**.Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal.(1):3-8.
- **Maisuthisakul, P.; Pasuk, S. & Ritthiruangdej, P. (2008)**. Relationship of antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 21, pp 229-240.
- **MOLYNEUX P., SONGKLANAKARIN J., 2004**. The use of the stable free radical diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Sciences Technology .Vol 26 (2): 211-219.
- **Mizushima Y and Kobayashi M. (1968)**.Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins.Journal of Pharmacy and Pharmacology 20 (1)169-173.

« O »

- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998**, Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde. WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse, 65p OMS
- **Oyaizu, M. (1986)** Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307–315.
- **Özlem Tuncay \*, Dursun Eiyok , Bülent Yamur and Bülent Okur, 2010:** Yield and quality of garden cress affected by different nitrogen sources and growing period, African Journal of Agricultural Research Vol. 6(3), pp. 608-617, 4 February, 2011

« P »

- **PRIOR R L., WU X., SCHAICH K., 2005.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. Agric Food Chem. (53). 4290-4302.
- **Prakash D, Upadhyay G, Brahma N, Singh H B (2007).** Singh antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (Glycine max). Food Chemistry, 104, 783-790.
- **Patel, M Kulkarni, V Undale, and A Bhosale (2009).** Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2009, 8 (3), 215-219.
- **Patole, VV Agte and MC Phadnis.** Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 1998, 20, 10051008.
- **Pincemail.J ; Bonjean.K ; Cayeux.K and Defraigne.J.O, 2002 :** « Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant, Physiological action of antioxydant defences », Nutrition clinique et métabolisme, 16, 233-239.

« R »

- **Razavi, S. M. A., Farhoosh, R., and Bostan, A. (2007).** Functional properties of hydrocolloid extract of some domestic Iranian seeds. Research project grant n. 1475. Iran: ferdowsi university of mashhad. Unpublished report.
- **Rashid Mohammad A., Sikder Md. Al Amin, Kaiser Mohammad. A., Md. Kowser Miah, Parvez Md. Masud, Hossian A.K.M.2011.** Nawshad, Membrane Stabilizing Activity - A Possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of two Bangladeshi medicinal plants: Mesua Nagassarium (BURM.F.) and KIGELIA PINNATA (JACK) DC. International Standard Serial. Vol 3(3): pp 1 – 5.
- **Robert H. Perry et Don W. Green, (2007)** Perry's chemical engineer's handbook, McGraw-Hill, (ISBN 978-0-07-142294-9)

■ **ROSHIN ELIZABETH GEORGE, SHIRLY K THOMAS, MANESH KUNJUMON AND THANKAMANI V (2005)** :*Analysis of phytoconstituents and in vitro antifungal evaluation of methanolic extract of Lepidium sativum Linn.* Int J Pharm Bio Sci 2015 July; 6(3): (P) 490 – 497

■ **RK Sharma, K Vyas, H Manda (2012)**. International Journal of Phytopharmacology, 2012, 3(2), 117-120.

■ **Rizwan Ahamad ; Mohd Mujeeb ; Firoz Anwar ; Aftab Ahmad,2015** : Phytochemical analysis and evaluation of anti-oxidant activity of methanolic extract of *Lepidium sativum* L. seeds. Der Pharmacia Lettre, 2015, 7 (7) Pp427-434.

« S »

■ **Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F.(1998)**. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal Science Technology International. 8, 121-137. Sanchez1998

■ **Spichiger. R, Savolainen. V, Murielle figeat et Daniel jeanmonod, 2009**. Botanique Systématique Des Plantes à Fleurs. Troisième édition revue et corrigée. Vol ISBN 978-2-88074-502-8. Imprimé en Italie. page 262.

■ **Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Technology and Viticulture. 16, 144-153.

■ **Sy G.Y ; Fall A.D ; Diatta W ; Gueye M ; Badji Bassène E ; Faye B, 2009** : Analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous root extract of *Cassia sieberiana* D. C. (Caesalpinaceae) Afr. J. Pharm. Pharmacol. Pp651-653

■ **Shama I.Y. Adam, 1Shayma A.M. Salih and 2Warda S. Abdelgadir (2011)**. In vitro Antimicrobial Assessment of *Lepidium sativum* L. Seeds Extracts. Asian Journal of Medical Sciences 3(6): 261-266, 2011 Published: December 25, 2011

■ **Sen T.; Nag C. A. K., 1991**.- Antiinflammatory evaluation of *Pluchea indica* root extract. J. of Ethnopharmacology, 33: 135-141

■ **SIY Adam, SAM Salih and WS Abdelgadir (2011)**. Asian Journal of Medical Sciences, 2011, 3(6), 261-266.

■ **Snehal Doke and Manisha Guha (2014)**: Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review, J. Nat. Prod. Plant Resour., 2014, 4 (1):69-80

■ **Sangeetha M, Kousalya K, Lavanya R, Cherukuru S Chamundeeswari D, Uma Maheswara R.(2011)**. In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. RJPBCS Volume 2 (1): 822-827.

■ **Sanchez-moreno C (2002)**. Polyphenolic compounds: Structure and classification. Presence in foodstuff and consumption. Biodisponibility and metabolism. Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos. 329.19 - 27

« T »

■ **The Wealth of Indian Raw Materials, New Delhi (1979)** : Publication and information Directorate. 1979. pp. CSIR Vol 9, Page 71–72.

« V »

■ **Vasudevan M., Gunnam K.K., Parle M, 2006**, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Daucus carota* seeds extract. Journal of Health Science, 52(5), 598-606p

« W »

■ **Wadhwa<sup>1</sup>, M. S. Panwar<sup>1</sup>, A. Agrawal<sup>1</sup>, N. Saini<sup>1</sup> and L. N. Patidar<sup>2</sup> Wadhwa et al., ARPB, 2012**; A REVIEW ON PHARMACOGNOSTICAL STUDY OF *LEPIDIUM SATIVUM* Vol 2 (IV) Accepted on 22/12/2012

■ **Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W, 1962**, Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y), 111, 544-547p

■ **Wafeka Abdulah Al Hamedan (2010)**: Protective Effect of *Lepidium sativum* L. Seeds Powder and Extract on Hypercholesterolemic Rats, Journal of American Science 2010;6(11):873-879]. (ISSN: 1545-1003).

« Y »

■ **Yohannes Besufekad, Senbeto Beri, Tefera Adugnaw and Kibitu Beyene, 2017**: Antibacterial activity of Ethiopian *Lepidium sativum* L. against pathogenic bacteria, Department of Biotechnology, College of Natural and Computational Science, Wolkite University, Ethiopia.

■ **YC Yadav ; DN Srivastava ; V Saini ; AK Seth ; TK Ghelani ; A Malik ; S Kumar, 2011** : An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(3), p244-253.

## Résumé

Notre travail a porté sur l'étude des activités biologiques de l'extrait des graines de *Lepidium sativum*. L'analyse de cet extrait a révélé la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols totaux et flavonoïdes) susceptibles d'exprimer les activités recherchées et leurs teneurs ont été déterminées par des méthodes spectrophotométriques. L'extrait a été également soumis à un criblage pour son activité antimicrobienne possible *in vitro*, contre huit souches de bactéries pathogènes et deux espèces de levure, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. L'extrait a réagi positivement sur les souches microbiennes testées et les CMI ont été déterminées.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée avec deux méthodes différentes : technique de réduction du radical libre DPPH et le test de réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait peut agir en tant que piègeur de radicaux.

L'exploration de l'activité anti inflammatoire *in vitro* a montré que l'extrait possède une forte capacité d'inhiber la dénaturation protéique à raison de 70.5%. Comme il a prouvé significativement son efficacité *in vivo* dans la réduction de 80,26% de l'œdème plantaire induit par la carragénine chez la souris.

En outre, l'extrait a prouvé significativement son activité analgésique en réduisant les contorsions induites par l'acide acétique de 40% chez la souris. De même, l'administration de l'extrait a exercé une inhibition de 72,94% de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.

Mots clé : graines de *Lepidium sativum*, effet antibactérien, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, effet analgésique, perméabilité vasculaire.

## ملخص

تركز عملنا على دراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلص بذور *Lepidium sativum* وكشف تحليل هذا المستخلص عن وجود بعض المجموعات الكيميائية (البوليفينول الكلي والفلافونويد) القادرة على التعبير عن الأنشطة المرغوبة وتم تحديد محتوياتها بواسطة طرق القياس الطيفي. كما تم فحص المستخلص لنشاطه المضاد للميكروبات *in vitro* ، مقابل ثمانية سلالات من البكتيريا المسببة للأمراض واثنين من أنواع الخميرة ، وذلك باستخدام طريقة الانتشار في القرص الصلب. تفاعل المستخلص إيجابيا على السلالات الميكروبية التي تم اختبارها وتم تحديد CMI.

تمت دراسة النشاط المضاد للأوكسدة *in vitro* بطريقتين مختلفتين: تقنية تقليل الجذور الحرة DPPH واختبار الحد من الحديد (FRAP) وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص يمكن أن يعمل كمزيل للراديكاليين.

وقد أظهر التحقيق في النشاط المضاد للالتهابات *in vitro* أن المستخلص له قدرة قوية على منع تمسخ البروتين بنسبة 70.5%. كما أثبتت بشكل كبير في فعالية الجسم الحي في الحد من 80.26% من الوذمة الأخرسية الناجمة عن الكاراجينين في الفئران.

بالإضافة إلى ذلك ، أظهر المستخلص بشكل ملحوظ نشاطه المسكن عن طريق تقليل التشوهات التي يسببها حمض الخليك بنسبة 40% في الفئران. وبالمثل ، فإن تناول المستخلص قد تسبب في تثبيط نفاذية الأوعية الدموية التي يسببها حمض الأسيتيك بنسبة 72.94% في الفئران.

**الكلمات المفتاحية:** بذور *lepidium sativum* ، تأثير مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، تأثير مسكن ، نفاذية الأوعية الدموية