

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF



Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Génétique Moléculaire Appliquée

**Spécialité : Biologie**

**Option : Biologie**

## **THESE DOCTORAT**

Présenté par :

**MANSOUR Sadia**

*Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Science*

### **Thème**

Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales :  
*Artemisia absinthium L* , *Artemisia herba alba Asso* et *Hypericum  
scarboides*  
- *Etude in vivo*-

*Soutenu le 02 Juin 2015 devant la commission d'examen composée de :*

Qualité	Nom et Prénom	Grade	Etablissement d'Origine
Président :	KAID-HARCHE Meriem	Professeur	USTOMB (Oran)
Rapporteur :	DJEBLI Nouredine	Professeur	Université de Mostaganem
Examineur :	DJABEUR Abderrezak	Professeur	USTOMB (Oran)
Examineur :	AOUES Abdelkader	Professeur	Université. A.BENBELLA (Oran 1)
Examineur :	SAHRAOUI Tewfik	Professeur	Université A.BENBELLA (Oran1)

**Année Universitaire 2014/2015**

## *Remerciements*

*Nous adressons nos sincères remerciements:*

*A Madame KAID-HARCHÉ Meriem, Professeur au département de Biotechnologie, de l'université des sciences et de la technologie Mohamed BOUDIAF, Oran, pour avoir accepté de présider le jury. Sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, je vous prie de croire en mon éternel respect et ma sincère gratitude.*

*A Monsieur DJABEUR Abderrezak, Professeur au département de Biotechnologie, de l'université des sciences et de la technologie Mohamed BOUDIAF, Oran, pour m'avoir honoré d'examiner ce travail, je vous suis très reconnaissante de votre présence, et je vous adresse mes vifs remerciements.*

*A Monsieur AOUES Abdelkader, Professeur au département de Biologie, de l'université Es-senia 1, Oran, pour avoir accepté d'illuminer ce travail en l'ayant examiné tout en apportant ces précieuses remarques, veuillez trouver professeur l'expression de mon éternelle reconnaissance.*

*A Monsieur SAHRAOUI Tewfik, Professeur au département de Biologie, de l'université Es-senia 1, Oran, pour avoir accepté de contribuer à ce travail à travers ces pertinentes observations, veuillez trouver professeur l'expression de ma sincère gratitude.*

*A Monsieur DJEBLI Noureddine, professeur au département de Biologie, de l'université de Mostaganem pour avoir encadré ce travail, un grand merci pour la gentillesse, la sympathie, la disponibilité et la patience que vous avez manifestées à mon égard tout au long de la réalisation de ce travail. je vous prie de croire en mon éternel respect et ma sincère gratitude.*

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

*Le laboratoire des sciences d'ingénierie des aliments de l'Université « Dunarea de Jos », Galati, Roumanie, dirigé par le Professeur RAPEANU Gabriella et toute son équipe.*

*Le laboratoire de pharmacognosie de l'université d'Istanbul, Turquie, dirigé par le professeur Matt Affife et toute son équipe.*

*Le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital militaire d'Aïn el baïda d'Oran, sous l'œil précieuse du Dr BOUAKLINE et toute son équipe en particulier Monsieur KALKOUL.*

*Le laboratoire de pharmacognosie et api-phytothérapie, de l'université de Mostaganem sous la direction du professeur DJEBLI et toute son équipe mes chers collègues en particulier l'équipe 04.*

*Mes collègues de l'université de l'USTOMB en particulier ceux et celles de la faculté des sciences de la nature et de la vie.*

*Mes collègues du staff administratif de la faculté des sciences de la nature et de la vie en particulier mes secrétaires*

*Merci à tous*

# RESUME

De nombreuses plantes sont connues pour leur utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies dont les maladies à composante inflammatoires. Le but de cette étude était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de trois extraits de plantes, l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia absinthium*, l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* et l'extrait éthanolique d'*Hypericum scarboides* en testant leurs toxicité aux doses de 150 et 300 et 200 mg/Kg de poids corporel, respectivement, en administration orale sur le modèle de l'œdème aigue de la patte de souris induit par la carragénine.

Nos résultats montrent qu'à ces doses, les extraits n'exercent aucun effet toxique, d'autre part, l'étude de l'activité anti-inflammatoire montre que l'injection de la carragénine entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris.

L'administration orale du diclofinac (50 mg/Kg de p.c) provoque une diminution du volume de la patte des souris pendant les six heures de l'expérimentation. De plus, à la première heure, le pourcentage d'inhibition de l'œdème est de 43% chez le groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* et par l'extrait aqueux d' d'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/Kg de poids corporel. cette activité augmente progressivement jusqu'à la sixième heure (90%). De même, des résultats similaires sont rapportés à la dose de 300 mg/Kg de poids corporel pour mêmes plantes.

L'étude histologique des coupes traitées par le diclofinac et les extrait aqueux de l'*Artemisia absinthium* et *Artemesia herba alba* (150 et 300 mg/Kg de p.c) confirment que ces traitements ont une activité anti-inflammatoire. De plus, à la dose 300 mg/kg de p.c, l'infiltrat inflammatoire disparaît presque totalement.

La composition chimique d'*Hypericum scarboides* révèle la présence d'hyperoside et d'isoquercitrine. De plus, le test de l'activité anti-inflammatoire montre un pourcentages d'inhibition de l'œdème inflammatoire réduit après le traitement par l'extrait éthanolique d'*H. scabroides* (200 mg/Kg de pc).

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait aqueux d'*Artemesia absinthium*, l'extrait aqueux d'*Artemesia herba alba* et l'extrait éthanolique d'*Hypericum scarboides* présentent une efficacité sur l'œdème aigue de la patte des souris induit par la carragénine, avec une meilleure efficacité vis-à-vis de celle de l'anti-inflammatoire non stéroïdien.

**Mots clés:** *Artemisia absinthium*, *Artemisia herba alba*, *Hypericum scarboides* inflammation, phytothérapie, composition chimique, carragénine, diclofénac, souris,

# ABSTRACT

The inflammation is process used to eliminate the pathogen and repair tissue damage. Many plants and herbs such as ginger, turmeric and olive oil, have been shown to exhibit potent antiinflammatory effects. *Artemesia* genus is widely used in traditional medicine in Algeria for the treatment of many deseases such as cancers and inflammation.

The genus *Hypericum* includes a large number of species worldwide distributed. Several of the botanical species belonging to the genus are used in folk medicine and among them *H. perforatum* L. (St. John's Wort) is especially known as a traditional remedy for the treatment of melancholia, abdominaland urogenital pain and ulcerated bums.

We have tested the anti-inflammatory activity of the aqueous leaf extracts of 2 species of *Artemisia* (*A.absinthium* and *A. herba alba*) and methanol extracts of *Hypericum scarbroid* aerial parts in mice weighting  $25\pm 5g$ . We administered *per os* either vehicle (control group), the aqueous leaf extracts (150mg/kg of body weight and 300 mg/kg of body weight), the methanol extract of aerial parts of *Hypericum scarbroid* (200 mg/kg, p.o.) and diclofenac (50 mg/kg). 1 hour before an edema was induced in the mice paw by subcutaneous injection of carrageenin. The mouse-paw volume was measured each hour during 6 hours, after injection of carrageenin. In control group, the carrageenin increases the development of edema of the mouse-paw. Indeed, the Diclofenac (50 mg/kg), paw volume was reduced significantly until  $2,24 \pm 0,49\%$  at 6<sup>th</sup> hour.

At a dose of 150 mg/kg of body weight, the aqueous extracts of *A. absinthium* and the aqueous extracts of *A. herba alba* inhibited significantly the development of edema specially after 6 hours ( $4,02\pm 0,49\%$  and  $1,08\pm 0,47\%$ , on *A.absinthium* group and *A. herba alba* group, respectively). Similar results were observed with the aqueous extract of *A. absinthium* and the aqueous extracts of *A.herba alba* at dose of 300 mg/kg of body weight.

The methanol extract of aerial parts of *Hypericum scarbroid* in a dose of 200 mg/kg showed significant antiinflammatory activity ( $78,03\pm 15,54\%$  and  $40,44\pm 16,36$  ) at 1 and 3h postmedication, respectively. In diclofenac models treated animals at (50 mg/kg) this activity was by  $31 \pm 11,52$ ,  $0,80\pm 0,09$  and  $9,39\pm 1,99\%$  at 1, 3 and 6h, respectively, when compared to control group.

Histological examination of sections treated by diclofinac and aqueous extract of *Artemisia absinthium* and *Artemisia herba alba* (150 and 300 mg / kg bw) confirm that these treatments have anti-inflammatory activity. In addition, at the dose 300 mg / kg bw, the inflammatory infiltrate disappears almost completely.

The chemical composition of *Hypericum scarboides* reveals the presence of hyperoside and isoquercitrin. Moreover, the test of the anti-inflammatory activity shows a percentage of inhibition of inflammatory edema reduced after treatment with the ethanolic extract of *H. scabroides* (200 mg / kg bw).

The obtained results of the present investigation revealed that the aqueous leaf extracts of the two species of *Artemisia* (*A.absinthium* and *A. herba alba*) and the methanol extract of *Hypericum scarbroid* has significant antiinflammatory activity.

**Keywords:** antiinflammatory, carrageenan, *Artemisia absinthium*, *Artemisia herba alba*, *Hypericum scarbroid*, mice.

## Sommaire

Avantpropos.....	1
------------------	---

### **PARTIE I: L'INFLAMMATION**

1. Introduction.....	3
2. L'inflammation.....	4
2.1. Définitions de l'inflammation.....	4
2.2. Manifestations cliniques.....	4
2.3. Étiologie.....	4
2.4. Types d'inflammation.....	5
2.4.1. L'inflammation aiguë.....	5
2.4.1.1. Phase vasculaire.....	5
2.4.1.2. Phase cellulaire.....	6
2.4.1.3. Phase de réparation.....	8
2.4.2. L'inflammation chronique.....	8
2.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	11
2.6. Les médiateurs de l'inflammation.....	13
2.7. Implications pathologiques de l'inflammation.....	15
2.8. Thérapeutiques de l'inflammation.....	16
2.8.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	16
2.8.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	18

### **PARTIE II: PLANTES MEDICINALES ET INFLAMMATION**

1. Métabolites secondaires.....	19
2. Formes galéniques des plantes médicinales.....	20

2. 1. Extraits de plantes.....	20
2.2. Gélules et comprimés.....	21
2.3. Extraits hydroalcooliques.....	21
3. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	21

### **PARTIE III: ARTEMISIA**

#### **Chapitre I : *Artemisia absinthium L***

1. Introduction.....	23
2. Présentation de la plante.....	24
2.1. Systématique de la plante.....	24
2.2. Description botanique de la plante.....	24
2.3 Distribution géographique.....	25
2.4. Composition chimique de <i>l'Artemesia absinthium</i> .....	26
3. Utilisation thérapeutique de la plante.....	27

#### **Chapitre II : *Artemisia herba alba Asso***

1. Présentation de la plante.....	30
1.1. Systémique de la plante.....	30
1.2. Description botanique de la plante.....	30
1.3. Caractéristiques morphologique de la plante.....	30
1.4. Distribution géographique.....	31
2. Composition chimique de <i>l'Artemisia herba alba</i> .....	33
3. Utilisation thérapeutique de la plante.....	39

#### **Chapitre III : MATERIEL ET METHODES**

1. Extraction.....	45
1.1. Matériels biologique.....	45
1.1.1. <i>Artemisia absinthium L</i> .....	45

1.1.2. <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	45
1.2. Préparation des extraits.....	45
2. Test de toxicité.....	46
2.1. Principe.....	46
2.2. Matériel biologique.....	46
2.3. Protocole.....	46
3. L'activité anti-inflammatoire.....	47
3.1. Protocole expérimental.....	47
3.1.1. Prétraitement par les extraits.....	47
3.1.2. Induction de l'inflammation.....	48
3.1.2. 1. Injection de la carragénine .....	48
3.1.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	49
4. Etude histologique.....	50
4.1. Echantillons.....	50
4.2. Méthodes.....	50
5. Analyse statistiques.....	52

## **Chapitre IV : RESULTATS**

1. L'extraction .....	53
2. Test de toxicité.....	53
2.1. <i>Artemisia absinthium</i> L.....	53
2.2. <i>Artemesia herba alba</i> Asso.....	53
3. L'activité anti-inflammatoire.....	54
3.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG).....	54
3.1.1. Groupes témoins.....	54
3.1.2. Groupes standards.....	56

3.1.3. Groupes traités.....	58
3.1.3.1 Groupe traité par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> (150mg /kg de p.c).....	58
3.1.3.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia herba alba</i> (150 mg/kg de p.c).....	58
3.1.3.3. Groupe traité par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> (300mg /kg de p.c).....	60
3.1.3.4. Groupe traitée par l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia herba alba</i> (300 mg/kg de p.c).....	60
3.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH).....	62
3.2.1. Groupes standards.....	62
3.2.2. Groupes traités.....	64
3.2.3.1 Groupe traité par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> (150mg /kg de p.c).....	64
3.2.3.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia herba alba</i> (150 mg/kg de p.c).....	64
3.2.3.3. Groupe traité par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> (300mg /kg de p.c).....	66
3.2.3.4. Groupe traitée par l'extrait aqueux de l' <i>Artemisia herba alba</i> (300 mg/kg de p.c).....	66
3.2.3.5. Comparaison entre l'activité inhibitrice des deux plantes.....	68
4. L'étude histologique.....	69
4.1. Groupe témoin.....	69
4.2. Groupe standard.....	69
4.3. Groupes traités par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> et par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> (150mg /kg de PC).....	70
4.4. Groupes traités par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia absinthium</i> et par l'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> (300mg /kg de PC).....	71
<b>DISCUSSION</b> .....	72
<b>CONCLUSION</b> .....	77

## **PARTIE IV: *HYPERICUM***

### **Chapitre I : *Hypericum scarboides***

1. Introduction.....	79
2. Présentation de la plante.....	80
2.1. Systémique de la plante.....	80

2.2. Description botanique de la plante.....	80
2.3. Caractéristiques morphologique de la plante.....	80
2.4. Distribution géographique.....	81
3. Composition chimique des espèces <i>d'Hypericum</i> .....	81
3.1. Les Naphthodianthrone et les dérivés acyl phloglucine.....	81
3.2. Les composés volatils.....	82
3.3. Les composés phénoliques.....	82
4. Utilisation thérapeutique du genre <i>Hypericum</i> .....	85

## **Chapitre II : MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel végétal.....	88
2. Matériel biologique.....	88
3. Préparation de l'extrait méthanolique <i>d'Hypericum scabroides</i> .....	88
4. Test de toxicité.....	88
5. Analyses chimiques d' <i>Hypericum scarboides</i> .....	89
5.1. Agents chimiques.....	89
5.2. Echantillon.....	89
5.3. Solvants.....	89
5.4. Instrumentation.....	89
5.5. Procédés de HPLC Analytique.....	90
6. Activité anti-inflammatoire.....	91
6.1. Prétraitement par l'extrait méthanolique <i>d'Hypericum scarboide (Hyp sc)</i> .....	91
6.2. Induction de l'inflammation.....	91
6.2.1. Injection de la carragénine.....	91
6.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	91
7. Analyses statistiques.....	92

## Chapitre IV : RESULTATS

1. Extraction.....	93
2. Test de toxicité.....	93
3. Analyse de la composition chimique.....	93
3.1. Composés chimiques de l'extrait méthanolique d' <i>Hypericum scarboides</i> .....	93
3.2. Le liquide de chromatographie.....	93
4. Activité anti-inflammatoire.....	95
4.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris.....	95
4.1.1. Groupe Témoin.....	95
4.1.2. Groupe standard.....	95
4.1.3. Groupe traité par l'extrait méthanolique d' <i>H. scabroides</i> à la dose de 200 mg/Kg de P.C.....	95
4.2. L'activité d'inhibition de l'œdème (%INH).....	97
4.2.1. Groupe standard.....	97
4.2.2. Groupe traité par l'extrait d' <i>Hypericum Scarboides</i> à la dose de 200 mg/Kg de P.C.....	97
4.2.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait d' <i>Hypericum Scarboides</i> à la dose de 200 mg/Kg de P.C.....	97
<b>DISCUSSION</b> .....	99
<b>CONCLUSION</b> .....	104
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	105

# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative (Rousselet <i>et al.</i> , 2005).....	6
<b>Figure 2 :</b> Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins (Kumar <i>et al.</i> , 2007).....	8
<b>Figure 3 :</b> L'homéostasie tissulaire dépend d'un équilibre entre recrutement, division, migration et mort cellulaires. (Angela C <i>et al.</i> 2004).....	10
<b>Figure 4:</b> Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Hilda <i>et al.</i> , 2010).....	17
<b>Figure 5 :</b> Procédés de transformation des plantes médicinales (Gibellin, 2003).....	20
<b>Figure 6 :</b> <i>Artemisia absinthium L.</i> .....	24
<b>Figure 7:</b> Structure chimiques de la thuyone (Catier <i>et al.</i> , 2007).....	26
<b>Figure 8 :</b> Structure chimiques de l'absinthine (Catier <i>et al.</i> , 2007).....	26
<b>Figure 9 :</b> Biosynthèse de l'Artémisine.....	26
<b>Figure 10:</b> <i>Artemisia herba alba</i> (Zaim <i>et al.</i> , 2012).....	31
<b>Figure 11:</b> Distribution géographique d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	32
<b>Figure 12:</b> Les sesquiterpènes lactones d' <i>Artemisia herba alba</i> (Mohamed <i>et al.</i> , 2009).....	34
<b>Figure 13 :</b> Les flavonoïdes de l' <i>Artemisia herba alba</i> (Mohamed <i>et al.</i> , 2010).....	36
<b>Figure 14 :</b> Administration orale des extraits et injection sub-plantaire de la carragénine.....	48
<b>Figure 15 :</b> Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital....	49
<b>Figure 16:</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin pendant 6 h. Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	55
<b>Figure 17:</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standard pendant 6h Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	57
<b>Figure 18:</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées (150mg/kg de p.c) pendant 6h Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B) .....	59

<b>Figure 19:</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées (300 mg/kg de p.c) pendant 6h. Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	<b>61</b>
<b>Figure 20 :</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard traité par diclofénac pendant 6h. Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	<b>63</b>
<b>Figure 21</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées (150 mg/Kg PC) pendant 6h. Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	<b>65</b>
<b>Figure 22:</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées (300 mg/Kg PC) pendant 6h. Groupe <i>Ar abs</i> (A) ; Groupe <i>Ar her</i> (B).....	<b>67</b>
<b>Figure 23:</b> Photo représentant les tissus enflammés de la patte des souris témoin (GX100).....	<b>69</b>
<b>Figure 24:</b> Photo représentant les tissus enflammés de la patte de souris standard (G200).....	<b>69</b>
<b>Figure 25 :</b> Photo présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux <i>d'Artemesia absinthium</i> (A) et les souris traitées par l'extrait aqueux <i>d'Artemesia herba alba</i> à la dose de 150 mg/kg (B) (GX200 et X100).....	<b>70</b>
<b>Figure 26 :</b> Photo présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux <i>d'Artemesia absinthium</i> (A) et les souris traitées par l'extrait aqueux <i>d'Artemesia herba alba</i> à la dose de 150 mg/kg (B) (GX200 et X100).....	<b>71</b>
<b>Figure 27: Chromatogramme LC de l'extrait méthanolique d'<i>H. scabroides</i></b> * Pseudohypericine (1) , hypericine (2) dans l'extrait méthanolique <i>d'H. scabroides</i> à 590 nm (Fig a).....	<b>94</b>
<b>Figure 28 :</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris Témoins.....	<b>96</b>
<b>Figure 29 :</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris des souris standards...	<b>96</b>
<b>Figure 30 :</b> Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris des souris traitées par l'extrait méthanolique <i>d'Hypericum scarboides</i> (200 mg/kg PC).....	<b>96</b>
<b>Figure 31:</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard traité par diclofénac pendant 6h.....	<b>96</b>
<b>Figure 32:</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait méthanolique <i>d'Hypericum scarboides</i> (200 mg/Kg PC) pendant 6h.....	<b>98</b>
<b>Figure 33 :</b> Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard comparées aux souris traitées par l'extrait méthanolique <i>d'Hypericum scarboides</i> (200 mg/Kg PC) pendant 6h.....	<b>98</b>

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires (Rankin, 2004; Male <i>et al.</i> , 2007).....	<b>13</b>
<b>Tableau 2:</b> Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).....	<b>15</b>
<b>Tableau 3:</b> Exemples d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. (Wallace et Staats, 2004).....	<b>16</b>
<b>Tableau 4:</b> Principaux glucocorticoïdes(GC) (Henzen, 2003).....	<b>18</b>
<b>Tableau 5:</b> Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoires (Erdemoglu <i>et al.</i> , 2003 ; Setty et Sigal, 2005; Goetz, 2011).....	<b>22</b>
<b>Tableau 6 :</b> Test de toxicité aux doses de 150 mg/Kg et 300 mg/ Kg de p.c de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Artemisia absinthium</i> au cours des 24 heures.....	<b>53</b>
<b>Tableau 7 :</b> Test de toxicité aux doses de 150 mg/Kg et de 300 mg/ Kg de p.c de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Artemisia herba alba Asso</i> au cours des 24 heures.....	<b>53</b>
<b>Tableau 8 :</b> Détermination quantitative d'hypericine, de pseudohypericine et d'hyperforine Ozkan et Matt (2013).....	<b>82</b>
<b>Tableau 9 :</b> Test de toxicité à la dose de 200 mg/Kg de p.c de l'extrait méthanolique d' <i>Hypericum scarboides</i> au cours des 24 heures.....	<b>93</b>
<b>Tableau 10:</b> Model de présentation des moyennes de diamètre des pattes avant et après l'injection de la carragénine et traitement par l'extrait d' <i>Artémisia absinthium</i> et le diclofinac.....	<b>94</b>

## Liste des abréviations

- **% AUG** : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte
- **% INH** : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte
- **AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- **AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens
- **Ar. Ab** : *Artemisia absinthium*
- **Ar. her** : *Artemisia aherba alba*
- **COX**: Cyclooxygenase
- **EOR**: Espèces oxygénées réactives
- **GC** : Glucocorticoïdes
- **H1** : première heure d'expérimentation
- **H6** : sixième heure d'expérimentation
- **HE** : Huile Essentielle
- **HSM** : *Hypericum scarboides*
- **Hyp. Sc** : *Hypericum scarboides*
- **IL** : Interleukines
- **IMAO** : Inhibiteur de monoamine oxydase
- **LB, LT**: Lymphocyte B, T
- **LC** : liquide de chromatographie
- **LT** : Leucotriène
- **MAO** : Monoamine oxydases
- **NF-KB** : Facteur nucléaire -kappa B
- **NOS** : Nitrique oxyde synthases
- **OECD** : Organisation de la coopération Economique et Développement
- **p** : Valeur de student
- **PAF** : Facteur activateur des plaquettes
- **PC** : poids corporel
- **PMNs** : Polynucléaires neutrophiles
- **St** : standard
- **Té** : témoin
- **TNF**: Facteur de nécrose tumorale

## *Avant propos*

L'inflammation est de loin le problème de santé le plus fréquent auquel nous sommes confrontés au cours de nos vies. Elle est associée à chaque infection qui se produit dans le corps, telles que la grippe ou des infections pulmonaires. Mais l'inflammation ne se limite pas uniquement à des infections, elle est également associée à des maladies courantes telles que l'artériosclérose et les maladies cardiovasculaires, l'arthrite, ainsi que des processus cancéreux. En outre, l'inflammation est aussi la réponse de l'organisme à des blessures principalement «externes» tels que les coups de soleil, entailles, et même une entorse de la cheville.

Devant l'augmentation considérable du nombre de pathologies inflammatoires et les effets secondaires des médicaments synthétiques anti-inflammatoires, de nombreux chercheurs de part le monde, s'associent dans la recherche des composés d'origine végétale qui pourraient palier ces cotés négatifs.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel, spécialement dans le traitement de maladies inflammatoires.

En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes.

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste d'une part à déterminer la toxicité et d'autre part à évaluer l'activité anti-inflammatoire de trois extraits de plantes médicinales, l'extrait aqueux des feuilles de l'*Artemisia absinthium L*, l'extrait aqueux des feuilles de l'*Artemisia herba alba*, et l'extrait méthanolique d'*Hyericum scarboides*.

Notre travail sera réparti en trois parties : La première partie est une étude bibliographique de l'inflammation et le rôle de la phytothérapie dans le traitement de l'inflammation, la deuxième partie présentera les deux plantes étudiées et appartenant au même genre, le genre

*ARTEMISIA*, dans laquelle nous exposeront l'ensemble des analyses réalisées sur les espèces *A. absinthium* et *A herba alba*.

De meme la plante d'*Hypericum scarboides* sera présentée dans la troisième partie de ce travail. Les résultats obtenus dans chaque partie seront présentés et discutés aboutissant à des conclusions pour l'étude de chaque plante.

*PARTIE I*

***L'INFLAMMATION***

## 1. Introduction

L'organisme est pourvu d'un système de protection contre les pathogènes qui menacent son intégrité. Ces pathogènes (qui génèrent de la douleur et peuvent affecter des fonctions vitales) peuvent être des êtres vivants (bactéries, virus, eucaryotes unicellulaires comme les levures, les protozoaires... ou pluricellulaires comme les vers), des parties d'être vivant (pollens, poils, toxines bactériennes, etc.), les propres cellules modifiées de l'organisme lui-même comme les cellules cancéreuses, ou bien des éléments physico-chimiques (fibres d'amiante, poussières, etc.) et sont considérés comme dangereux pour notre organisme.

Le corps dispose de défenses physiques, comme l'imperméabilité de son épiderme et de ses muqueuses. Ces défenses sont complétées par des défenses chimiques (larmes, sueur, mucus) et biologiques (flore bactérienne présente naturellement sur et dans notre corps). Malgré tout, à la faveur d'une blessure, d'une morsure, d'une piqûre, des pathogènes peuvent pénétrer dans notre organisme. Une seconde ligne de défense est alors opérationnelle pour les neutraliser. Cette défense, la réaction inflammatoire.

La connaissance du processus inflammatoire s'est affinée au cours des siècles. Jusqu'au 19<sup>e</sup> siècle, l'inflammation était définie comme elle l'avait été par Cornélius Celsus dans l'antiquité par des signes cliniques « cardinaux »: *rubor* (rougeur), *tumor* (tuméfaction), *calor* (chaleur), *dolor* (douleur). Ensuite, Claude Galien y ajouta le cinquième signe cardinal: *functio laesa* «perte de fonction». (Russo-Marie *et al.*, 1998 ; Punchard *et al.*, 2004).

Dans la seconde moitié du 19<sup>e</sup> siècle, Conheim et Metchnikoff ont décrit en détails les événements microscopiques qui se déroulent au cours d'une réaction inflammatoire. L'étude de la physiopathologie a débuté vers 1910 avec la découverte de l'histamine, premier médiateur chimique. Après 1950, l'étude de l'inflammation a bénéficié des progrès de l'immunologie, de la pharmacologie, de la biologie cellulaire et de la thérapeutique avec la découverte de médicaments anti-inflammatoires (Rahman *et al.*, 2012).

Des anti-inflammatoires sont utilisés pour réduire la douleur lors de l'inflammation, cependant, ces agents présentent des risques de toxicité gastro-intestinales et cardiovasculaires. Pour cette raison, il est nécessaire de découvrir d'autres anti-inflammatoires ayant moins d'effets secondaires pour être utilisé particulièrement dans le traitement des inflammations chroniques.

## 2. L'inflammation

### 2.1. Définition de l'inflammation :

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. (Nathan, 2002; Barton, 2008).

La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée dite inflammation aiguë est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui lui permet de retrouver son intégrité physiologique. Alors que l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique (Weill *et al.*, 2003).

### 2.2. Manifestations cliniques

La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Mais elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire. Les effets cliniques généraux sont une altération de l'état général, associant une asthénie, une anorexie, un amaigrissement, une fièvre, des troubles du sommeil et une cachexie avec fonte musculaire (Rousselet *et al.*, 2005).

### 2.3. Étiologie

La réaction inflammatoire peut être déclenchée par plusieurs éléments:

- **Des micro-organismes** comme des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites ;
- **Des corps étrangers** (des protéines étrangères, par ex., les pollens, des cristaux de silice ou d'amiante) ;
- **Des lésions tissulaires** avec formation de débris de tissus comme après une atteinte mécanique (coupure, piqûre, frottement, ou corps étranger), chimique (acides et bases) ou physique (chaleur, froid ou rayonnement [UV, X, radioactifs]), ou encore sous l'influence d'inducteurs endogènes comme les cellules tumorales tuées, hémorragies,

réactions auto-immunes, ou cristaux formés dans l'organisme (urée, oxalate ou phosphate de calcium, cholestérol) (Silbemagi *et al.*, 2000).

## 2. 4. Types d'inflammation

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

### 2.4. 1. L'inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010). Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé. Des modifications vasculaires, telles que l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire apparaissent au niveau du tissu enflammé. Cette augmentation de la perméabilité permet au liquide plasmatique de s'échapper vers le milieu extravasculaire, phénomène connu sous le terme d'exsudation plasmatique. Ces modifications vasculaires permettent le recrutement des leucocytes dans le milieu extravasculaire qui se déplacent en suite vers le site inflammatoire. Ces leucocytes détruisent et éliminent les stimuli nocifs qui s'y présentent, laissant place à la réparation du tissu endommagé (Rankin, 2004). L'inflammation aiguë se constitue en trois phases :

#### 2.4.1.1.Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)

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

##### ➤ Congestion active

Il s'agit d'une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Les petits vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématies, bordés d'un

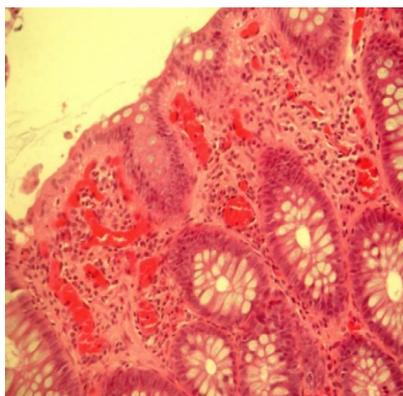
endothélium turgescent. La congestion est déclenchée par un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques (figure 1a). (Rousselet *et al.*, 2005)

➤ **Œdème inflammatoire**

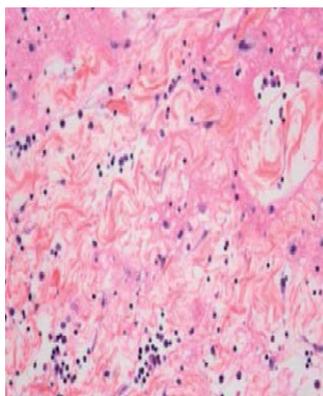
Il s'agit du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses d'un liquide appelé exsudat fait d'eau et de protéines plasmatiques (figure 1b). Sa traduction clinique est un gonflement des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, est responsable de la douleur (également provoquée par certains médiateurs chimiques). Sa traduction microscopique est un aspect pâle, peu colorable et distendu du tissu conjonctif. L'œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine (Rousselet *et al.*, 2005).

➤ **Diapédèse leucocytaire**

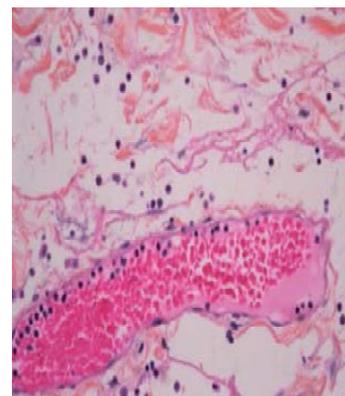
C'est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes (figure 1 C) (Rousselet *et al.*, 2005).



**a) Colite congestive**



**b) Exsudat**



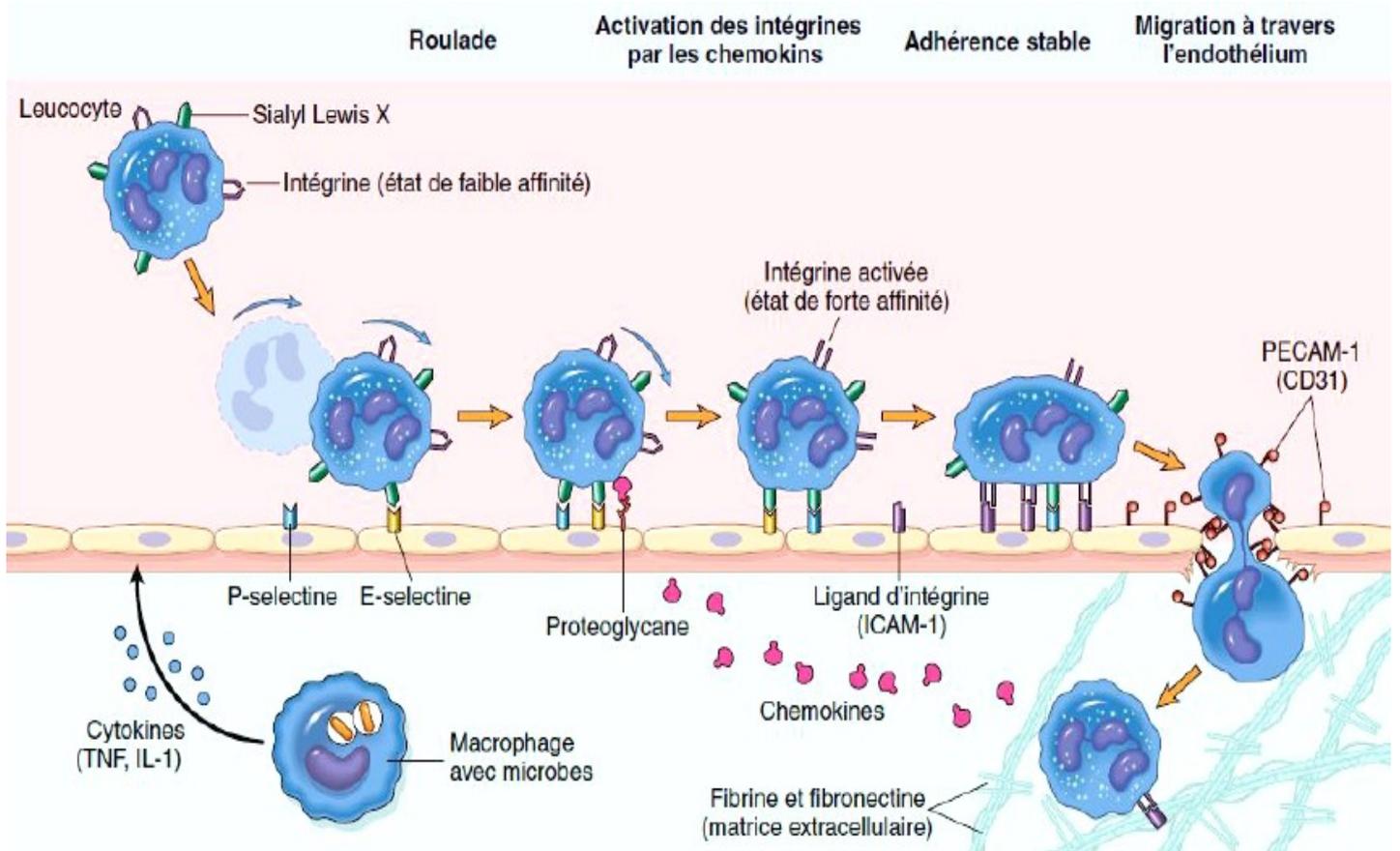
**c) diapédèse leucocytaire**

**Figure 1:** Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative (Rousselet *et al.*, 2005).

#### 1.4.1.2. La phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la déterision grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immunitaire spécifique de l'antigène (Nathan, 2002).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4 (Figure 2). Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (Charles *et al.*, 2010)



**Figure 2 :** Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

#### 4.1.1.3. La phase de réparation

Elle est caractérisée par le rétablissement de l'homéostasie après une agression mais nécessite d'abord l'arrêt de la réaction immunitaire et ensuite la réparation des tissus lésés. L'arrêt de l'inflammation fait intervenir plusieurs médiateurs tels que les cytokines anti-inflammatoires et l'apoptose des cellules inflammatoires (Eming *et al.*, 2007). La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Eming *et al.*, 2007). Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu.

Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus.

Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).

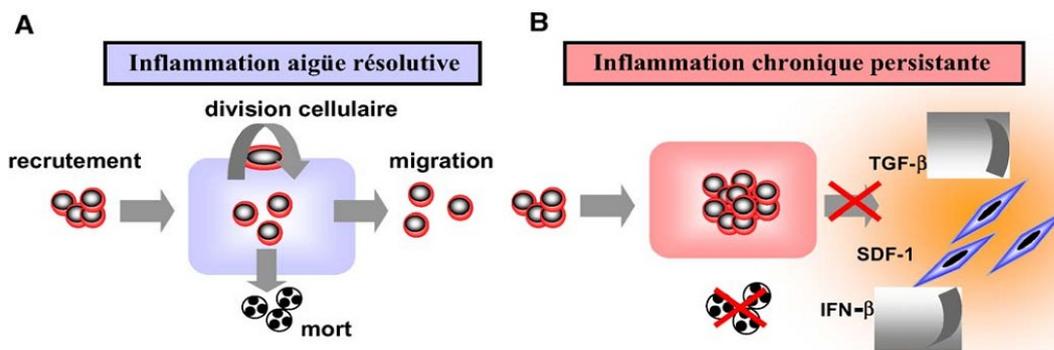
#### 2.4.2. L'inflammation chronique

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

entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2010).

L'inflammation chronique se développe dans les conditions où persiste une agression ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, où l'antigène ne peut être éliminé (Rankin, 2004). Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois ou des années. Elle peut même se prolonger tout au long de la vie de l'individu (Fauve et Hevin, 1998). A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (Weill *et al.*, 2003). Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Fauve et Hevin, 1998 ; Weill *et al.*, 2003) ( figure 3)

La présence de lymphocytes dans l'infiltrat est habituelle. Tandis que la présence des polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (Dombrowicz et Capron, 2007).



**Figure 3** : L'homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aiguë (A) et l'inflammation chronique (B) (Angela *et al.* 2004)

## 2.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

### 2.5. 1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) :

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

### 2.5. 2. Les mastocytes :

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

### 2.5 . 3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires :

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

### 2.5. 4. Les plaquettes sanguines :

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

### 2.5. 5. Les Polynucléaire basophiles :

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

**2.5. 6. Les polynucléaires éosinophiles :**

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

**2.5. 7. Les fibroblastes:**

Les fibroblastes sont des cellules ubiquitaires et principales du tissu conjonctif ; elles interviennent dans la production de la matrice extracellulaire qui offre une résistance mécanique aux cellules. Ils produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase, stromélysine, cathepsines, sérine protéase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (Botting et Botting, 2000).

**2.5. 8. Les lymphocytes :**

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

**2.5. 9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre:**

Elles jouent un rôle important au cours de l'inflammation (Wagner et Roth, 2000). L'état de jonction des cellules entre elles et avec la matrice extra-cellulaire contrôle le passage des liquides et des macromolécules de l'espace intra-vasculaire vers les tissus interstitiels. Cet état de jonction fait intervenir de nombreuses protéines trans-membranaires ou intra-cellulaires tels que connexines, cadhérines, protéines du cytosquelette, intégrines de surface (Janeway *et al.*, 2001). Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (Aggarwal et Shishodia, 2006).

## 2.6. Les médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (Rankin, 2004). Le déclenchement et la poursuite de l'inflammation, sa diffusion à partir du foyer inflammatoire font appel à des facteurs synthétisés localement ou qui sont présents à l'état de précurseur inactif dans la circulation sanguine. Le tableau 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation.

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

Médiateurs	Origine	Actions
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur activateur des plaquettes (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la broncho constriction, l'aggrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des EOR et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : -LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	Essentiellement par les leucocytes	Augmentent la perméabilité des micro-vaisseaux.

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

Médiateurs	Origine	Actions
-LTB4	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hagman (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	Présente dans le plasma, formé à partir du fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

## 2.7. Implications pathologiques de l'inflammation

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

**Tableau 2:** Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002)

Origine	Types de maladie
Désordres dans les quelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation.	Artériosclérose Arthrose Asthme Polyarthrite rhumatoïde Eczéma Maladie de Crohn (MC) Goutte Thyroïdite d'Hashimoto Maladie d'Alzheimer Lupus érythémateux disséminé
Maladies d'origine infectieux dans les quelles l'inflammation contribue dans la pathologie.	Hépatite C Tuberculose Tuberculose Dysenterie bactérienne
Maladies d'origines divers dans les quelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie.	Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique Fibrose pulmonaire idiopathique Bilharziose

## 2.8. Thérapeutiques de l'inflammation

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

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

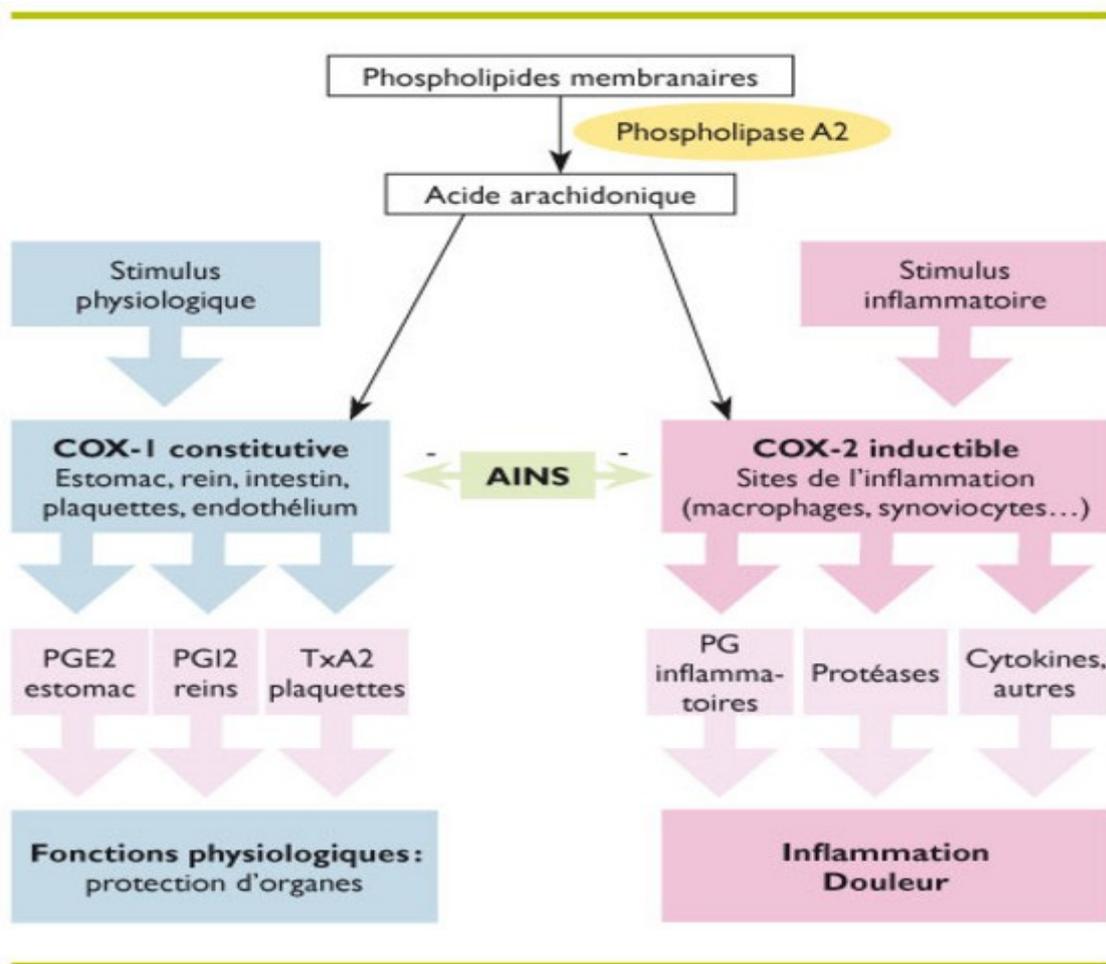
### I.8.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été utilisés avec succès pour le soulagement de la douleur, la fièvre et l'inflammation depuis plus de 3000 ans et ils sont toujours utilisés quotidiennement par des millions de patients à travers le monde. Ce sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique (tableau 3) mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygenase (Bidaut-Russel, 2001).

Cependant, leur utilisation thérapeutique à long cours est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale. Ces effets indésirables sont généralement liés à l'inhibition des isoenzymes cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2) par les AINS classiques. La COX-1 est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus, tandis que la COX-2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF $\alpha$  et l'interleukine1. L'apparition des AINS sélectifs du COX-2 appelé coxibs vient réduire les effets secondaires gastro-intestinaux, mais ils induisent un risque cardiovasculaire (Ouédraogo *et al.*, 2012). ( figure 4).

**Tableau 3:** Exemples d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. (Wallace et Staats, 2004).

Classe structurale	Nom scientifique	Nom commercial
Salicylates	Acétyle salicylique Diflusal	Aspirine® Dolobid®
Dérivés d'acide propénoïque	Ibuprofene Fenoprofene calcium Flurbiprofen Ketoprofen	Ibuprofene® Nalfon® Ansaid® Nalfon®
Dérivés d'acide acétique	Diclofenac	Voltarene®
Indoles	Indométacine Tolmetin Sulindac	Indocine® Tolectine® Clinoril®



**Figure 4:** Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens

(Hilda *et al.* ,2010)

### I.8.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (tableau 4). Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immune (Payne et Adcock., 2001).

Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces effets indésirables s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie. Divers troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aigus tel que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'euphorie avec insomnie allant jusqu'à une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastro-duodénaux. Des troubles chroniques peuvent aussi se manifester tel que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Henzen, 2003).

**Tableau 4:** Principaux glucocorticoïdes(GC) (Henzen, 2003).

Glucocorticoïde	Nom commercial
Cortisol (Hydrocortisone)	Hydrocortone®, Solu-Cortef®
Cortisone	Cortison CIBA®
Prednisone	Prednison Streuli®
Prednisolone	Spiricor®t, Ultracorten®
Methylprednisolone	Urbason®, Solu-Medrol®
Triamcinolone	Kenacort®, Ledercort®
Bétaméthasone	Celestene®, Diprostene®
Dexaméthasone	Fortecortin®, Decadron®



*PARTIE II*

***PLANTES  
MEDICINALES ET  
INFLAMMATION***

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction puis isolés des plantes. Ainsi de nombreuses formes galéniques peuvent être utilisées comme tisanes (infusées, décoctées, macérées), extraits, teintures, ou des huiles essentielles (Catier et Roux, 2007).

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

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

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

L'intérêt pour les plantes médicinales comme nouvelles sources de médicaments pour de nombreuses pathologies est en hausse continue grâce à leurs métabolites secondaires

### **1. Métabolites secondaires**

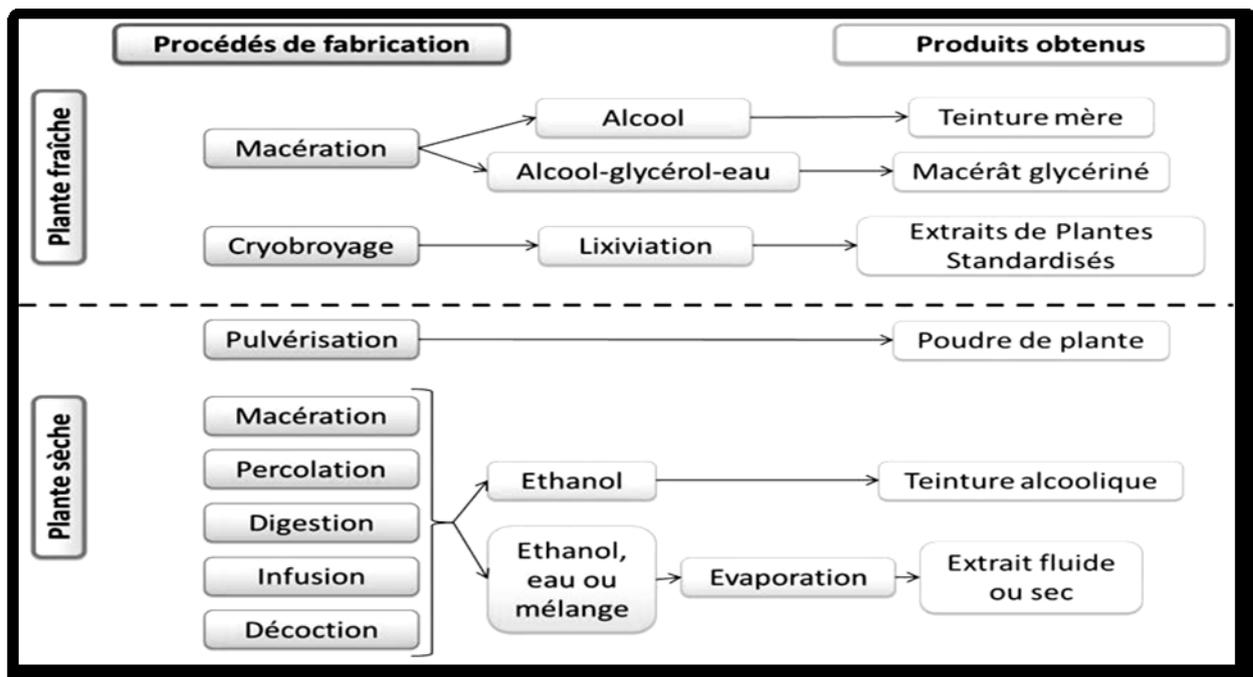
Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd *et al.*, 2002 ; Yarnell, 2007).

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

## 2. Formes galéniques des plantes médicinales

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

En fonction de l'effet thérapeutique recherché, l'usage traditionnel puis la recherche, ont mis au point des procédés de traitement des plantes qui permettent de ne garder que les molécules intéressantes. Les produits phytothérapeutiques sont élaborés à partir de plantes fraîches, de plantes sèches, ou d'extraits de plantes (Figure 5).



**Figure 5:** Procédés de transformation des plantes médicinales (Gibellin, 2003).

### 2.1. Extraits de plantes

Les extraits de plantes sont obtenus après macération des plantes médicinales dans une solution aqueuse et alcoolique permettant d'en extraire les molécules hydrophiles et lipophiles. La nature du solvant est choisie en fonction des propriétés physicochimiques de la plante et des composés à extraire. Par opposition aux tisanes, les extraits de plantes offrent une reproductibilité bien plus importante, et permettent d'obtenir une concentration en principes actifs adaptée et standardisée (Fougère et Wynn, 2007).

## 2.2. Gélules et comprimés

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

## 2.3. Extraits hydroalcooliques

Les extraits hydroalcooliques, aussi appelés teintures, sont obtenues par extraction des composés actifs suite à la macération des plantes médicinales dans de l'alcool éthylique à différents degrés. Des plantes fraîches ou sèches peuvent être utilisées, le macérât obtenu est alors respectivement qualifié de « teinture mère » ou de « teinture alcoolique » (Figure 6b). Les extraits hydroalcooliques présentent de nombreux avantages : une grande stabilité, une durée de conservation quasiment illimitée grâce à leur teneur en alcool, une forte concentration en principes actifs, une absorption gastro-intestinale rapide, une excellente biodisponibilité des principes actifs, et une facilité d'administration (Fougère et Wynn, 2007; Labre, 2012).

## 3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

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

- ***Curcuma longa*** (curcuma) contient un pigment jaune appelé curcumine, un polyphénol qui inhibe la production de la prostaglandine E2 et l'expression de la cyclooxygénase 2 (Madden *et al.*, 2009). Le curcumine inhibe aussi l'expression des gènes de L'IL-6 et de L'IL-8 et diminue de manière dose dépendante la production de monoxyde d'azote (NO) et l'expression de l'enzyme NO Synthase (NOS) inductible (Jurenka, 2009). Le curcumine inhibe également le facteur nucléaire kappa-B (Aggarwal et Sung, 2008).
- ***Zingiber officinale*** (gingembre) contient un grand nombre de constituants; gingerol, betacarotene capsaïcine, acide caféique et curcumine, dont l'activité anti-inflammatoire est bien évidente. Les extraits du rhizome du gingembre sont de puissants inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes, comme ils inhibent la production du TNF- $\alpha$  en agissant sur l'expression des gènes (Setty et Sigal, 2005).

- *Baccharis trimera* (Guayapi Tropical), une plante médicinale utilisée pour le traitement du rhumatisme. Elle contient un diterpénoïde qui montre une inhibition importante de la phospholipase A2 (Januário *et al.*, 2004).
- *Arnica montana* (Arnica) est également très utilisée pour le traitement des œdèmes et des meurtrissures. Son effet anti-inflammatoire revient à ces sesquiterpènes lactones tel que le helenaline et le dihydrohelenaline qui inhibent l'activation du facteur de transcription du Facteur nucléaire kappa-B, impliqué dans la transcription de médiateurs pro-inflammatoires (Wiert, 2006).
- *Harpagophytum procumbens* est une plante issue de la médecine traditionnelle africaine. Son activité anti-inflammatoire a été largement investiguée *in vivo* et *in vitro*. Cette plante réduit significativement l'œdème de la patte induit par le carragénine (Catelan *et al.*, 2006). Elle inhibe la synthèse des eicosanoïdes, comme elle inhibe la production du TNF- $\alpha$  par les monocytes humains. Elle réduit également la production de la myéloperoxydase par les neutrophiles et bloque la synthèse de la prostaglandine E2 (Setty et Sigal, 2005).

De plus, d'autres exemples sont cités dans le tableau 5 :

**Tableau 5 :** Exemples de plantes médicinales anti-inflammatoires (Erdemoglu *et al.*, 2003 ; Setty et Sigal, 2005; Goetz, 2011).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Helleborus orientalis L.</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	oedèmes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	rhinite allergique, eczéma, goutte, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	douleurs, maux de tête
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	oedèmes, états grippaux, mal de dents
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	douleurs rhumatismales,

*PARTIE III*

*ARTEMISIA*

*CHAPITRE I :*

*Artemisia absinthium L*

### 1. Introduction

La famille des Astéracées représente l'une des taxons les plus importants du règne végétale. Elles sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales ou astérides (Asteridae) et à l'ordre des Astérales. La famille des astéracées avec près de 1500 genres et pas loin de 26000 espèces. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées et à l'exception des pôles. Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes (Barkely *et al.*, 2006).

Le nom " Artemisia " est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie imbuvable à cause du goût très amer de la centrale (Yildiz *et al.*, 2011).

Les plantes du genre Artemisia (Asteraceae) sont une riche source de sesquiterpène bioactif lactones et ont une longue histoire de lutte contre plusieurs pathologies chez les humains et, plus récemment, chez les animaux (Jorge *et al.*, 2011)

*L'Artemisia Absinthium* fait partie de cette famille des Astéracées, cette plante est l'une des espèces qui sont largement utilisées en médecine. Connu sous le nom verniculaire de Chajret mariem ou Chiba (en arabe), et la grande absinthe ou l'armoise amère (Rezaeinodehi *et al.*, 2008).

*Artemisia absinthium*, mieux connu comme le principal ingrédient dans la tristement célèbre Boisson Absinthe, a été utilisé en médecine depuis l'époque de Grèce antique, et aussi dans les systèmes d'Europe occidentale de la médecine traditionnelle (Juteau *et al.*, (2003)

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyenne-orient et d'Afrique du Nord, est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

Au Maroc, elle représentée par 19 espèces dont les plus importantes sont : *Artemisia alba* subsp. *Chitachensis*, *A. atlantica* var. *marocaana*, *A. flachauti*, *A. mesatlantica*, *A. negrie*, *A. ifranensis*, *A. herba –alba*, *A. arborens* et *A. absinthium* (Zaim *et al.*, 2012).

*Artemisia herba-alba* Asso, connu aussi comme l'absinthe du désert (connu en arabe comme shih, Armoise blanche (Fr.)) (Seggal *et al.*, (1987), a été utilisé dans la médecine traditionnelle par de nombreuses cultures depuis les temps anciens.

## 2. Présentation de la plante :

### 2.1. Systématique de la plante :

L'Absinthe est classée dans le Royaume: Plantae, Sous-règne: Tracheobionta, Superdivision: Spermatophyta, Division: Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida, Sous-classe: Asteridae, Ordre: Asterales, Famille: Asteraceae, Sous-famille: Asteroideae, la tribu: Anthemideae, Sous-tribu: Artemisiinae, Genre: *Artemisia*

### 2.2. Description botanique de la plante

#### ➤ Caractéristiques morphologiques :

*L'Artemisia Absinthium* est une plante aromatique, vivace, herbacée qui mesure entre 0.50 et 1 mètre, très ramifiée dont les feuilles sont très divisées, ovées, gris-verdâtre au-dessus, blanche dessous, soyeuse, pétiolées et profondément découpées en lanières obtuses. Les feuilles inférieures sont tripennatiséquées, les supérieures sont moins divisées. Les tiges, vert argenté, duveteuses, dressées et cannelées portent des fleurs jaunes, en petits capitules globuleux, groupés en panicules feuillés. Le fruit est un akène lisse, couronné par une cupule membraneuse très courte. La plante possède un rhizome dur. Elle possède une forte odeur (essence d'Absinthe) et une saveur amère due à l'absinthine (Figure 6).



**Figure 6 :** *Artemisia absinthium L*

Shultz LM. 2006

### 2.3. Distribution géographique et habitat

L'*Artemisia Absinthium* est une plante originaire des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord (Sharopov *et al.*, 2012). On la trouve aussi sur la côte Est des États-Unis (Iserin, 2001). Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs.

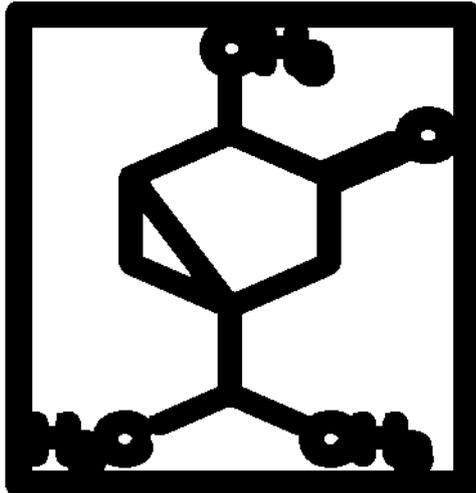
### 2.4. Composition chimique de l'*Artemisia absinthium* L :

L'espèce *Artemisia absinthium* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires tels que l'huile essentielle. Elle est connue pour contenir des thuyones :  $\alpha$  et  $\beta$ -thuyones. Il existe aussi de nombreux chémotypes : chémotype à Z-époxy- $\alpha$ -ocimène (26-47%), à acétate de sabinyle ou à acétate de chrysanthémyle. On note aussi la présence de polyines (Bruneton, 2009), de flavonoïdes (Canadanovic, 2005), de coumarines, de lignanes, de polyphénols et de lactones sesquiterpéniques en quantité notable (absinthine, artabsine, matricine et artemisinine (Wright, 2002; Aberham *et al.*, 2010).

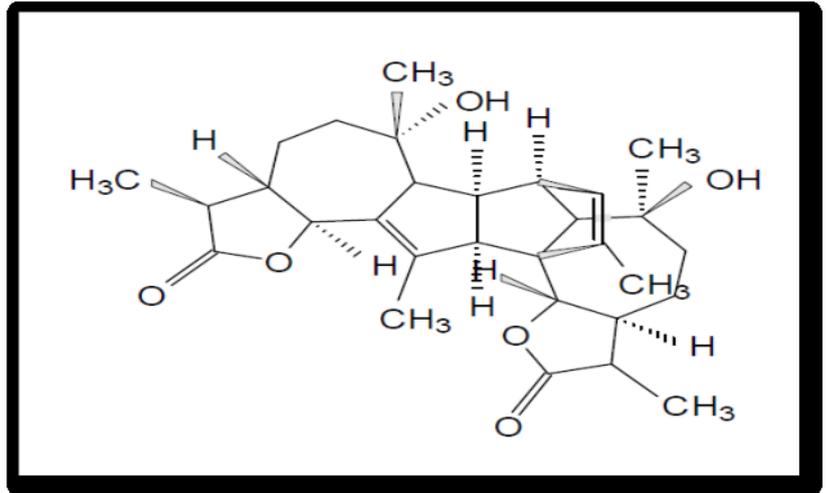
Des études phytochimique réalisées sur l'extrait d'*Artemisia Absinthium* ont révélé la présence de  $\alpha$ -thujène,  $\alpha$ -pinène, camphène, p-cymène, le 1,8-cinéole, heptenone méthyle,  $\beta$ -phelandrene, caryophyllèneoxide,  $\alpha$ -terpinéol, thujyl alcool, le géraniol, thujyl l'acétate, le caryophyllène,  $\alpha$ -himachalène,  $\alpha$ -cadinène et elemol (Lopes *et al.*, 2008).

D'autre part, certaines études rapportent qu'en plus de l'artémisinine, le genre *Artemisia* est une riche source d'autres lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes. (Jill *et al.*, 2011)

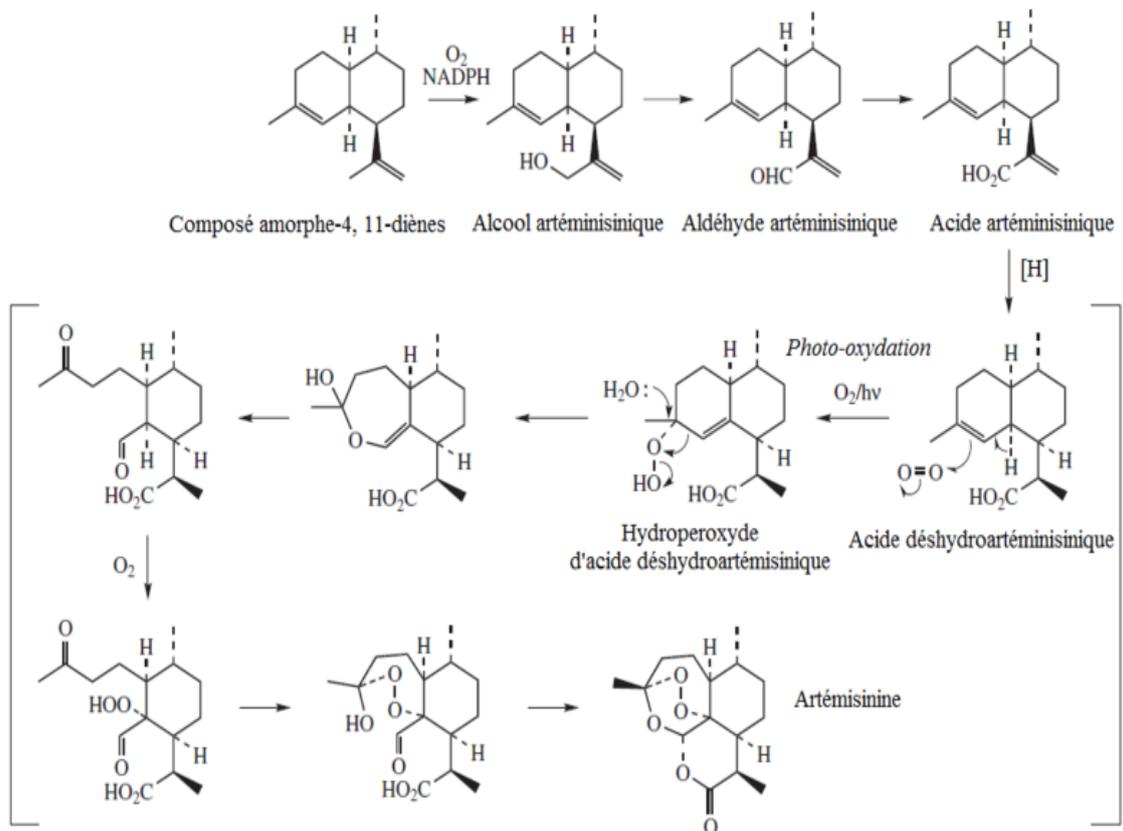
En outre, les travaux de Yiannis *et al.*, (2011), ont démontré que les extraits aqueux d'*A. absinthium* sont riches en caféoyl et dicaféoylquinique.



**Figure 7 :** Structure chimiques de la thuyone (Catier *et al.*, 2007)



**Figure 8 :** Structure chimiques de l'absinthine (Catier *et al.*, 2007)



**Figure 9 :** Biosynthèse de l'Artémisinine (Newton *et al.*, 2006)

### 3. Utilisation thérapeutique de la plante :

La plante est réputée depuis des temps indéterminés pour ses propriétés médicinales. Elle est citée comme stimulant dans un papyrus égyptien (vers 3550 avant J-C). Les grecs et les romains l'utilisaient pour combattre les troubles de la ménopause, mais également comme vermifuge et fébrifuge (Padosch *et al.*, 2006). Les médecins de l'antiquité en faisaient une panacée. C'est un apéritif fort ancien dont la consommation. Toute la médecine populaire attribue à la plante des propriétés apéritives, vermifuges, stomachiques (Tariku *et al.*, 2011; Chiasson *et al.*, 2001).

D'autres parts, l'absinthe est utilisée depuis l'antiquité pour le traitement des troubles digestifs. Les parties actives de la plante sont toutes très amères. On les emploie en traitement interne soit pures, soit en mélanges, pour stimuler l'appétit, la sécrétion du suc digestif et de la bile, contre les coliques intestinales ainsi que contre les parasites intestinaux (Iserin, 2001). Elle peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hypokaliémie.

En plus l'absinthe possède plusieurs propriétés (Iserin, 2001):

- **Vermifuge:** Permet d'éradiquer les parasites intestinaux ou vers.
- **Stomachique :** Facilite la digestion des aliments au niveau de l'estomac.
- **Emménagogue:** Stimulent le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus.
- **Cholagogue:** Facilite l'évacuation de la bile.
- **Fébrifuge :** Fait baisser la fièvre.
- **Antiseptique :** Tue ou prévient la croissance de bactéries et des virus sur les surfaces externes du corps.
- **Diurétique:** Entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

Par ailleurs, de multiples travaux scientifiques font part d'*Artemisia Absinthium*, en effet, Cazin *et al.* (1876) et Fournier *et al.*, (1947), ont montré ses effets Vermifuge, antiseptique, insectifuge, antimalarique, apéritive, eupeptique, diurétique, vulnéraire, cholérétique.

De plus, d'autres travaux ont souligné ses activités Antipyrétique, Antitumorale, Contraceptive et Hépatoprotectrice (Khattak *et al.*, (1985) ; Chemesova *et al.*, (1987) et Rao *et al.*, 1988).

De même, cette plante est connue pour ses effets Antimicrobienne Antifongique Antimalarique Insecticide ou Insectifuge (Kaul *et al.*, (1976) ; Kaul *et al.*, (1978) ; Hernández *et al.*, (1990), Kalemba *et al.*, (1993) et José *et al.*, (2007).

En Inde (au Cachemire), *Artemisia absinthium* connue sous le nom de "Thethwen" est utilisée dans la médecine indigène comme vermifuge, insecticide, antispasmodique, antiseptique, et dans le traitement de la fièvre et de l'inflammation chronique du foie (Koul, 1997). Son huile essentielle a une activité antimicrobienne (Juteau *et al.*, 2003) et antifongique (Saban *et al.*, 2005). L'analyse chimique des extraits a montré que son huile volatile est riche en thuyone, qui a été signalé comme vermifuge (Meschler *et al.*, 1999).

Dans la médecine traditionnelle turque, *Artemisia absinthium* a été utilisée comme antipyrétique, antiseptique, anthelminthique, tonique, diurétique, et pour le traitement des maux de ventre (Baytop, 1984).

Sur un autre plan, *A. annua*, la seule source commerciale de l'artémisinine, a été utilisée pour des siècles comme thé traditionnel en Chine pour traiter le paludisme et d'autres maladies, et ses dérivés semi-synthétiques l'artéméther et l'artésunate sont le traitement de première ligne actuel contre la résistance des médicaments contre le paludisme (Ferreira, 2009). Outre ses propriétés antipaludiques, l'artémisinine possède également une activité trématocidal.

Récemment, l'artémisinine de l'extraits éthanolique (70%) d'*A. annua* ont été rapportés à tuer et à déloger les trématodes monogènes *Dactylogyrus* et *Gyrodactylus* infectant les poissons-chat (Ekanem et Brisibe, 2010). Le mode d'action de l'artémisinine comme médicament antipaludique implique une réaction du groupe de peroxyde d'artémisinine avec le fer hémique générée par la dégradation de l'hémoglobine du parasite, ce qui entraîne la libération des radicaux libres à l'intérieur des cellules du parasite (O'Neill *et al.* 2010). Une étude récente indique que *A. annua* aussi contient plus de 40 flavonoïdes, dont certaines pourraient potentialiser l'artémisinine en inhibant les enzymes du CYP450 qui dégradent artémisinine (Ferreira *et al.*, 2010). En outre, les travaux de Kerboeuf *et al.* (2008), ont souligné les effets directs de flavonoïdes (par exemple, la génistéine, la catéchine, la gallocatéchine, etc.) sur les trématodes.

D'autres part, *Artemisia absinthium* a également été utilisée dans médecine populaire comme vermifuge, mais ce ne est que récemment qu'il a été utilisé comme anthelminthique à usage vétérinaire (Tariq *et al.*, 2008).

L'artémisinine n'est pas le seul composé médicamenteux dans les espèces *d'Artemisia*. Le genre est une riche source d'autres lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes qui pourraient également avoir activité anthelminthique avec un faible risque de toxicité pour les mammifères (Kerboeuf *et al.*, 2008). Certains extraits de quelques espèces d'*Artemisia* ont montré une activité contre *H. contortus* chez les chèvres (Idris *et al.*, 1982).

Des extraits aqueux et éthanoliques de tiges et feuilles d' *A. absinthium* ont également été évalués pour l'activité vermifuge *in vitro* et *in vivo* (Tariq *et al.*, 2008). Toutefois, dans une autre étude (Worku *et al.*, 2009), l'extrait aqueux d'*A. absinthium* n'a pas montré une activité contre les nématodes gastro-intestinaux chez les chèvres. Cependant, les extraits d'*A. absinthium* et d'*A. vulgaris* ont réduit le nombre des larves de *Trichinella spiralis* dans le muscle de rat (Canèr *et al.*, 2008).

En outre les extraits aqueux de *A. absinthium* sont riches en acides caféoyl et dicaféoylquinique, qui sont connus pour inhiber l'intégrase du VIH-1 à partir de l'intégration de l'ADN viral réversible transcrit en cellule hôte ADN (Reinke *et al.*, 2002).

En effet, ces composants sont hépatoprotecteur, anti-histaminique, hypocholestérolémique, anti-spasmodique et, éventuellement, antimicrobienne (Hishamoto *et al.*, 2003).

Ils démontrent également une activité antioxydante élevée en raison de leurs groupes o-quinone. Les acides cafféoylquiniques pourrait inhiber les dommages oxydatifs à la fois à lipoprotéines de basse densité (Azuma *et al.*, 1999) et l'acide linoléinique (Ohnishi *et al.*, 1994), en piégeant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en lien avec le cancer et les maladies cardiovasculaires. Il a été rapporté que l'acide chlorogénique (acide 5-O-caféylquinique) a des effets inhibiteurs sur la carcinogénèse dans le gros intestin, le foie, et la langue, et présente des effets protecteurs sur le stress oxydatif *in vivo* (Tsuchiya *et al.*, 1996).

*PARTIE III*

*ARTEMISIA*

*CHAPITRE II :*

*Artemisia herba alba*

*Asso*

## 1. Présentation de la plante

### 1.1. Systématique de la plante

L'Armoise blanche est classée dans le Royaume: Plantae, Sous-règne: Tracheobionta, Superdivision: Spermatophyta, Division: Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida, Sous-classe: Asteridae, Ordre: Asterales, Famille: Asteraceae, Sous-famille: Asteroideae, la tribu: Anthemideae, Sous-tribu: Artemisiinae, Genre: *Artemisia*.

### 1.2. Description botanique de la plante

L'armoïse blanche est une plante des climats arides et semi-arides qui pousse dans les hautes plaines steppiques, les déserts du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. C'est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long. Les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes (Nawwar *et al.*, 1989) (Figure 10).

### 1.3. Caractéristiques morphologiques de la plante

L'*Artemisia herba-alba* est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau. Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'*Artemisia herba-alba* est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies. Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière. La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'*Artemisia herba-alba* présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Matteucci, 2008).



**Figure 10 :** *Artemisia herba alba*

(Zaim *et al.*, 2012).

#### I.4. Distribution géographique

Le genre *A. herba-alba* est un arbuste nain médicinal et aromatique sauvage qui pousse dans les zones arides du Bassin méditerranéen, il s'étend dans l'Himalaya nord-ouest. Cette plante est abondante dans la péninsule ibérique et atteint une plus grande population dans le centre de l'Espagne qui s'étend sur l'est, le sud et le sud de l'Espagne. Ce taxon pousse de manière sauvage sur des substrats nitrofiles (Figure 11) (Salido *et al.*, 2004 ; Dunn *et al.*, 1996)



**Figure 11** : Distribution géographique *Artemisia herba alba* (Mohamed *et al.*, 2010)

## 2. Composition chimique

Au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de  $\beta$ -carotène varie entre 1,3 et 7 mg/kg selon les saisons. La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS). Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles.

Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques.

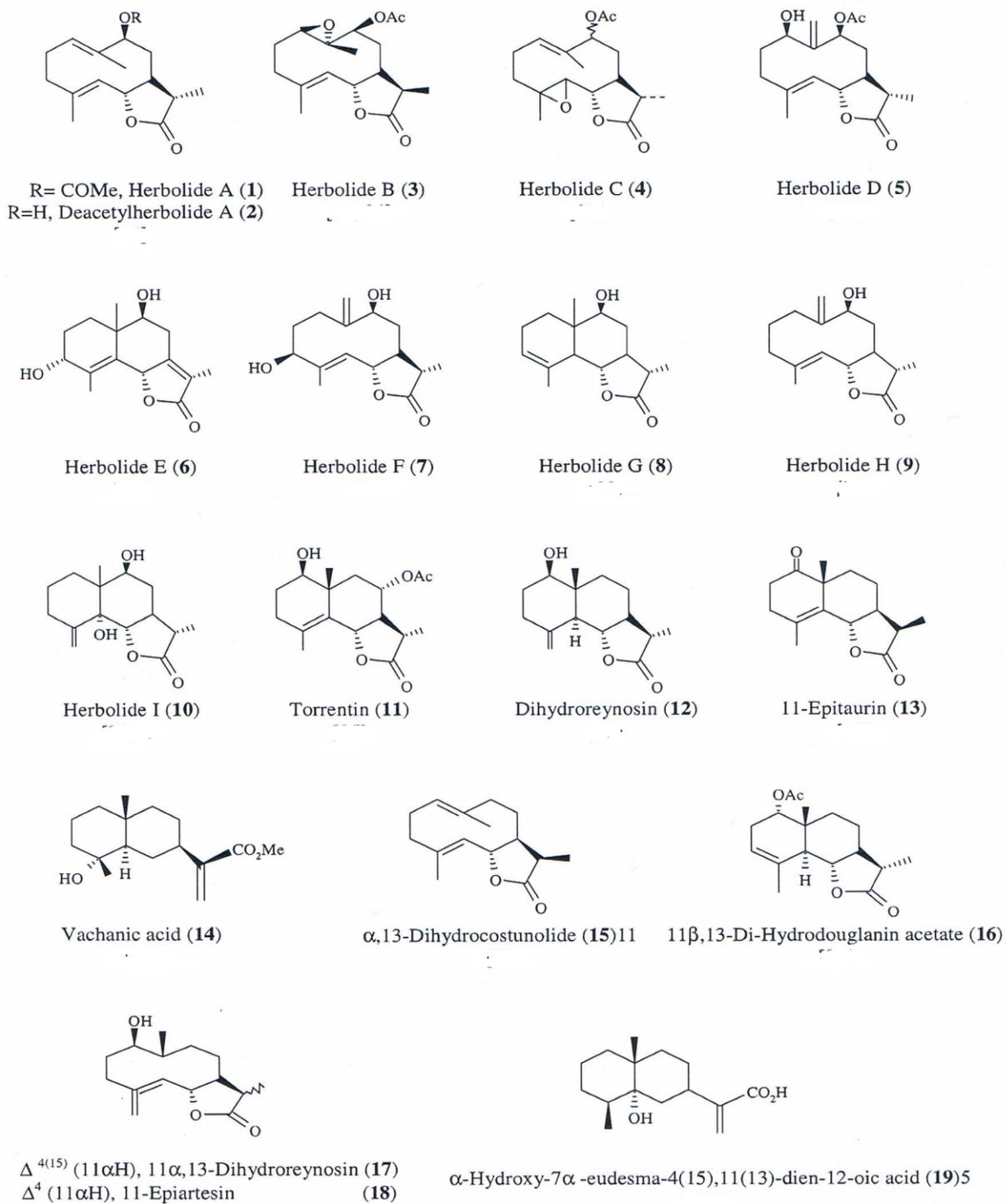
- **Les Sesquiterpène lactones**

Plusieurs types de sesquiterpènes lactones ont été trouvés dans les parties aériennes de l'*Artemisia herba alba Asso*. Les Eudesmanolides suivie par germacranolides semblent les types les plus abondants dans cette espèce.

Peu de travaux ont étudié le produit chimique constitutif des espèces marocaines et algériennes d'*A. herba-alba*, ces travaux ont prouvé que ce genre est riche en sesquiterpènes (Marco *et al* (1994) ; Boriky *et al* (1996) (Figure 12).

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés de l'*Artemisia herba alba*, peut-être les plus importants sont les sesquiterpènes lactones.

En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimiques a porté sur la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba Asso*.



**Figure 12 :** Les Sesquiterpène lactones d'*Artemisia herba alba* (Mohamed *et al.*, 2010)

- **Les flavonoïdes :**

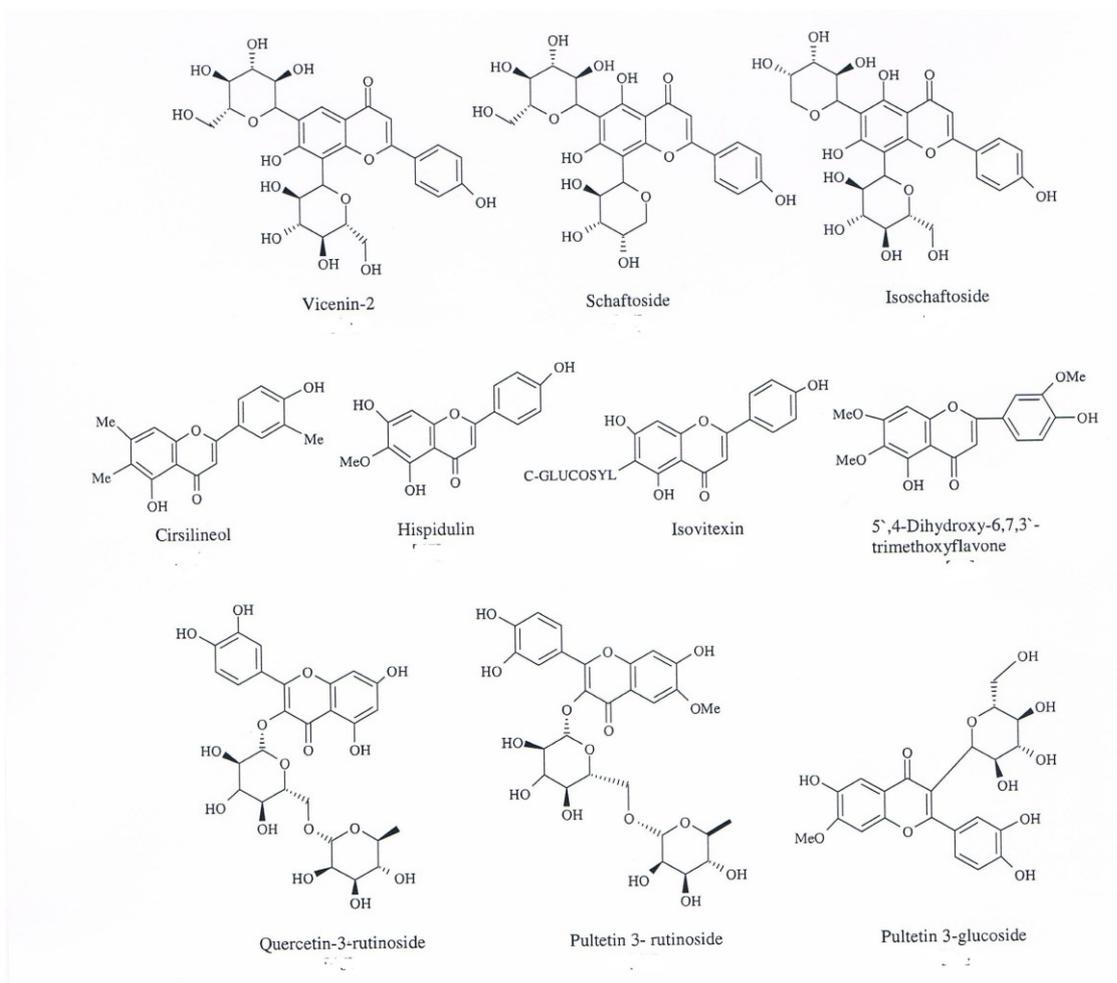
D'autres études ont été portées sur les flavonoïdes et l'huile essentielle, parmi les composants les plus importants des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso on trouve les monoterpènes tels que le 1,8-cineole et le terpène 4 ol, des santonines, des coumarines, des triterpènes pentacycliques et les tanins (Gharabi *et al.*, 2008).

Les flavonoïdes détectés dans *A. herba-alba* montrent une grande variation structurale, allant de la plus commune des glycosides de flavones et de flavonols aux plus insolites flavonoïdes hautement méthylés. Dans les études sur la vapeur des feuilles d'*A. herba-alba* recueillies du Sinaï, un total de huit flavonoïdes O- et C-glycosides ont été isolés et identifiés (Saleh *et al.*, 1985, 1987). L'examen des parties aériennes d' *A. herba-alba* recueillies auprès des magasins de fines herbes du Liban, ont conduit à l'isolement des deux flavonoïdes; hispiduline et cirsilineol (Mohamed *et al.*, 2010) (Figure 13). Une nouvelle flavone, 5,4'- dihydroxy-6,7,3 ' 6,7,3'triméthoxyflavone, a été isolé à partir de l'extrait non glycosidique des parties aériennes de *A. herba -alba* (Mohamed *et al.*, 2010).

- **Les composés phénoliques et les cires**

L'acide chlorogénique a été observée chez *A. herba-alba*, quand une enquête chimique de 49 espèces de plantes médicinales a été effectuée par spectroscopie. Lors d'une étude des principes antiulcérogènes d'*A. herba-alba*, huit composés polyphénoliques et les constituants connexes ont été isolés. Ces acides chlorogéniques inclus, 4,5-O-acide dicaféoylquinique, isofraxidin 7-O-D-glucopyranoside, le 4-O-D-glucopyranosylcaféic acide, rutine, schaftoside, isoschaftoside, et vicenin-2. Dans une étude sur les composantes de *A. herba-alba* cire, obtenu avec un rendement de 0,23 % par extraction de la plante sèche avec de l'éther, 32,1 % contenue saturés en C16- 32 acides (35,2% C28 et C30 26,5%), 23,2% de graisses saturées. C21- 31 hydrocarbures (67,7% C29 et C31 24,2%), 27,1% esters (principalement d'hydrocarbures saturés C18, C19, C20 et des acides et alcools saturés C22 et C24), et 16,96% des alcools saturés en C16- 26.

Les flavonoïdes détectés dans l'*Artemisia herba alba* montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'à les flavonoïdes méthylés qui sont très rares. Les flavonoïdes glycosides comprennent des O-glycosides tels que quercitrine-3-glucoside, mais aussi des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des *Asteraceae*.



**Figure 13 :** Les flavonoïdes de l'*Artemisia herba alba*  
(Mohamed *et al.*, 2010)

- **Les huiles essentielles :**

Au cours des dernières décennies, l'huile de l'Armoise blanche; appelé huile scheih (Lawrence 1994), a été soigneusement étudiée et la diversité dans la composition de l'huile à partir de plantes cultivées dans les différents pays et même ceux de différentes localités dans le même pays ont conduit à de nombreux chémotypes dépendant du pétrole affectés à la plantes (Lawrence, 1989). Généralement, l'huile a été largement rapporté à contenir des composés de monoterpénoïdes, principalement oxygéné, telle que le 1,8-cinéole, chrysanthénone, chrysanthénol (et son acétate),  $\alpha\beta$  -thujones, et le camphre comme principales composantes (Lawrence (1981) ; Lemberg (1982)).

En outre, l'armoise cétone a été signalée comme le principe d'une composante Chémotype égyptienne (El-sayed et Seida, (1990)), tandis qu'un type français a été trouvé à prédominer dans 1,8-cinéole, le camphre et chrysanthénone (Hurabielle *et al.*, 1981).

En Jordanie, les monoterpènes réguliers étaient prédominantes (39,3%) et les composants principaux étaient  $-\alpha$  et  $-\beta$ thujones (27,7%). Les autres principaux composants identifiés sont: l'acétate de sabinyl (5,4%), germacrène D (4,6%),  $\alpha$ -eudesmol (4,2%) et de l'acétate caryophyllène (5,7%) (Hudaib et Aburjai, (2006))

Au Maroc, l'huile est généralement caractérisée par des niveaux substantiels de cétones telles que  $-\alpha$  et  $\beta$ -thuyone et camphre (Mohamed *et al.*, 2010), tandis que le davanone et / ou l'acétate de chrysanthénol étaient les composants les plus important de l'huile dans d'autres chémotypes. Dans le leader du marché des exportations d'huiles essentielles d'A. herba-alba, 16 chémotypes ont été trouvés, avec 12 ayant des monoterpènes comme principaux composants et pour quatre le squelette de sesquiterpène représentent la majeure partie de l'huile, les enquêtes n'ont signalé aucune corrélations entre les chémotypes et la répartition géographique (Mohamed *et al.*, 2010).

Par ailleurs, des études réalisées en Espagne ont montré que les hydrocarbures monoterpéniques et les monoterpènes oxygénés sont les squelettes les plus abondantes dans l'huile d'A. herba-alba, mais de grandes quantités de sesquiterpènes ont été trouvés pour certains populations. Le Camphre, 1,8-cinéole, p-cymène et davanone ont été les principaux éléments trouvés (Feurstein *et al.*, (1988).

Une autre étude en Espagne a montré que l'affinité entre les populations chimiotaxonomique espagnols et israéliens de la même plante n'était pas reflétée dans leurs compositions d'huile. Le pétrolier espagnol contenait de grandes quantités de sesquiterpènes mais manquaient de quantités significatives de dérivés thujane. Cependant, une enquête plus récente de l'Espagne

a montré que la davanone sesquiterpénique était le principal composant de l'huile, qui était aussi dominé par le p-menthane et des squelettes pinane (Mohamed *et al.*, 2010).

Dans l'huile tunisienne les monoterpènes oxygénés sont révélés être les principaux composants de l'huile *A. herba-alba* des extraits des parties aériennes de plantes qui provenaient de régions arides (Akrou, 2004 ; Neffati *et al.*, 2008). Dans une autre étude en Tunisie les principales composants de l'huile d'*Artemisia herba-alba*, étaient le cinéole, le thuyone, le chrysanthone, le camphre, le bornéol, l'acétate de chrysanthényl, l'acétate de sabinyl, l'éthers de davana et davanone. Les Monoterpènes et les sesquiterpènes sont trouvés dans certains échantillons comme principaux composants. De plus, La composition chimique a révélé que certains échantillons ont des compositions similaires à celles d'autres huiles essentielles *Artemisia herba-alba* analysé dans d'autres pays (Haouari et Ferchichi, 2009).

Dans l'huile algérienne, le camphre,  $\alpha$ - $\beta$  -thujones, le 1,8-cinéole et les dérivés de chrysanthényl étaient les principaux composants (Vernin et Parkanyi (2001) ; Vernin *et al.*, (1994) et Vernin et Merad (1995)). Dans une autre étude, le camphène (3%), le bornéol (3,6%), l'éther davana (8,8%), davanone (36,1%) étaient les principaux composants (Dahmani et Baaliouaer, 2005) ; (Salidou *et al.*, 2001).

De plus, L'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes de *A. herba alba* à l'état sauvage dans la région de M'sila-Algérie, est principalement composée par le camphre (19,4%), le trans-pinocarveol (16,9%), le chrysanthone (15,8%).

Les Monoterpénoïdes (86,1%) et les monoterpènes irrégulières (3,1%) étant les principaux composants (Dop et Benabdelkader, 2006). D'autre part, d'autres composants ont déjà été détectés dans d'autres huiles d'*A herba-alba*, tels que (Z) -jasmone, xanthoxylin (Lawrence (1993 ; 1995).

Une étude de *A. herba-alba* en Cyrénaïque (Libye) avait signalé que l'herbe séché contenait 0,29% d'une huile essentielle contenant 6,7% de cinéole (Mohamed *et al.*, 2010).

### 3. Utilisation thérapeutique de la plante

L'*Artemisia herba alba Asso* est très utilisé au Moyen-Orient et en l'Afrique du nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinales (Yashphe *et al.*, 1987). Dans une étude visant à révéler les raisons de l'utilisation de cette plantes, l'extrait de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba Asso* a été testé contre différentes bactéries qui causeraient des troubles intestinaux, ainsi que sur des lapins afin de déterminer l'activité antispasmodique de cet extrait. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba Asso* a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que l'*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et la *Salmonelle typhose*. Cette activité a été assimilée à linalool, pinocarveneol et surtout terpène 4-ol. L'effet antispasmodique de l'huiles essentielle d'*Artemisia herba alba Asso* a été expérimentalement 100 - 1000 fois plus élevé que l'effet antibactérien observé (Yashphe *et al.*, 1987).

- **Effet hypoglycémiant :**

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba Asso* dans le traitement du diabète sucré (Twaij et Al-Badr, 1988 ; Al-Shamaony *et al.*, 1994, Marrif *et al.*, 1995 ). Plusieurs auteurs ont rapportés sur l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* (0.39 g/kg de poids corporel) sur des lapins, des rats et des souris rendus diabétiques par l'alloxan monohydrate. Les composés responsables de cet effet hypoglycémiant restent cependant à élucider.

En plus du diabète, l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* est utilisé traditionnellement en Jordanie comme un antidote contre les venins de plusieurs types de serpents et de scorpions (Twaij et Al-Badr, 1988), et en Afrique du nord pour soigner la bronchite, l'abcès, les diarrhées, et comme vermifuge.

- **Capacité antioxydante :**

Beaucoup de plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants qui pourrait être isolé et utilisé comme anti-oxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés aux radicaux libres. Dans une étude réalisée par Djeridane (Djeridane *et al.* 2006), l'objectif était l'évaluation par un procédé chimique de la capacité antioxydante des composés phénoliques dans certaines plantes médicinales algériens, y compris *A. herba-alba*. Ces plantes médicinales ont montré une forte activité antioxydante et une teneur en composés phénoliques plus importante que les plantes alimentaires courantes. Il a été également noté dans cette étude que ces plantes algériens sont de forts piègeurs de radicaux et peuvent être

considérés comme une bonne source d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciale (Djeridane *et al.* 2006).

Dans une autre étude, 21 échantillons de plantes ont été collectés à partir de différents endroits en Jordanie et utilisés pour l'évaluation antioxydante. Le niveau d'activité antioxydante, déterminée par DPPH et ABTS, a montré que l'Armoise blanche a une activité antioxydante modérée par rapport à d'autres plantes (Al Mustafa et Al Thunibat, 2008).

De plus, les travaux de Abid ont comparé les effets à long terme de la décoction de l'Armoise blanche avec celle d'un thé vert ou noir, préparé sans sucre, sur les processus antioxydants chez des rats. La conclusion de cette étude a montré qu'*Artemisia*, ainsi que des décoctions de thé vert, ont augmenté le statut antioxydant total du sang total, l'activité de la glutathion peroxydase et les statuts du zinc et du cuivre, et prévenaient les gains de poids et augmentaient le glucose plasmatique, les lipides et le statut de fer. Les effets antioxydants bénéfiques étaient en ordre décroissant: la décoction d'*Artemisia*  $\geq$  la décoction du thé vert > la décoction du thé noir. Donc, *Artemisia* pourrait constituer un bon adjuvant pour combattre l'obésité, l'hyperglycémie, hypertriglycéridémie, hypercholestérolémie et en particulier le stress oxydatif (Abid *et al.*, 2007).

D'autre part, les effets de sept plantes médicinales y compris l'Armoise blanche sur la dégradation des protéines, la peroxydation des lipides, la déformabilité érythrocytaire et la fragilité osmotique des érythrocytes exposés *in vitro* à 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 60 min à 37 ° C ont été examinés. Le résultat fut que Armoise blanche ne protège pas les érythrocytes contre la peroxydation lipidique (Suboh *et al.*, 2004).

- **Effet antivenimeux :**

Des extraits aqueux de 12 plantes médicinales traditionnellement utilisées en Jordanie pour l'inhibition de venins de serpent et de scorpion chez l'homme ont été évalués pour leur éventuelle activité anti-venin. Parmi les plantes testées, l'extrait de plante le plus actif était celui de l'Armoise blanche, qui a donné 100% d'inhibition (Sallal et Alkofahi, 1996)

- **Activité antifongique :**

L'activité antifongique de l'Armoise blanche a été trouvée à être associée à deux grands composés volatiles isolés à partir des feuilles fraîches de la plante, le carvone et le pipéritone, ces composés ont été isolés et identifiés par GC / MS, GC / IR et spectroscopie RMN. L'activité antifongique a été mesurée contre *Penicillium citrinum* (ATCC 10499) et *rouxii Mucora* (ATCC 24905). L'activité antifongique (IC<sub>50</sub>) des composés purifiés du carvone et du

pipéritone a été estimée à 5 ug / ml et 2 ug / ml contre *Penicillium citrinum*, et 7 pg / ml et 1,5 ug / ml contre *Mucora rouxii*, respectivement (Saleh *et al.*, 2006).

Dans une autre étude, l'activité antifongique de l'huile essentielle de 25 plantes médicinales marocaines, y compris *A. herba-alba*, contre *Penicillium digitatum*, *Phytophthora citrophthora*, *Geotrichum citri-aurantii* et *Potrytis cinerea*, a été évaluée. L'huile essentielle d'*A. herba-alba* ont montré une faible activité antifongique à la dose de 250 pg / ml de (Bouchera *et al.*, 2003). De plus, En outre, l'effet des huiles essentielles d'*A. herba-alba*, *Eucalyptus* et *Rosmarinus* a été évaluée sur la croissance du mycélium et des toxigénèse de *Penicillium aurantiogriseum* et *P. vindication*. Une diminution significative du poids sec de mycélium a été obtenu avec l'addition de 0,05 à 2,5% de chacun des trois huiles essentielles en extrait de levure du bouillon de saccharose. L'inhibition de la croissance du mycélium a été testée sur l'extrait agar de malt, la levure Czapeck gélose, l'extrait agar de levure saccharose et le bouillon à pH constant, et a été très efficace pour *A. herba-alba*, suivie d'*Eucalyptus*.

Une inhibition totale de la production de toxine a été observée avec 0,44% de chaque huile essentielle pour *P.aurantiogriseum* et 0,22% pour *P. viridicatum* (Khaddor *et al.*, 2006). L'effet des huiles d' *A. herba-alba* et *Oreganum* sur la germination des spores, l'allongement mycélium et la sporulation ont été étudiés dans trois champignons. Les trois étapes de reproduction asexuée fongique ont été affectés, mais la croissance du mycélium a été le plus sensible, suivie de la germination des spores puis la sporulation des trois champignons étudiés. *Zygorrhynchus Sp* s'est révélée être le plus sensibles suivie par *Aspergillus Niger* puis *Penicillium italicum*. *A. herba-alba* a été moins actif sur le trois phénomènes étudiés que l'huile d'*Oreganum*. (Tantaoui *et al.*, 1993). En outre, l'huile essentielle d'*A. herba-alba* a démontré une action synergique sur l'inhibition de la croissance du mycélium dans les isolats *Zygorrhynchus sp.* et *Aspergillus Niger*, lorsqu'il est associé avec du chlorure de sodium ou d'acide gras (Tantaoui et Errifi, 1993).

D'autre part, les huiles essentielles extraites de 10 plantes algériennes; dont *A. herba-alba*, ont été analysés pour leur activité potentielle contre *Candida albicans*.

Une efficacité modérée a été obtenue avec l'huile essentielle de *A. herba alba* qui a montré un effet antifongique 5617 fois plus faible que celle mesurée par l'amphotéricine B. (Roger *et al.*, 2008)

De plus, les effets inhibiteurs de têtes de fleurs d'*Artemisia herba-alba*, sur la croissance et la production de l'aflatoxine d'une souche toxigène d'*Aspergillus flavus* a été testé en utilisant

différentes concentrations. La plante inhibe la formation des aflatoxines par 85 à 90% comparé à celle du témoin à une concentration de 10% (El-Shayeb et Mabrouk, 1984)

En outre, l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*A. herba-alba in vitro* a été évaluée sur différents micro-organismes. L'huile a montré une action très forte contre *Candida* et *Microsporium*. (Al Banna *et al.*, 2003).

- **Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne de l'Armoise blanche recueillie près de Sde Boker-(désert du Néguev), a été étudiée. Seul l'huile essentielle est révélée être active contre certaines bactéries Gram-positives (*Hemolyticus Streptococcus* et *Staphylococcus aureus*) et les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*,). L'huile essentielle a été fractionnée par Chromatographie sur colonne, et ces fractions ont été testées pour leur activité antibactérienne. Le composant principal de la fraction la plus active a été l'alcool santoline (Mohamed *et al.*, 2010). En outre, les quatre huiles essentielles de populations herba-alba Artemisia collectées en Israël (Sde Boker-, Mizpe Ramon, désert de Judée et de Eilat) ont été étudiés pour leur activité antibactérienne.

Toutes les huiles légères ont une activité antibactérienne dans la marge de concentration de 2.1 mg / ml. Les huiles étaient actives contre les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) et contre les bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*). L'huile dérivée de la variété Sde Boker présentait la plus haute activité antibactérienne, notamment contre le *Streptococcus*, *Pseudomonas* et les souches *Serratia* testé. Cette huile, ainsi que celles de Mizpe Ramon et le désert de Judée, ont montré une activité relativement élevée contre *S. sonnei* et *S. typhosa* alors qu'ils étaient presque inactif contre *E. coli*. L'huile extraite de plantes prélevées près Elat possédait de très faibles activités. L'effet antibactérien peut expliquer l'utilisation extensive de *A. herba-alba* la médecine populaire (Sherif *et al.*, 1987). En outre, l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* a été évalué sur les microorganismes, L'huile a montré une action très forte contre *Staphylococcus*, l'inhibition des huiles était faible par rapport au entérobactéries (Charchari *et al.*, 1996).

Par contre, relativement l'extrait aqueux d'*A. herba-alba* possédait une faible activité antibactérienne et pratiquement peu ou pas d'activité inhibitrice contre la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Marrif *et al.*, 1995). L'activité antibactérienne d'*A. herba-alba*

testée contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* n'ont pas montré une activité significative contre les deux espèces (Hifnawy *et al.*, 2001).

Dans une autre étude réalisée sur les mycoplasmes qui sont un des plus petits micro-organismes vivant en liberté et qui contrairement à d'autres bactéries n'ont pas de paroi cellulaire. Par conséquent, ils ne sont pas sensibles à la pénicilline et d'autres antibiotiques qui agissent sur la structure, l'Armoise blanche, était parmi les six extraits méthanoliques des plantes médicinales traditionnelles jordaniennes qui étaient testés sur 32 isolats d'espèces de *Mycoplasma*. Le résultat de cette étude a montré que l'extrait de plante le plus efficace *in vitro* contre toutes les espèces de *Mycoplasma* était celui d'*A. herba-alba* avec des valeurs MIC de 3,125 à 6,25. mg / ml. Par conséquent, cette plante peut être considérée comme une solution de rechange facilement disponibles pour des médicaments tels que la fluoroquinolones, tétracyclines, les macrolides et chloramphénicols qui sont actuellement utilisés dans le traitement de Mycoplasmes (Al Momani *et al.*, 2007)

- **L'activité anthelminthique**

L'activité anthelminthique d'*Artemisia herba alba* a été rapportée par de nombreux auteurs, en effet, des pousses de poudre d'Armoise blanche a été étudié pour leur effet anthelminthique chez dans six chèvres nubiennes ayant été infectés par des doses uniques de 800 à 1000 de larves *Haemonchus*. Les signes cliniques de caprins infectées inclus inappétence, matité et des selles molles ces signes ont été corrélées avec les conclusions pathologiques. Aucun de ces changements ont été observés dans quatre des six chèvres après le traitement avec 2, 10 ou 30 g de pousses *Artemisia*. Cette thérapie était réussie, soutenu e par l'absence d'œufs dans les selles ou les vers adultes dans la caillette à l'autopsie et des lésions significatives dans les tissus des chèvres et le retour à la normale des concentrations d'ammoniac, de sodium, potassium, des protéines totales et de la créatinine dans le sérum et de l'activité de l'aspartate aminotransférase (GOT). Chez les deux chèvres, traités avec 10 ou 30 g de pousses *Artemisia*, la production d'œufs n'a pas été complètement supprimées et quelques vers *Haemonchus* adultes ont été trouvés dans la caillette (Idris *et al.*, (1982), Sherif *et al.*, (1987).

En outre, Al-Waili a suggéré que l'extrait aqueux d'*A. herba-alba* peut avoir une valeur thérapeutique possible dans les infections intestinales avec *Enterobius vermicularis*. En effet, l'effet possible de l'extrait d'*A. herba-alba* sur l'infection par *E. vermicularis* a été examinée chez 10 patients. Les résultats semblent montrer que l'extrait d'*A. herba-alba* a éradiqué

l'infection intestinale avec *E. vermicularis* dans les 3 jours pour tous les 10 patients traités (Al- Waili, 1986).

*PARTIE III*

*ARTEMISIA*

*CHAPITRE III :*

*MATERIEL ET*

*METHODES*

## 1. Extraction

### 1. 1. Matériels biologiques :

#### 1.1.1. *Artemesia absinthium L*

La plante d'*Artemesia Absinthium* a été cueillie au mois de mars (2012), dans les Montagnes de Dahra Mostaganem, la plante a été identifiée par le laboratoire de botanique de l'université d'ESSENIA d'Oran.

#### 1.1.2. *Artemesia herba alba Asso*

La plante d'*Artemesia herba alba Asso* a été cueillie au mois de Juin (2012), dans la wilaya de Ghardaia, la plante a été identifiée par le laboratoire de botanique de l'université d'ESSENIA d'Oran.

### 1. 2. Préparation des extraits :

L'extraction a été réalisée dans le laboratoire des sciences et ingénierie des aliments, université « Dunarea de jos », Galati, Roumanie. Ces parties ont été stockées à température ambiante à l'abri de la lumière.

L'extrait aqueux est obtenu par sonication à une température de 50°C pendant 2 heures, 5 g de la poudre végétale sont mélangés avec 50 mL d'eau distillée et laissés sous sonication pendant 2 heures, après filtration sous vide, l'extrait est lyophilisé et stocké pour les différentes analyses. (Annegowda *et al.*, 2010).

## 2. Test de toxicité:

### 2.1. Principe :

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

### 2.2. Matériel biologique

L'étude est réalisée sur des souris males et femelles de souris WISTAR dont pesant  $25 \pm 5$  g fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Ces animaux sont élevés au niveau de l'animalerie de l'université de Mostaganem. Après une période d'adaptation, les souris sont pesées, marquées et soumises à jeûne, une nuit avant leur utilisation.

### 2.3 Protocole :

Le test est réalisé sur un effectif de 12 souris pesant  $25 \pm 5$ g réparties en deux lots. Ces souris sont privées de nourriture et d'eau 12 heures avant la période d'expérimentation. Chaque lot reçoit par voie orale la solution test à 2 doses :

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

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

### 3. L'Activité anti-inflammatoire

#### 3.1. Protocole expérimental :

##### 3.1.1. Prétraitement par les extraits

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 42 souris pesant  $25 \pm 5$ g est divisé selon les deux extraits en deux groupes, chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :

##### 1. Groupe de l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (*A. ab*) :

- ✓ **Groupe témoin** (n=6): une solution de NaCl (0,9%).
- ✓ **Groupe standard** (n=6): l'anti-inflammatoire diclofénac (50 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%.
- ✓ **Groupe *A. ab1*** (n=6): l'extrait aqueux de l'*Artemisia absinthium* à la dose de 150 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.
- ✓ **Groupe *A. ab2*** (n=6): l'extrait aqueux de d'*Artemisia absinthium* à la dose de 300 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.

##### 2. Groupe de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* (*A. her*)

- ✓ **Groupe témoin** (n=6): une solution de NaCl (0,9%).
- ✓ **Groupe standard** (n=6): l'anti-inflammatoire diclofénac (50 mg/Kg) dissous dans du NaCl 0,9%.
- ✓ **Groupe *A. her1*** (n=6): L'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.
- ✓ **Groupe *A. her2*** (n=6): l'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%.

### 3.1.2. Induction de l'inflammation

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

Des œdèmes au niveau des pattes de souris sont induits après injection sub-plantaire (intra-articulaire) d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière droite des souris, une heure après l'administration de des extraits par voie orale (Figure 14). L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire (Winter *et al.* 1962).

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

#### 3. 1.2.1. Injection de la carragénine

Une heure après l'administration des traitements, chaque animal reçoit par injection sub-plantaire dans la patte arrière droite, 0,1 ml d'une suspension de carragénine à 0.5% dissous dans du NaCl 0,9% (Figure 14).



(a)



(b)

**Figure 14** : Administration orale des extraits (a), Injection sub-plantaire de la carragénine d'administration (b)

### 3.1.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

#### ➤ Mesure de l'œdème

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



**Figure 15 :** Mesure du diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital

#### 4. Etude histologique:

##### 4.1. Echantillons:

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

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

##### 4.2. Méthodes

L'étude histologique est réalisée selon le protocole suivant :

**4.2. 1. Fixation :** Les pattes prélevés sont fixés avec du formol dilué à 10%.

##### 4.2. 2. Décalcification:

La dureté du tissu osseux nécessite un traitement à l'aide d'agents chimiques permettant de chélater le calcium. La décalcification facilite l'obtention de coupes fines exploitables d'un point de vue microscopique. Durant cette étape on introduit les pattes dans une solution décalcifiant (980 ml de l'eau distillée + 20 ml de l'acide nitrique), pendant trois heures.

##### 4.2.3. Macroscopie :

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

##### 4.2.4. Circulation :

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

- Bac1 : formol à 10% durant une heure et demi heure,
- Bac2 : éthanol à 50° durant une heure,
- Bac3 : éthanol à 60° durant une heure,
- Bac4 : éthanol à 70° durant une heure,
- Bac5 : éthanol à 80° durant une heure,
- Bac6 : éthanol à 90° durant une heure,
- Bac7 : éthanol à 96° durant une heure,

- Bac8 : xylène ou toluène durant une heure et demi heure,
- Bac9 : xylène ou toluène durant une heure et demi heure,
- Bac10 : xylène ou toluène durant une heure et demi heure,
- Bac11 : paraffine liquide durant deux heures,
- Bac12 : paraffine liquide durant deux heures.

#### **4.2. 5. Inclusion et enrobage :**

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

#### **4.2. 6. Coupe :**

Des coupes de 4  $\mu$  sont réalisées à l'aide d'un microtome, le ruban fractionné est porté sur une lame de verre, la lame est mise sur une plaque chauffante pour permettre un bon étalement et éviter la formation des plis. Les lames sont marquées sur leur bord par un stylo à diamant. Ensuite elles sont mises dans un plateau et l'incubation est effectuée sous une température de (50°C-56°C) pendant toute la nuit.

#### **4.2. 7. Coloration :**

La coloration est réalisée dans un appareil spécifique avec de l'Héματοxyline Eosin, les échantillons sont traités par plusieurs produits et dans plusieurs bacs comme suit :

- 3Bacs de xylène durant 5 minute chacune.
- 3Bacs d'éthanol de concentration de 50°, 60°, 90°.
- 1Bac d'eau distillée pendant 5 minutes.
- 1Bac d'héματοxyline d'Harris durant 8 minutes.
- 1Bac de solution de lavage, pour faire laver les lames pendant 5 minutes.
- 1Bac d'alcool-acide durant 3 secondes.
- 1Bac de solution de lavage

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

#### **4.2. 8. Montage :**

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

#### **4.2. 9. Lecture microscopique :**

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

### **5. Analyses statistiques**

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. Et analysés par le test *t* de *Student*. Les valeurs de  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  ;  $p < 0,001$  ont été considérés comme significatifs (\*), très significatifs (\*\*), et hautement significatif (\*\*\*) respectivement.

*PARTIE III*

*ARTEMISIA*

*CHAPITRE IV :*

*RESULTATS*

**1. L'extraction :**

Les extraits obtenus sont des extraits aqueux qui ont été lyophilisés et gardés jusqu'à leur utilisation

**2. Test de toxicité****2.1. *Artemisia absinthium L.***

L'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles *d'Artemisia absinthium* aux doses de 150 et 300 mg/Kg p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aiguë au cours des 24 heures d'observation (de comportement des animaux, mort, coma...).

**Tableau 6 :** Test de toxicité aux doses de 150 mg/Kg et 300 mg/ Kg de p.c de l'extrait aqueux des feuilles *d'Artemisia absinthium* au cours des 24 heures

Doses	Augmentation de l'activité	convulsion	Coma	Mort
Lot (150 mg/Kg de p.c)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Lot (300 mg/Kg de p.c)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

**2.2. *Artemisia herba alba Asso***

L'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles *d'Artemisia herba alba* aux doses de 150 et de 300 mg/Kg p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aiguë au cours des 24 heures d'observation (de comportement des animaux, mort, coma...).

**Tableau 7 :** Test de toxicité aux doses de 150 mg/Kg et de 300 mg/ Kg de p.c de l'extrait aqueux des feuilles *d'Artemisia herba alba Asso* au cours des 24 heures

	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot (150 mg/Kg de p.c)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Lot (300 mg/Kg de p.c)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

### 3. L'activité anti-inflammatoire

#### 3.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG):

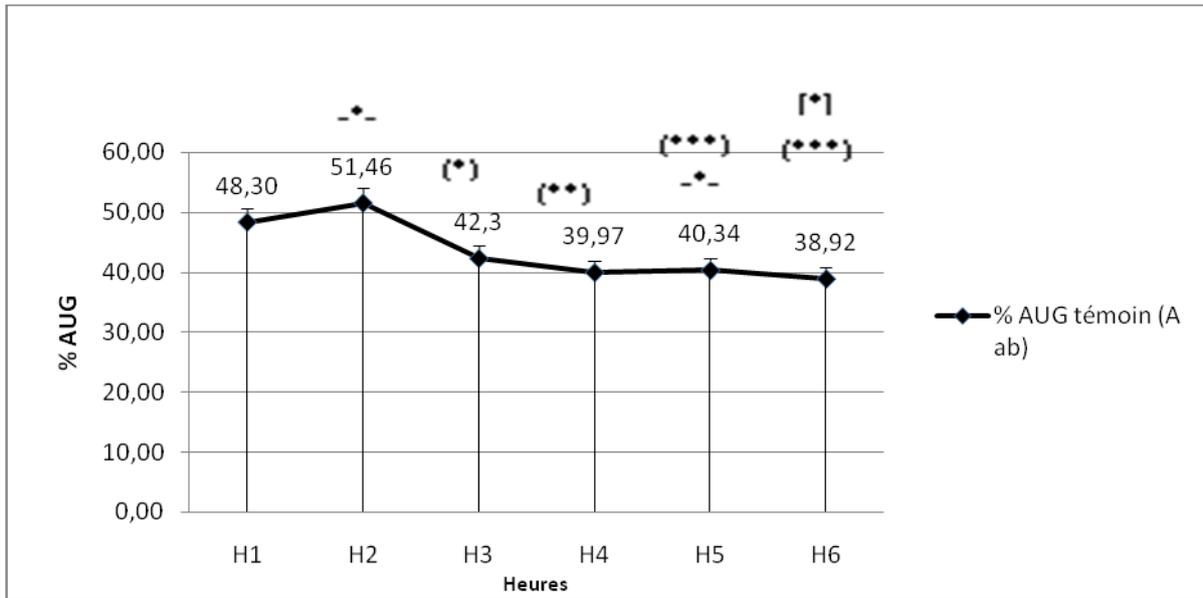
##### 3.1.1. Groupes témoins

L'administration de la carragénine entraîne une augmentation significative du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris témoins à partir de la première heure de l'expérimentation.

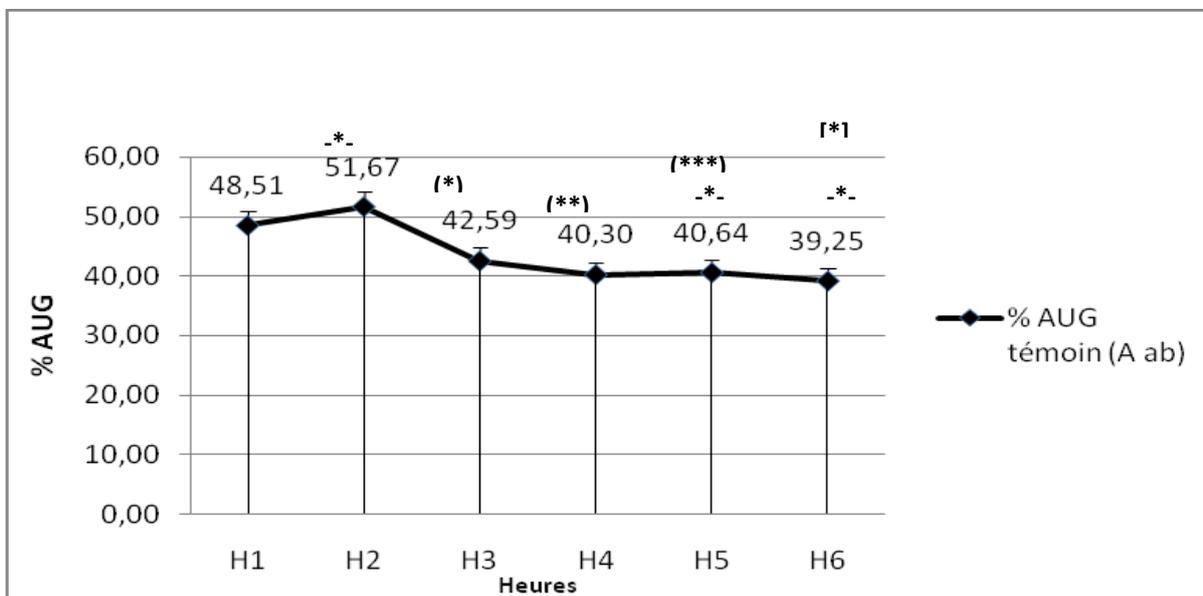
De plus, une augmentation significative du volume de la patte des souris est observée à la deuxième heure comparée à toutes les heures de l'expérimentation  $p < 0,05$  ( $51,46 \pm 6,88$  ;  $42,59 \pm 7,78$  ;  $40,30 \pm 8,68$  ;  $40,60 \pm 7,41$  et  $39,25 \pm 8,34$  à la deuxième, troisième, quatrième, cinquième et sixième heure, respectivement).

A partir de la troisième heure, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris témoins commence à se réduire progressivement.

Après six heures d'expérimentation le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris témoins est significativement diminué comparé à celui de la première, deuxième et 3<sup>ème</sup> heure ( $p < 0.001$ ). (Figure 16)



(A)



(B)

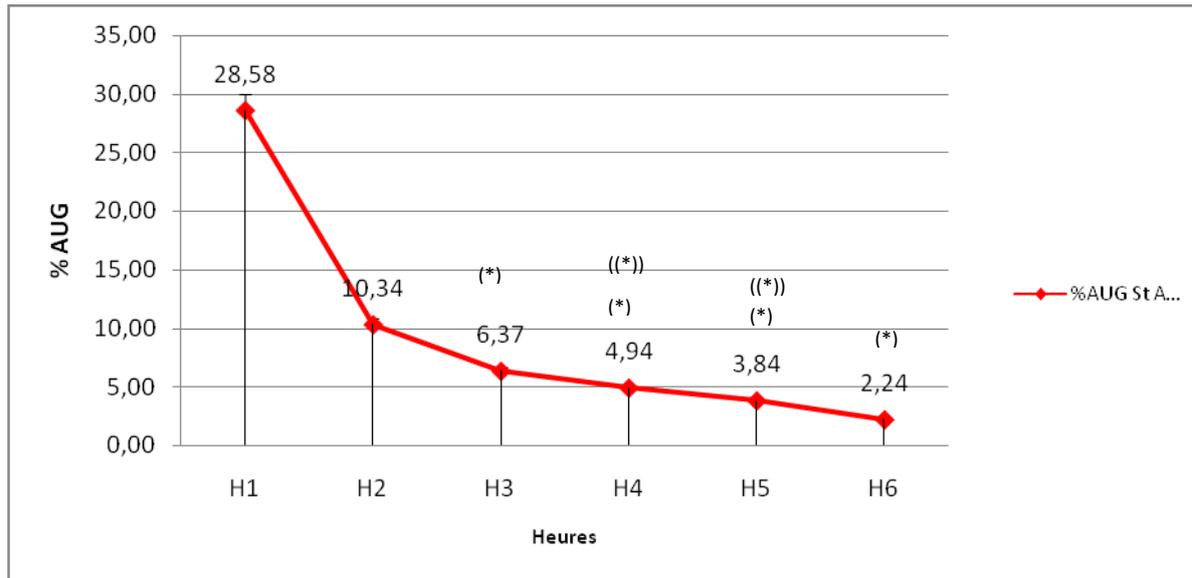
**Figure 16:** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris témoin pendant 6 h  
Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
comparaison entre les heures (H1\*, H2 (\*), H3 (\*\*), H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )

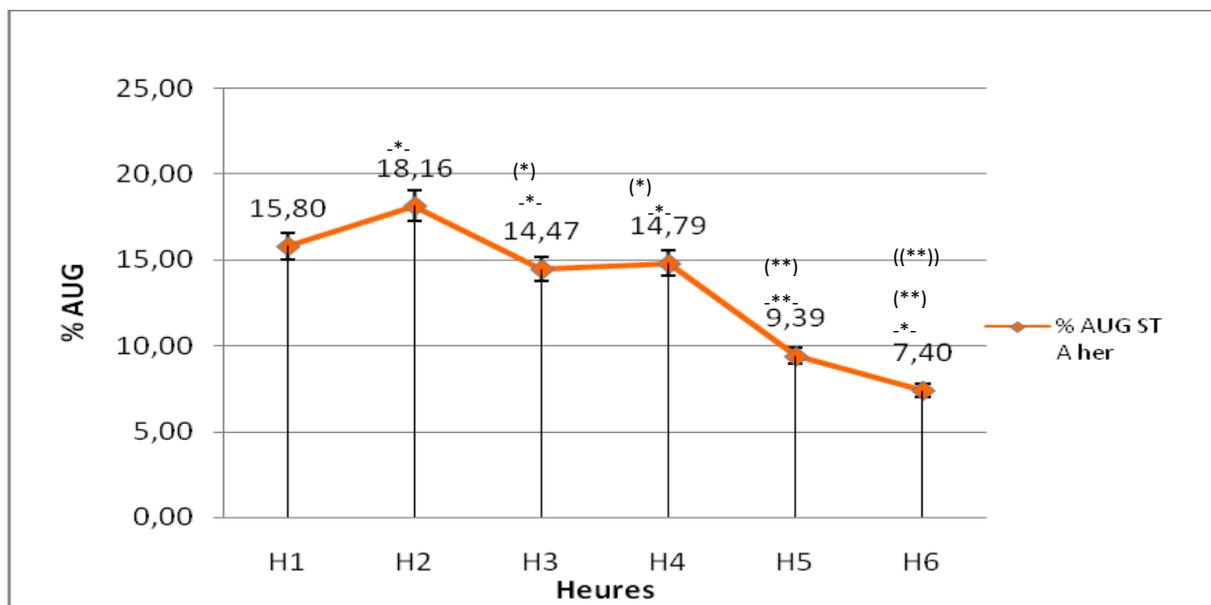
### 3.1.2. Groupes standards

Pour le groupe standard (l'extrait aqueux *d'Artemisia absinthium*), les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire du Diclofénac à (50 mg/kg) provoque une diminution du volume de la patte des souris pendant les six heures de l'expérimentation. En effet, cette réduction significative est observée à partir de la deuxième heure et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation. A la fin de l'expérimentation (sixième heure), le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris standards est 12.75 fois moins important que celui de la 1<sup>ère</sup> heure.

Alors que pour le groupe standard (l'extrait aqueux *d'Artemisia herba alba*), les souris du groupe standard traitées par le diclofénac (50mg/kg), montrent une diminution significative du pourcentage de l'augmentation du volume de la patte particulièrement à deuxième heure de l'expérimentation en comparaison aux autres heures (troisième, quatrième, cinquième et sixième heure, respectivement). De plus, le volume des pattes des souris témoins est significativement réduit à la sixième heure comparé à la troisième heure de l'expérimentation ( $p < 0,01$ ). (Figure 17)



(A)



(B)

**Figure 17:** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris standard pendant 6h  
Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n.6)  
comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 ((\*) H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \*\*

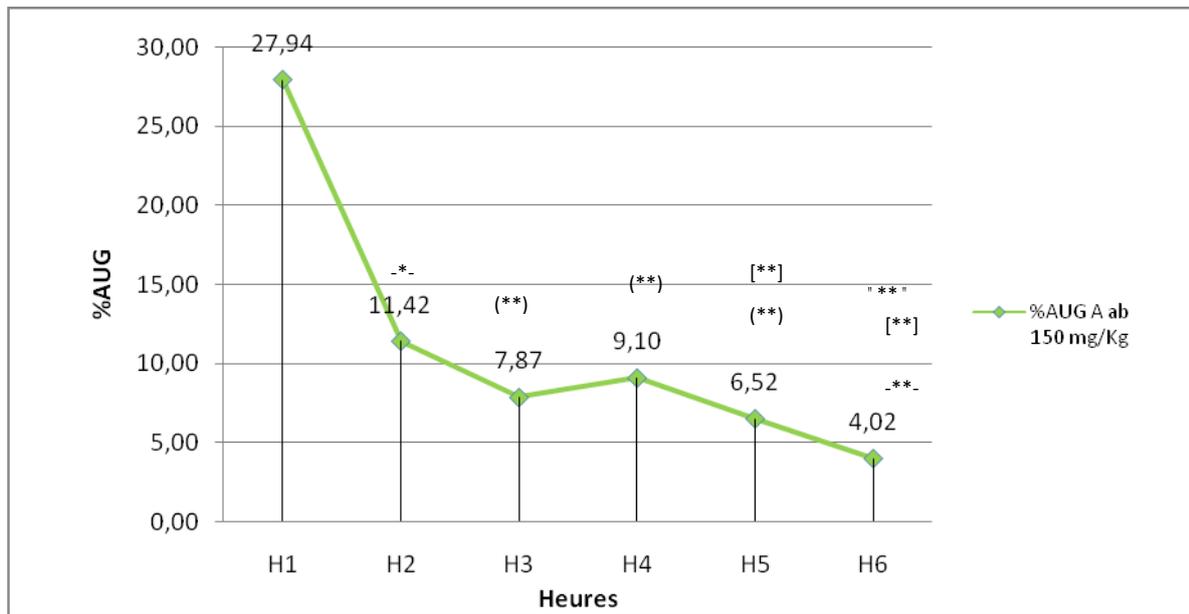
### 3.1.3. Groupes traités

#### 3.1.3.1 Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (150mg /kg de p.c):

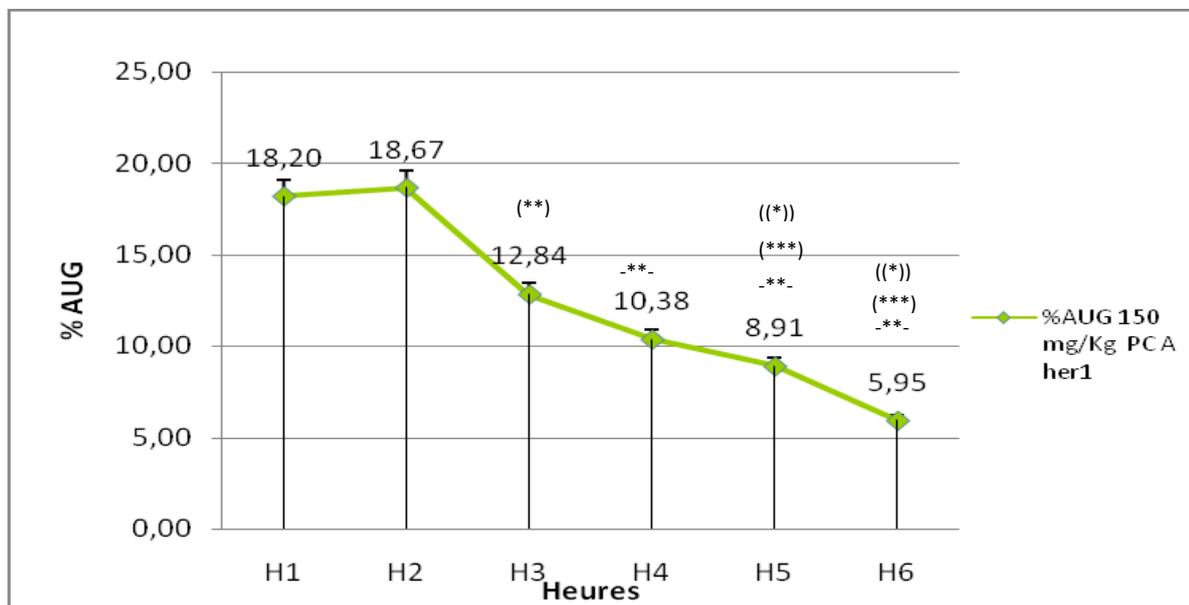
Le traitement par l'extrait aqueux de feuilles d'*Artemisia absinthium* (150 mg/kg de p.c) induit une diminution significative de volume de la patte des souris à partir de la deuxième, et jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation ( $p < 0,01$ ). De plus, à la sixième heure le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (150 mg/kg de p.c) montrent des valeurs significativement réduites comparées aux valeurs de la deuxième, quatrième et cinquième heure, respectivement ( $p < 0,01$ ).

#### 3.1.3.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba* (150 mg/kg de p.c) :

L'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* à la dose 150 mg/kg de P.C aux souris provoque une diminution très significative à la première heure comparée à la quatrième, cinquième et sixième heure, respectivement ( $p < 0,01$ ), le même résultat est notée à la deuxième heure comparée aux autres heures de l'expérimentation. De plus, cette baisse est plus importante à la deuxième heure comparée à la cinquième et à la sixième heure de l'expérimentation ( $p < 0.001$ ). D'autre part aucune différence significative n'est notée entre le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées à la quatrième, cinquième et sixième heure de l'expérimentation. (Figure 18)



(A)



(B)

**Figure 18:** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées (150mg/kg de p.c) pendant 6h  
 Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

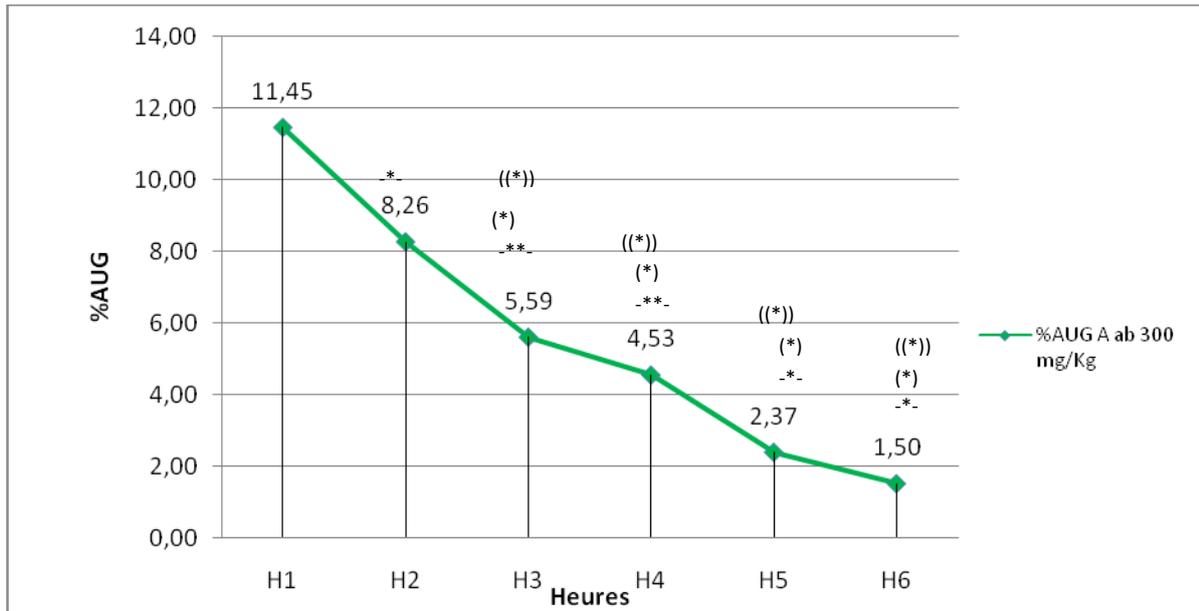
p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
 comparaison entre les heures (H1-\*,H2 (\*), H3 (\*\*)) H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* "

**3.1.3.3. Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (300mg /kg de p.c):**

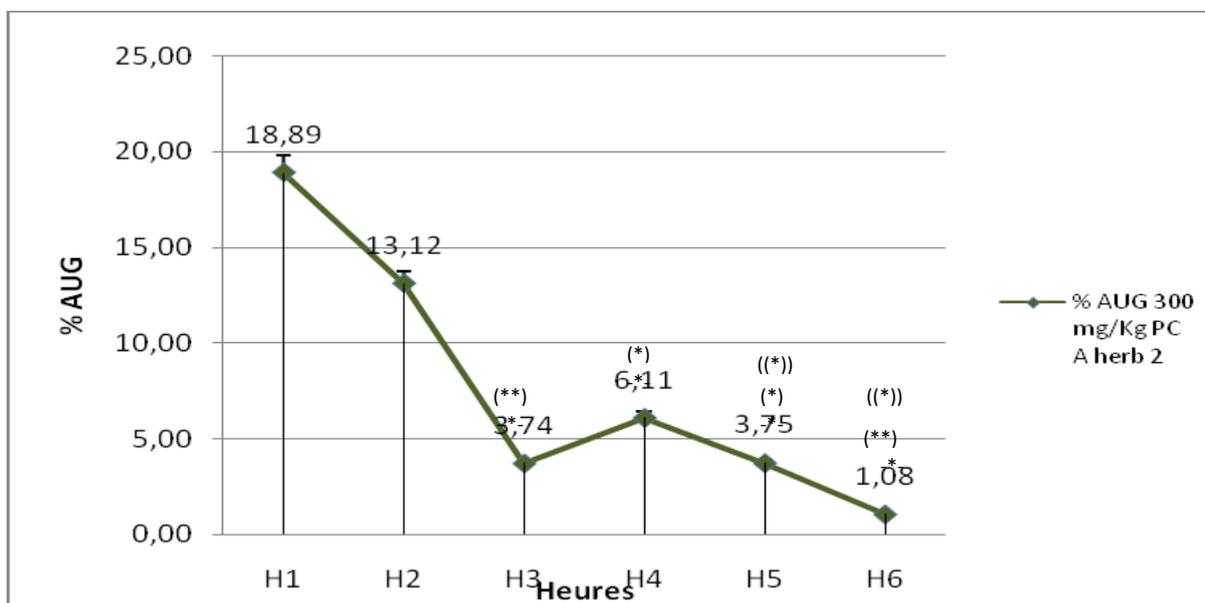
Dès la deuxième heure du traitement par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* à la dose 300 mg/kg de p.c) le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées commence à se réduire progressivement, cette réduction atteint une valeur 12 fois moins importante que celle notée à la première heure de l'expérimentation. De plus, à la troisième heure le traitement par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* à la dose 300 mg/kg de p.c induit une réduction de moitié du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées comparé à celui de la première heure. ( $11,45 \pm 7,38$  (H1) et  $1,50 \pm 0,34$  (H6)).

**3.1.3.4. Groupe traitée par l'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba* (300 mg/kg de p.) :**

A partir de la première heure et jusqu'à la sixième heure, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des souris traitées par l'extrait à la dose de 300 mg/kg de P.C montre une différence significative en comparaison à l'ensemble des heures de l'expérimentation ( $p < 0,05$ ). De plus, des résultats similaires sont reportés à la 3<sup>ème</sup> heure comparée à la cinquième et à la sixième heure ( $p < 0,05$ ). (Figure 19)



(A)



(B)

**Figure 19:** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des souris traitées (300 mg/kg de p.c) pendant 6h  
Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

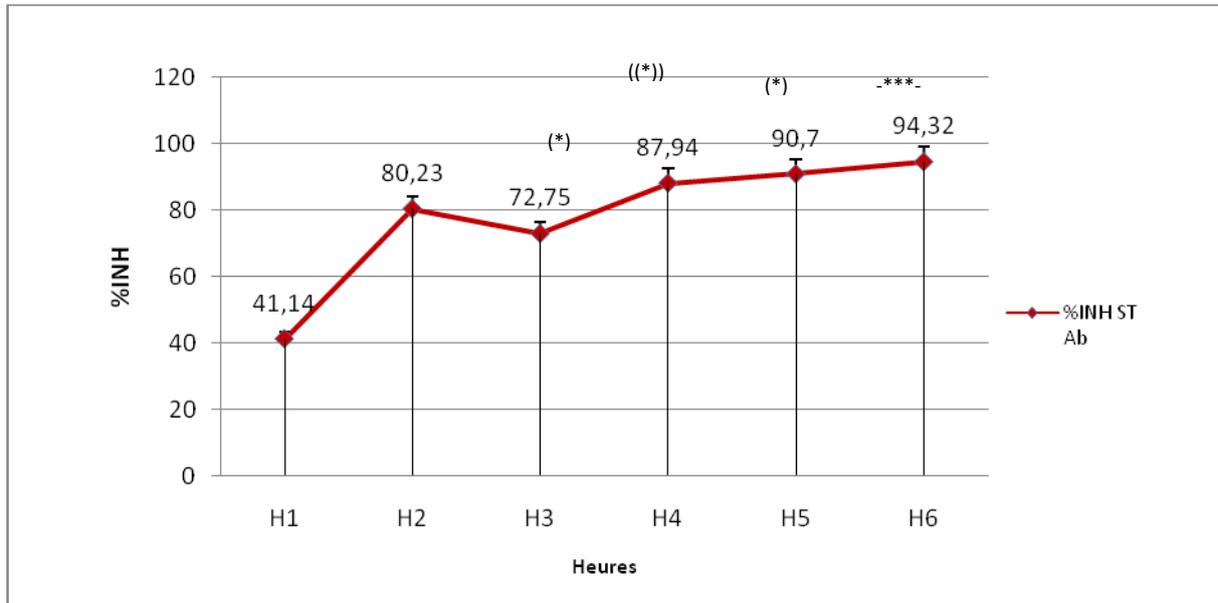
p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n-6)  
comparaison entre les heures (H1-\*,H2 (\*), H3 (\*\*)) H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )

### 3. 2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH):

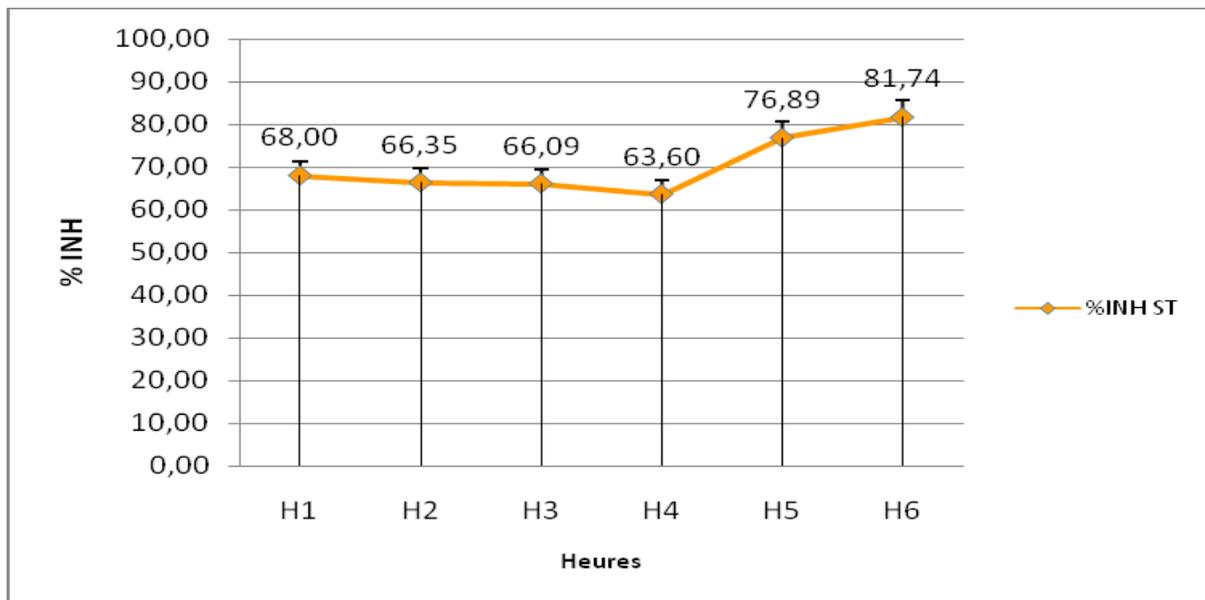
#### 3.2.1. Groupes standards

Pour le groupe standard de (l'extrait aqueux *d'Artemisia absinthium*), l'administration du Diclofénac à une dose de 50 mg/kg de p.c présente une inhibition hautement significative de l'œdème de la patte de souris à la première heure à la sixième heure ( $p < 0,001$ ). En effet, cette activité atteint  $94,32 \pm 34,68\%$  à la sixième heure de l'expérimentation.

De plus chez le groupe standard (l'extrait aqueux *d'Artemisia herba alba*), l'administration orale du diclofénac (50 mg/kg) aux souris exerce une inhibition significative de l'augmentation du volume des pattes des souris standard. Par contre, ces valeurs ne montrent aucune différence significative entre les différentes heures de la période expérimentale. (Figure 20)



(A)



(B)

**Figure 20 :** Pourcentage d’inhibition (% INH) de l’œdème de la patte des souris standard traité par diclofénac pendant 6h.  
Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 ((\*) H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )

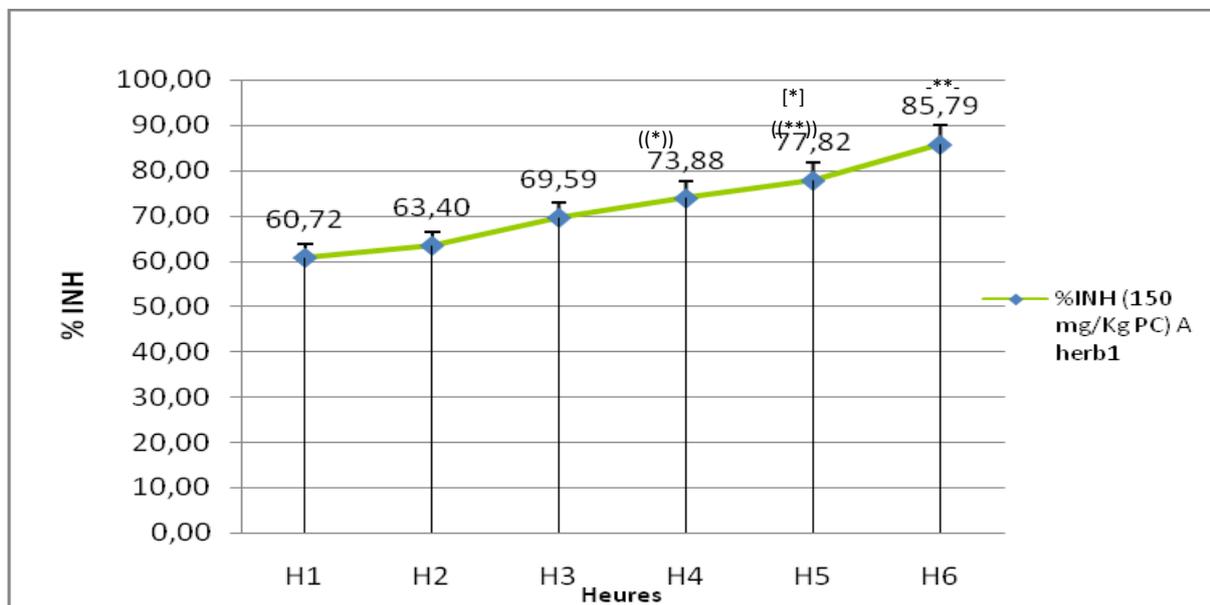
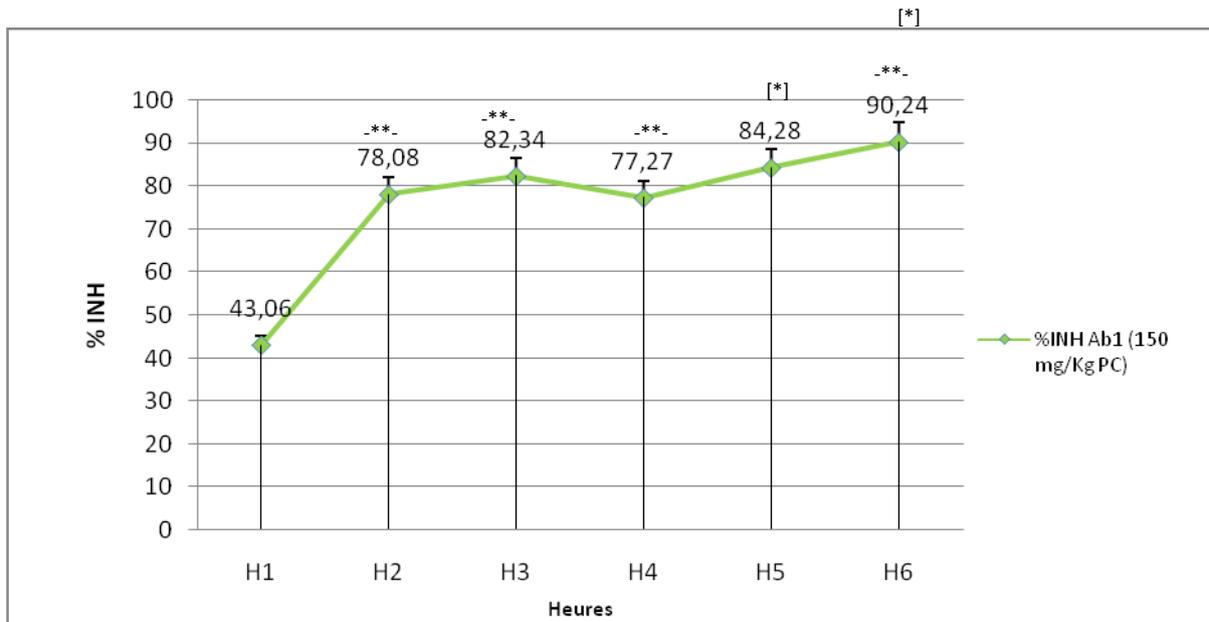
### 3.2.2. Groupes traités

#### 3.2.2.1. Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (150mg /kg de p.c):

L'administration orale de l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* à la dose de 150 mg/kg présente une activité inhibitrice de l'œdème de la patte des souris, cette activité augmente progressivement jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation, à ce stade sa valeur est 2 fois plus élevée que celle notée à la première heure ( $p < 0,01$ ). De plus, aucune différence significative n'est notée entre les valeurs du pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume des pattes pendant la deuxième, troisième, quatrième et cinquième heure, Respectivement).

#### 3.2.2.2. Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/kg de P.C :

Le traitement par l'extrait aqueux (150 mg/kg) provoque une inhibition très significative de l'augmentation du volume de la patte des souris à la première heure comparée à la sixième heure ( $p < 0,01$ ). De plus, à la troisième heure et à la quatrième cette activité est 1,11 et 1,05 fois plus important que celle observée à la cinquième heure, respective. (Figure 21)



**Figure 21** : Pourcentage d’inhibition (% INH) de l’œdème de la patte des souris traitées (150 mg/Kg PC) pendant 6h.  
Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

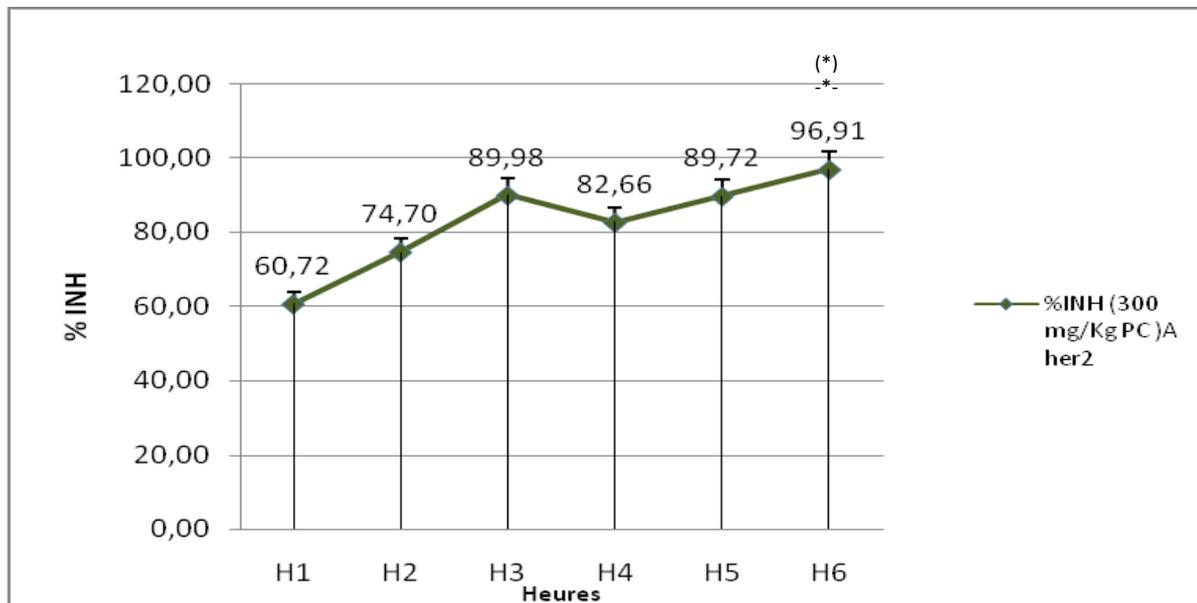
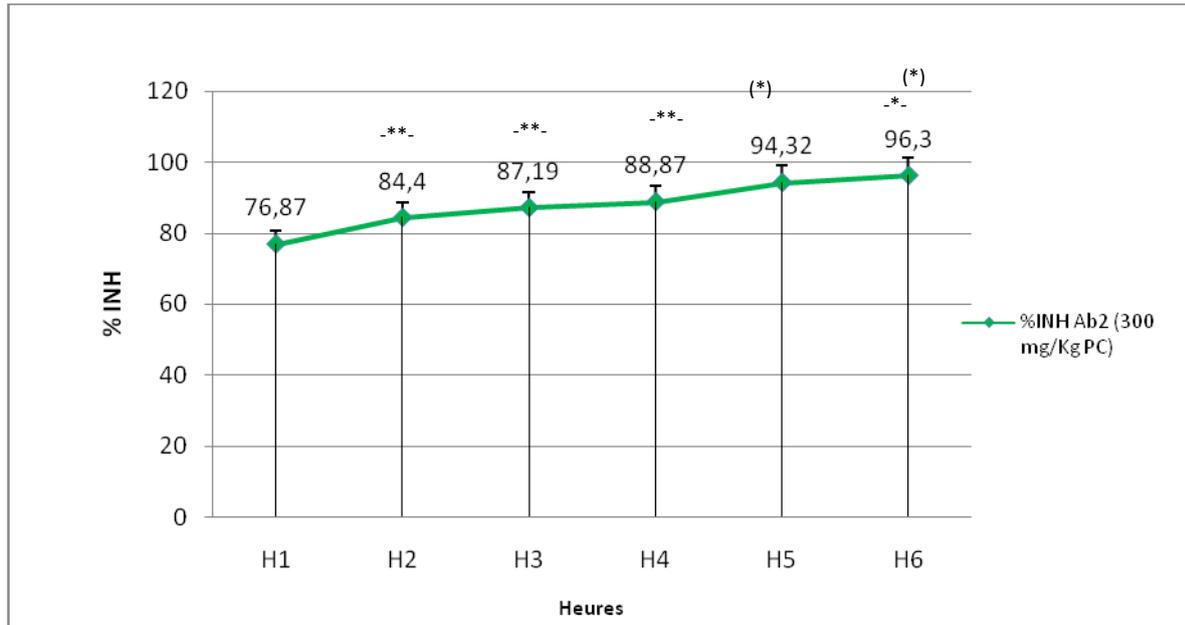
p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n.6) comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 ((\*)) H4 [\*], H5 [(\*)], H6 \*\*\*

**3.2.2.3. Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (300 mg /kg de p.c):**

A la dose de 300 mg/kg l'effet inhibiteur de l'extrait d'*Artemisia absinthium* administré par voie orale se manifeste dès la première heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de (76,86%±27,98), cette activité augmente progressivement jusqu'à la sixième heure (96,3%±35,42). L'analyse statistique de ce résultat a révélé une différence très significative à la première heure comparée respectivement à la deuxième, troisième et sixième heure de l'expérimentation. ( $p < 0,01$ ). De plus, cette inhibition est plus significative à la deuxième heure comparée à la cinquième et à la sixième heure de l'expérimentation ( $p < 0,05$ ).

**3.2.2.4. Groupe traité par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/kg de P.C :**

L'administration orale de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/kg de P.C aux souris induit une inhibition significative de l'augmentation du volume de la patte à la première heure comparée à la troisième heure ( $p < 0,05$ ). De plus, aucune différence significative dans l'activité inhibitrice de la plante aux autres heures de la période expérimentale. (Figure 22)



**Figure 22:** Pourcentage d’inhibition (% INH) de l’œdème de la patte des souris traitées (300 mg/Kg PC) pendant 6h.  
 Groupe *Ar abs* (A) ; Groupe *Ar her* (B)

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
 comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 ((\*) H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " " "

**3.2.3.5. Comparaison entre l'activité inhibitrice des deux plantes :****➤ A la dose de 150 mg/kg de P.C**

L'analyse statistique de la comparaison ne révèle aucune différence significative dans l'activité inhibitrice des deux extraits l'extrait aqueux *d'Artemisia absinthium* et l'extrait aqueux *d'Artemisia herba alba*.

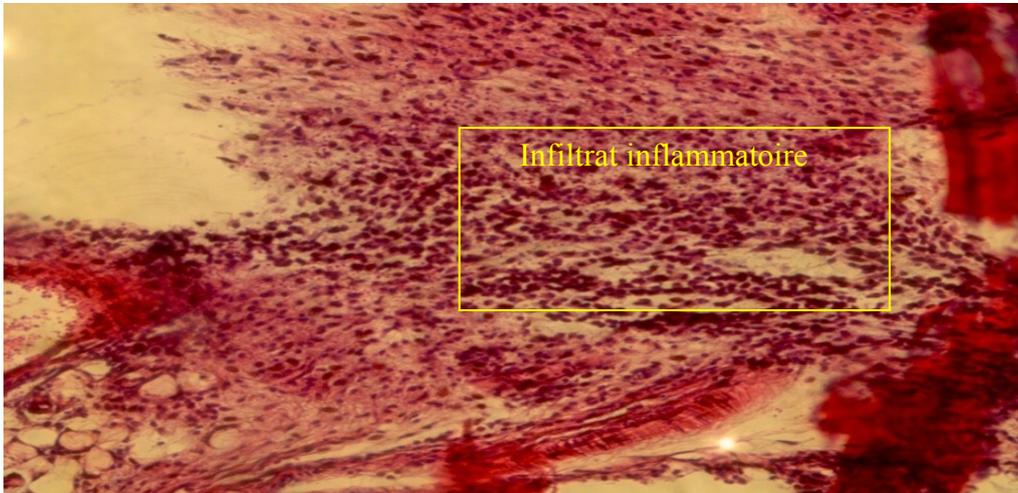
**➤ A la dose de 300 mg/kg de P.C**

De meme, les valeurs du pourcentage d'ihnibition de l'œdème de la patte des souris traitées par les deux extraits aqueux (*Artemisia absinthium* et *Artemisia herba alba*) sont similaires durant toute la période expérimentale.

#### 4. l'étude histologique

##### 4.1. Groupe témoin

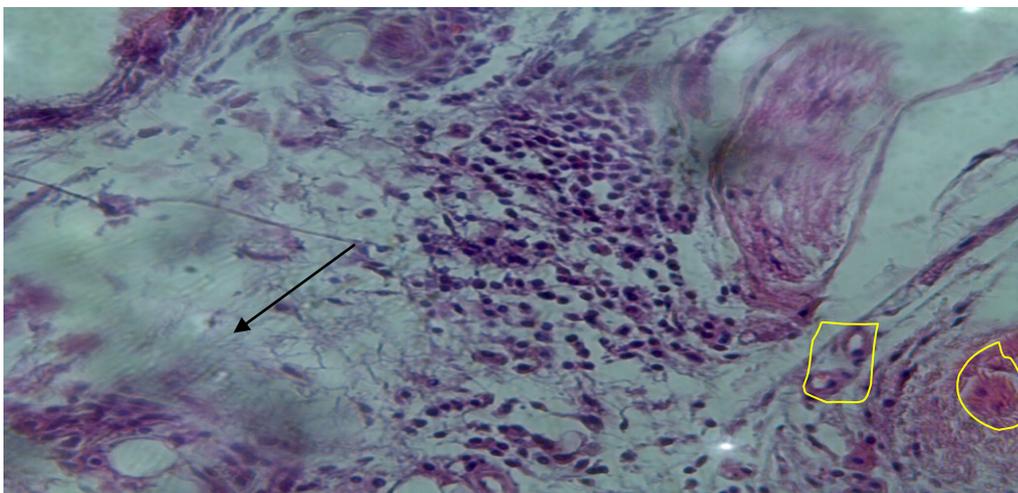
Après la lecture microscopique des tissus de la patte des souris du groupe témoin on observe un infiltrat inflammatoire intense pseudo folliculaire polymorphe associé à de l'œdème (Figure 23)



**Figure 23:** Photo représentant les tissus enflammés de la patte des souris témoin (GX100)

##### 4.2. Groupe standard

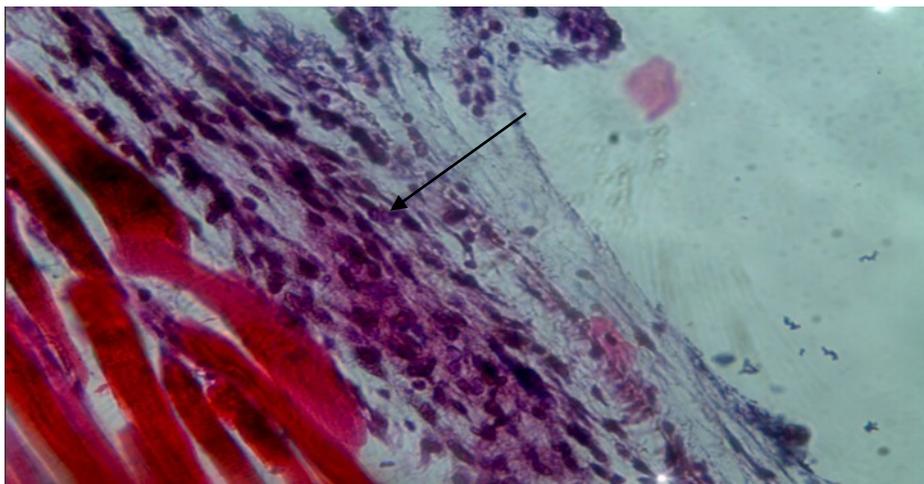
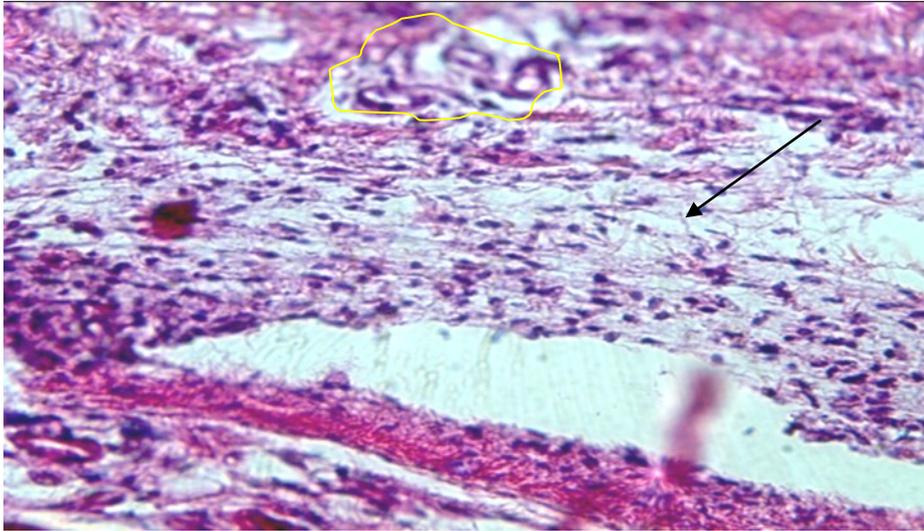
Après l'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitée par le diclofénac on observe un infiltrat inflammatoire persistance d'intensité moindre par rapport au témoin. (Figure 24)



**Figure 24:** Photo représentant les tissus enflammés de la patte de souris standard (G200)

#### 4.3. Groupes traités par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* et par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* (150mg /kg de PC) :

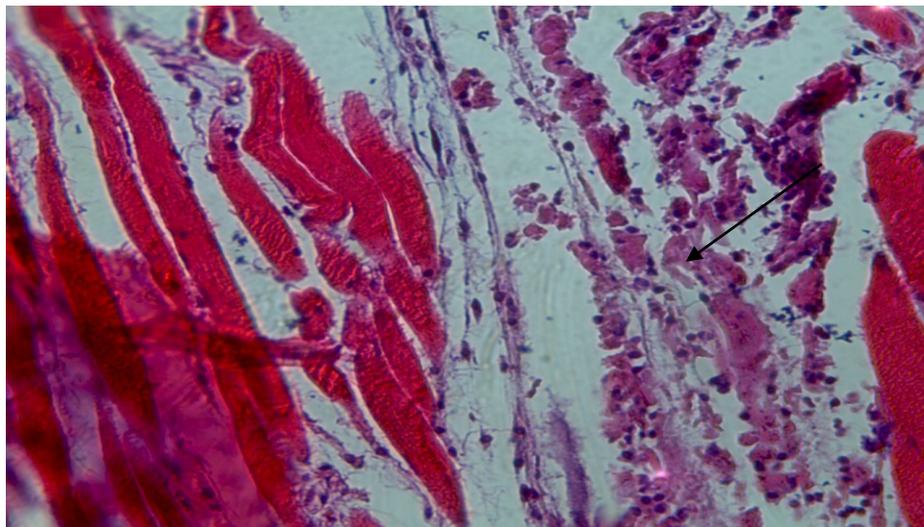
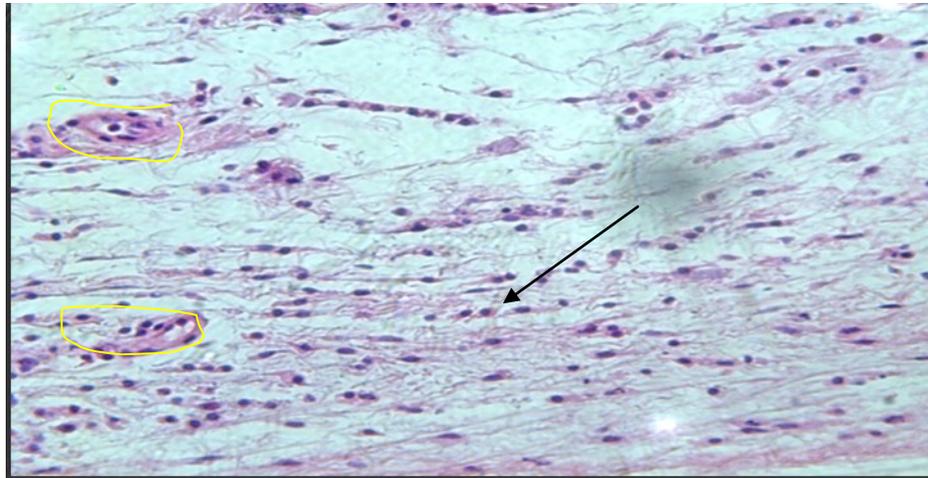
Un infiltrat inflammatoire moins intense est observé chez ces groupes par rapport au groupe témoin et au groupe standard. (Figure 25)



**Figure 25** : Photo présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (A) et les souris traitées par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/kg (B) (GX200 et X100)

#### 4.4. Groupes traités par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* et par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* (300mg /kg de PC) :

On observe dans l'image qui correspondre aux tissus de la patte des souris traitée par la dose de 300 mg/kg une absence presque totale de l'œdème inflammatoire. (Figure 26)



**Figure 26** : Photo présentant les tissus enflammés de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* (A) et les souris traitées par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/kg (B) (GX200 et X100)

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

Les extraits utilisés dans cette expérimentation sont obtenus après macération des plantes médicinales dans une solution aqueuse permettant d'en extraire les molécules hydrophiles et lipophiles. Par opposition aux tisanes, les extraits de plantes offrent une reproductibilité bien plus importante, et permettent d'obtenir une concentration en principes actifs adaptée et standardisée (Fougère et Wynn, 2007). De plus, l'extraction est une étape importante impliquée dans la découverte de composés bioactifs à partir de matières végétales. Des études récentes ont montré que l'extraction assistée par sonication améliore l'efficacité d'extraction en réalisant un rendement plus élevé de métabolites secondaires des plantes, à un temps de traitement réduit, une moindre consommation de solvant et à une température inférieure (Wu *et al.*, 2001 ; Huang *et al.*, 2009). Toutes ces caractéristiques font de la sonication une technique attrayante pour l'extraction d'antioxydants. (Lee *et al.*, 2002).

Par ailleurs, dans cette expérimentation, la toxicité aigüe a été évaluée, en effet certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faible dose. Le fait que l'on n'utilise que des plantes ne signifie pas que cela est sans dangers (Iserin, 2001).

Aujourd'hui plus d'un demi-million d'espèces de plantes sont utilisées, une plante sur dix est vénéneuse. Cependant, les composants de seulement 1000 espèces environ ont été étudiés en détail. (Franz-Xavier *et al.*, 2010)

Les substances toxiques dans les plantes sont divisées en alcaloïdes, glycosides triterpéniques, glycosides cyanogènes et autres substances toxiques, mais avec un dosage correct, quelques-unes peuvent aussi être utilisées comme médicaments. (Franz-Xavier *et al.*, 2004)

Nos résultats montrent que l'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia absinthium* aux doses de 150 et 300 mg/Kg de p.c, respectivement, aux souris n'exerce aucun effet toxique pendant les 24 heures d'observation, ceci indique que les deux doses ne sont pas toxiques.

De même, après une observation pendant 24 heures, aucune manifestation de toxicité n'a été notée chez les souris auxquelles l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* a été administré oralement aux doses 150 mg/kg et 300 mg/kg de poids corporel, ceci indique que l'extrait aqueux d'*A. herba alba* est considéré comme pas toxique à ces doses (150 mg/kg et 300 mg/kg de poids corporel).

De nombreux études confirment nos résultats, les travaux de Hadi *et al.*, (2014), montrent que l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* a un effet toxique uniquement à des doses élevées de 1400 mg / Kg . Cependant, certaines études rapportent que l'huile essentielle d'*A.absinthium* exerce un effet toxique sur le coléoptère *S.granarius* (Kordali *et al.*, 2006). De plus, grâce à sa toxicité *A. absinthium* est potentiellement utilisée dans le traitement des infections par les nématodes (Yilizid *et al.*, 2011 ; Jill *et al.*, 2011).

D'autre part, les travaux de Lachenmeier, (2008) indiquent que la thuyone est la substance toxique dans l'absinthe; c'est une cétone mono terpénique. Elle possède deux formes stéréoisomériques l'alpha et la bêta thuyone. L'isomère alpha thuyone est le plus toxique. Elle est particulièrement convulsivante et provoque des hallucinations et des sensations de désinhibitions.

De plus, Muto en 2003, a démontré que la plante elle-même n'est pas toxique, du moins à dose modérée mais son amertume intense, due à l'absinthine, la rendait nauséuse à trop fortes doses. Il arrivait qu'ils l'utilisent à haute dose pour provoquer l'avortement. Son huile essentielle, également en usage externe, agit comme anesthésique local, mais elle irrite les muqueuses (Muto, 2003).

Par ailleurs, quelques glycosides triterpéniques, peuvent exercer un effet toxique moins important, tel que l'adonitoxine (*Adonis vernalis*) qui provoque des nausées et des vomissements et l'Oléandrine (*Nerium oleander*) qui induit une défaillance cardiocirculatoire qui peut entraîner la mort. (Reichl *et al.*, 2004).

L'objectif de notre étude était de déterminer l'activité anti-inflammatoire de trois extraits de plantes médicinales à savoir : l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia absinthium*, l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* et l'extrait éthanolique d'*Hypericum scarboides* aux doses différentes sur l'œdème inflammatoire aiguë de la patte droite postérieure des souris induit par la carragénine selon la méthode de Winter *et al.*, 1962.

Au cours du suivi des souris témoins et des souris traitées pendant les six heures après l'injection de la carragénine nous avons noté une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots. Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez le groupe témoin a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que la carragénine à induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

En effet, l'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. Cette réponse inflammatoire est biphasique dont la phase initiale, qui dure environ une heure, est due à la libération de l'histamine et de la sérotonine, la bradykinine est libérée au cours de la deuxième phase (1,5–3 heures), et la biosynthèse des prostaglandines intervient au-delà de la troisième heure (Wantana *et al.*, 2009). Ces médiateurs augmentent la perméabilité des capillaires de la région. En conséquence, l'exsudat s'échappe de la circulation sanguine vers l'espace interstitiel. Cet exsudat est la cause de l'œdème localisé, qui, à son tour, comprime les terminaisons nerveuses et détermine ainsi une sensation de douleur (Devulder *et al.*, 2002 ; Rousselet *et al.*, 2005).

Par ailleurs, l'administration du diclofénac à la dose de 50 mg/kg par voie orale prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris. Elle est de  $15,79 \pm 11,30\%$ , de  $14,46 \pm 8,158\%$ ,  $9,38 \pm 5,12\%$  et de  $7,39 \pm 4,72\%$  à la 1<sup>ère</sup>, 3<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> h respectivement après l'administration de la carragénine. Ces résultats sont significativement différents de ceux du contrôle physiologique.

Pour l'évaluation du test anti-inflammatoire nous avons utilisé le test d'inhibition de l'œdème de la patte droite postérieure de souris à la carragénine. Par ce principe l'extrait aqueux d'*Artemisia absinthium* s'est révélé plus actif (97%) plus précisément à la sixième heure avec la dose de 300 mg/Kg de p.c. Ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait peut s'expliquer en partie par la présence dans les feuilles des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes (Bruneton, 1993).

De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gallego *et al.*, 2007) d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim *et al.*, 2004).

D'autre part, nos résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/Kg réduit de façon significative l'œdème induit par la carragénine à partir de la 1<sup>ère</sup> h ( $18,89 \pm 7,07$ ) jusqu'à la 6<sup>ème</sup> h ( $1,08 \pm 0,74$ ). L'inhibition de l'œdème par l'extrait

aqueux de l'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/Kg est comparable, à celle du diclofenac. En effet, de nombreuses études ont démontré que l'infusion des feuilles de l'*Artemisia herba alba* possèdent des activités biologiques telles que : l'activité anti-inflammatoire (Ghardia *et al.*, 2003). La richesse de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* en constituants phénoliques et flavonoïdes capables de empêcherait la formation des prostaglandines qui provoquent l'inflammation. De plus, certains études semblent indiquer que les flavonoïdes contenues dans les extraits de plantes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par l'inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérosique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2007).

De plus, nos résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/Kg réduit de façon significative l'œdème induit par la carragénine à partir de la 1<sup>ère</sup> h ( $18,89 \pm 7,07$ ) jusqu'à la 6<sup>ème</sup> h ( $1,08 \pm 0,74$ ). L'inhibition de l'œdème par l'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/Kg est comparable, à celle du diclofenac. En effet, de nombreuses études ont démontré que l'infusion des feuilles de l'*Artemisia herba alba* possèdent des activités biologiques telles que : l'activité anti-inflammatoire (Ghardia *et al.*, 2003). La richesse de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* en constituants phénoliques et flavonoïdes capables de empêcherait la formation des prostaglandines qui provoquent l'inflammation. De plus, certains études semblent indiquer que les flavonoïdes contenues dans les extraits de plantes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par l'inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérosique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2007).

Parallèlement, nos résultats montrent que l'activité inhibitrice de l'augmentation du volume de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de feuilles d'*Artemisia herba alba* à la dose de 150 mg/Kg est moins importante à 3<sup>ème</sup> heure ( $69,59 \pm 18,40\%$ ) par rapport à l'extrait aqueux à la dose de 300 mg/Kg ( $89,98 \pm 8,75\%$ ), cependant cet extrait réduit significativement le volume de la patte des souris traitées comparées au souris témoin à la 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup>, et 6<sup>ème</sup> heure de l'expérimentation.

En effet, de nombreuses études ont démontré que l'infusion des feuilles de *l'Artemesia herba alba* possèdent des activités biologiques telles que: l'activité anti-inflammatoire (Guardia *et al.* 2003), l'activité antimicrobienne (Setzer *et al.* 2004) et l'activité antioxydante (El-Massry *et al.* 2002, Kim *et al.* 2003, Kordali *et al.* 2005),

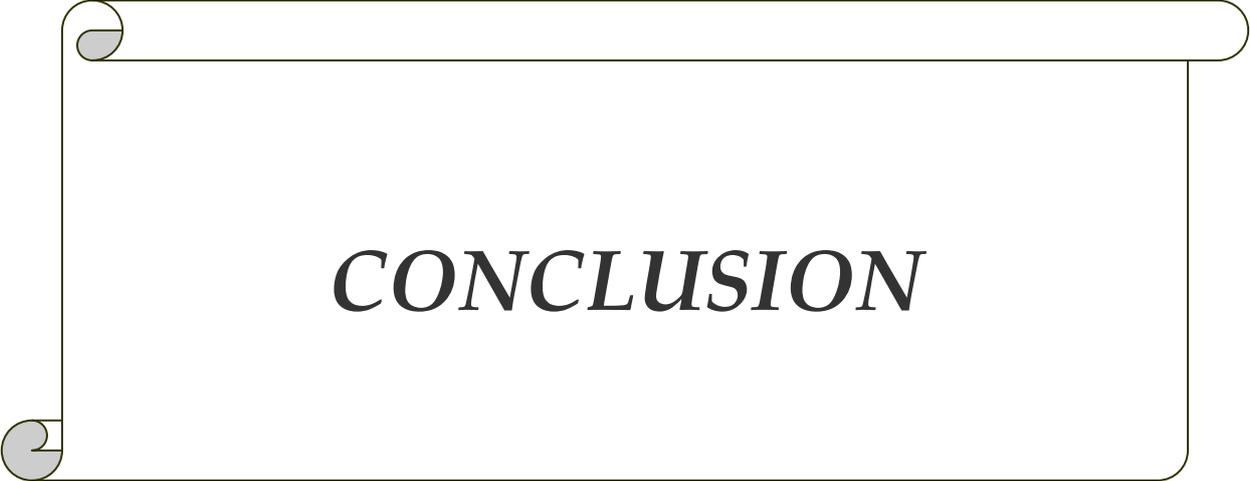
De plus, certaines études semblent indiquer que les flavonoïdes contenues dans les extraits de plantes, possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (González-Gallego *et al.*, 2007).

De plus, Kim *et al.*, 2004 ont démontré que les flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine et les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myrecétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) (Tapas *et al.*, 2008).

Par contre, Seidel, (2005) rapporte que ceci peut être dû au fait que cet extrait ne contient que des substances hydrosolubles qui ne peuvent traverser la barrière cutanée.

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

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



***CONCLUSION***

Le premier objectif de ce travail était de réaliser l'extraction de plantes *d'Artemisia absinthium L* et *Artemisia herba alba* Asso, les extraits aqueux ont été obtenus par macération dans l'eau distillée sous sonication.

Le 2<sup>ème</sup> objectif était d'évaluer la toxicité aigüe de ces extraits sur des souris. Après étude de chaque extrait, les résultats obtenus montrent que :

1. L'extrait aqueux *d'Artemisia absinthium* n'exerce aucun effet toxique aux doses de 150 mg/Kg et 300 mg/Kg de poids corporel
2. L'extrait aqueux *d'Artemisia herba alba* ne montre pas de toxicité aux doses de 150 mg/kg et 300 mg/Kg de poids corporel

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de ces extraits a été réalisée chez les souris model de la patte inflammatoire.

Un effectif de 42 souris a été utilisé, ces souris sont réparties en six lots (six souris par groupes), chaque groupe reçoit par voie orale respectivement la dose de 10 ml/Kg de poids corporel, soit d'une solution de NaCl (0,9%) (groupe témoin), soit de diclofinac 50 mg/Kg (groupe standard), soit de l'extrait test l'extrait aqueux *Artemisia absinthium* (150 mg / Kg de p.c et 300 mg/Kg de p.c) et l'extrait aqueux *d'Artemisia absinthium* (150 mg / Kg de p.c et 300 mg/Kg de p.c), une injection de carragénine à 0,5%, a lieu une heure après le prétraitement par les extraits.

L'œdème est évalué par la mesure du diamètre (mm) de la patte dans l'axe dorsal-plantaire avant et à des intervalles d'une heure, pendant 6 heures après injection de la carragénine.

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

Nos résultats montrent que l'injection de la carragénine (0,5%) entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris de tous les lots. De plus, l'administration orale du diclofinac (50 mg/Kg de p.c) prévient de façon significative l'inhibition de l'œdème de la patte de souris au cours de première, troisième et sixième heure de l'expérimentation avec de  $40,55 \pm 10,88$  %, de  $83,64 \pm 13,78$  % et de  $94,45 \pm 6,63$  %, respectivement. Par ailleurs les pourcentages d'inhibition de l'œdème inflammatoire après le traitement par l'extrait aqueux de *l'Artemisia absinthium* à la dose de 150 mg/Kg de p.c présente une activité inhibitrice de

l'œdème de la patte de souris à la première, troisième et sixième heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de  $43,53 \pm 22,48$ , de  $80,96 \pm 11,71$  % et  $90,66 \pm 10,90$  %. Cependant, à la dose de 300 mg/Kg de p.c les pourcentages de l'effet inhibiteur de l'extrait *d'Artemisia absinthium* administré par voie orale se manifeste de la première, troisième et sixième heure avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de  $77,37 \pm 13,94$  %, de  $86,71 \pm 11,85$  % et de  $96,73 \pm 4,26$  %.

Les résultats de cette étude montre que la dose de 300 mg/ Kg de p.c présente une efficacité sur l'œdème aigu de la patte de souris induit par la carragénine, avec une meilleure efficacité vis-à-vis de 150 mg /Kg de l'extrait aqueux de *l'Artemisia absinthium* et de l'anti-inflammatoire non stéroïdien (Diclofenac).

Les résultats des tests anti-inflammatoires des deux extraits aqueux (150 mg/kg et 300 mg/kg) montrent que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia herba alba* à la dose de 300 mg/kg possède une activité anti-inflammatoire appréciable avec un pourcentage de diminution du volume de la patte des souris allant de 18,89 % jusqu'à 1,08 %. Cette diminution en comparaison à celle du l'extrait aqueux à la dose de 150 mg/kg et à celle du diclofénac.

Les résultats obtenus après l'étude histologique sur les tissus de la patte des souris de tous les groupes montrent que l'infiltrat inflammatoire est intense, pseudo folliculaire, et polymorphe associé à de l'œdème dans les tissus de la patte des souris témoin, cependant les tissus des pattes des souris traitées par le diclofinac, l'infiltrat inflammatoire est persistant d'intensité moindre par rapport au témoin, de plus, les mêmes résultats sont observées dans les tissus du patte des souris traitée par les extraits aqueux à la dose de 150 mg/kg mais l'infiltrat inflammatoire d'intensité moindre par rapport au témoin et standard,.

Par contre les tissus des pattes des souris traitée par les extraits aqueux à la dose de 300 mg/kg montrent une absence complète de l'œdème inflammatoire.

L'ensemble de ces résultats montre que les deux extraits (l'extrait aqueux *d'Artemesia absinthium*, l'extrait aqueux *d'Artemesia absinthium* présentent un intérêt thérapeutique considérable comme composés alternatifs pour la prévention et le traitement de l'inflammation.

*PARTIE IV*

*HYPERICUM*

*CHAPITRE I:*

*Hypericum scarboides*

### 1. Introduction

Le genre de plante à fleurs de millepertuis (*Hypericum*, Hypericaceae) se compose d'environ 500 espèces d'arbustes, d'herbes et quelques arbres. L'*Hypericum* est l'un des neuf genres qui forment la famille Hypericaceae (Stevens 2007; APG III2009).

Malgré les tentatives de certains lexicographes à dériver d'hypo ou hyper-ericum (sous ou au-dessus la lande), le sens et la dérivation du mot *Hypericum* est tout à fait clair. Le nom a été donné par les anciens Grecs à une plante ou des plantes suspendues au-dessus de leurs personnalités religieuses pour conjurer le mal spiritueux. Malgré que les espèces utilisées pour cette nomination ne fussent pas connues avec la certitude, bien que divers auteurs ont suggéré que c'était *H. empetrifolium* Willd. ou *H. triquetrifolium* Turra (*H. crispum* L.). La première utilisation du nom et qui a été tracée jusqu'à présent était dans le deuxième siècle avant JC par Nikander. Le nom a été mentionné par Dioscoride (Mat., I. 3 bouchon. 171 Med.), Galen (12, 148) et Pline (26.s. 53) et l'illustration de Uperikon dans le Codex Aniciae Iulianae nunc Vindobonensis: 357R, représentant l'utilisation traditionnelle du nom, dépeint clairement *H. empetrifolium*. Dioscoride également décrit Akuron (MM 3, 172) probablement *H. triquetrifolium* ou *H. perforatum* L. et Androsaimon (MM 3, 173). Le nom semble avoir été donné à toutes les espèces qui avaient une sève rouge ou la sécrétion glandulaire qui maculait dans les doigts comme le sang, mais il est devenu associé notamment avec une espèce, *H. androsaemum* L., qui avait des capsules noires charnues avec la sève rouge.

Le pouvoir d'éloigner les mauvais esprits était particulièrement important à un moment où ces esprits étaient soupçonnés être plus abondante, par exemple, à l'Halloween (31 Octobre) et la Saint-Jean (23 Juin), et *Hypericum* a été repris sur le dernier jour pour décorer des images religieuses. La fête païenne célébrée, Saint-Jean a finalement été christianisée et dédiée à saint Jean-Baptiste, dont l'anniversaire était le 24 Juin; et la plante utilisée ce jour-là est devenu le millepertuis (Johanniskraut, Erba di San Giovanni, etc.). En régions éloignées de la mer Egée, où *H. empetrifolium* n'a pas eu lieu comme natif, d'autres espèces d'*Hypericum* ont été utilisés pour la décoration, en particulier *H. perforatum*, la plus fréquente espèce en Europe d'ailleurs. Ainsi, un nom médiéval pour cette plante était *daemonum fuga* («vol des démons» ou, plus lâche, «faire fuir les démons»). Il est maintenant souvent connu simplement comme St Le millepertuis, mais plus correctement de millepertuis. *Hypericum* a ainsi été associée à la pharmacie et le folklore pour de nombreux siècles; de sorte que sa «découverte» récente par la médecine occidentale n'est pas surprenante, si elle peut être considérée comme plutôt tardive. (Robson 1977, 1981, 1985, 1987, 1990, 1996, 2001)

## 2. Présentation de la plante :

### 2.1. Systématique de la plante :

*Hypericum* est l'un des neuf genres qui forment la famille Hypericaceae (Stevens 2007), qui appartient à l'ordre des Malpighiales (Gustafsson *et al* 2002;. Wurdack & Davis 2009). Cet ordre comprend cinq familles (Bonnetiaceae, Calophyllaceae, Clusiaceae.str. Podostemaceae et Hypericaceae) représentés par 94 genres et 1900 espèces (Ruhfel *et al.* 2011). Les Malpighiales contient environ 16000 espèces et constitue l'un des plus diversifié des classes (Korotkova *et al* 2009;. Wurdack & Davis 2009). Les Malpighiales constituent un grand pourcentage d'espèces dans la couche de moyen et petits arbuste dans les forêts tropicales (Davis *et al.* 2005). La plupart des lignées au sein des Malpighiales sont restés limités aux climats tropicaux. Seuls quelque lignées ont été transportées hors des tropiques et ont été couronnés de succès dans la zone tempérée nord, y compris les Violaceae (violettes), les Salicacées (saules), et L'*Hypericum* (Donoghue 2008).

### 2.2. Description botanique de la plante

- **Caractéristiques morphologiques :**

Les tiges mesurent 15-40 cm, dressées ou couchées à la base, pubérulent ou peu blanc ou brunâtre pubescent, glanduleux ou avec peu de glandes rouges peu importante. Les feuilles sur les tiges principales à 7-15 mm, étroitement oblongues ou elliptiques-oblongues linéaires, parfois révoluté, arrondi, papilleuses-pubérulente. L'inflorescence est corymbe, avec de nombreuses fleurs. (Robson, 1966, Robson & Poulter (1967). (Figure 31)



**Figure 31 :** *Hypericum scarboides*  
Robson & Poulter (1967)

### 2.3. Distribution géographique

Les membres de *Hypericum* sont distribués dans le monde entier, avec un principal centre de diversité des espèces dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. En régions froides et tempérées, *Hypericum* est originaire principalement des plaines et les zones montagneuses, tandis que dans les tropiques et les zones tempérées chaudes, il est presque toujours confinées aux habitats de montagne de haute altitude, la Cordillère des Andes. *Hypericum* se reproduit dans presque tous les types d'habitats tempérés, mais il est rare de trouver dans l'eau sauf dans de très faibles profondeurs.

### 3. Composition chimiques des espèces d'*Hypericum* :

La composition chimique de l'espèce *Hypericum* est composé de naphthodianthrones (en particulier d'hypericine et pseudohypéricine), les dérivés acylphloroglucinol (surtout hyperforin et adhyperforine), des flavonoïdes (en particulier la quercétine, quercitrine, hyperoside et biapigenin), tanins, n-alcanes, xanthones et Huiles Essentielles (Bombardelli et Morazzoni, 1995; Bruneton, 1995).

La présence et l'abondance de ces composés sont déterminées par de nombreux facteurs, y compris les espèces, partie de plante, la croissance et l'extraction. Ces différents constituants pourraient être indépendants, synergique, ou réactives à l'égard de bioactivités associés avec *Hypericum*. Parmi les composants :

#### 3.1. Les naphthodianthrones et les dérivés acylphloroglucino :

Les hypéricines en particulier, sont considérés comme les éléments caractéristiques d'espèces *Hypericum*, en raison de leur forte abondance comparés à d'autres plantes (Bombardelli & Marazzoni, 1995).

En fait, *Hypericum* est le genre connu d'être riche en anthrones comme l'hypéricines. (Barnes *et al.*, 2001). En général, l'hypericin est le naphthodianthrone le plus commun chez les espèces d'*Hypericum*, accompagné de pseudohypéricine, protohypéricine, et protopseudohypericin (Barnes *et al.*, 2001). Etant sensible à la lumière, le protohypéricine et protopseudohypericin peuvent être convertis en hypéricine et pseudohypéricine avec de la lumière. Seulement 60% de plus de 400 espèces d'*Hypericum*, appartenant tous à la plus avancée sections, sont connus pour contenir l'hypéricines (Robson, 1977). (Tableau 8)

**Table 8 :** Détermination quantitative d'hypericine, de pseudohypericine et d'hyperforine  
Ozkan et Matt (2013)

Espèces	Méthodes	Hypericine (Mg/g)	Pseudohypéricine (Mg/g)	Hyperforin (Mg/g)	Références
<i>H. androsaemum</i>	LC/MS	< 0.01	< 0.01	0.09	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. aviculariifolium</i>	LC/MS	0.66	0.58	0.02	
<i>H. bithynicum</i>	LC/MS	1.05	2.03	0.15	
<i>H. heterophyllum</i>	LC/MS	0.32	0.51	0.08	
<i>H. hirsutum</i>	LC/MS	0.54	0.38	0.20	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
	LC/MS	0.52	0.46	0.04	
<i>H. hyssopifolium</i>	HPLC	0.03	0.051	-	Ayan <i>et al.</i> (2004)
<i>H. linarioides</i>	LC/MS	0.34	0.56	< 0.01	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. lydium</i>	UV	1.21	-	-	Cirak (2006)
<i>H. montanum</i>	LC/MS	1.13	1.56	< 0.01	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
	LC/MS	0.74	2.10	3.45	
<i>H. montbretii</i>	HPLC	2.52	3.58	-	Ayan <i>et al.</i> (2008)
<i>H. nummularioides</i>	LC/MS	0.20	0.18	0.25	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. orientale</i>	LC/MS	0.02	0.04	0.03	
<i>H. organifolium</i>	LC/MS	< 0.01	0.01	< 0.01	Cirak <i>et al.</i> (2008)
	HPLC	-	0.93	1.63	
<i>H. pamphylicum</i> (e)	HPLC	0.00016	-	Trace	Ozkan et Matt (2013)
	LC/MS	0.29	0.23	0.14	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. perforiatum</i>	HPLC	-	2.62	1.84	Ayan <i>et al.</i> (2008)
	LC/MS	3.47	3.54	5.46	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. perforatum</i>	HPLC	2.9	-	-	Ozkan et Matt (2013)
	HPTLC	2.7	-	-	Kırmızıbekmez <i>et al.</i> (2008)
<i>H. pruinatum</i>	LC/MS	0.36	1.18	0.05	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. scabrum</i>	LC/MS	0.04	0.07	0.02	Yesilada <i>et al.</i> (1995)
	HPLC	0.0046	0.0035	-	
<i>H. triquetrifolium</i>	LC/MS	4.56	3.49	0.05	Smelcerovic <i>et al.</i> (2008)
<i>H. venustum</i>	HPLC	0.03	-	-	Ayan <i>et al.</i> (2004)

### 3.2. Les composés volatils

Les constituants volatils qui ont été le plus fréquemment rapporté d' *Hypericum* comprennent les hydrocarbures aliphatiques n-nonane et n-undécane, les monoterpènes  $\alpha$ - $\beta$ -pinène et, et la  $\beta$ -caryophyllène, l'oxyde caryophyllène et les sesquiterpènes. En effet, les compositions d'huiles essentielles d'environ 50 espèces différentes d' *Hypericum* ont jusqu'ici été identifiés (Erken *et al.*, 2001 ; Ozkan *et al* 2009). Parmi ces espèces : *H. maculatum* (Gudžić *et al.*, 2002) *H. perforatum*, *H. scabrum* , *H. scabroides* , *H. tetrapterum* (Rancic *et al.*, 2005\_) et *H. triquetrifolium* (Kilzil *et al.*, 2005)

D'autre part, les composés volatils de dix taxons ont été étudiée par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse (GC / MS).

L'Oxyde de caryophyllène a été constaté comme l'élément majeur dans *H. hyssopifolium* var. *microcalycinum* et *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* (Toker *et al.*, 2006).

Trente composantes représentant 92% du total des composés volatiles étaient caractérisés en *H. Bupleuroides*, et les sesquiterpènes tels que  $\beta$ -sesquiphellandrene (33,2%) et  $\beta$ -caryophyllène (20,2%) ont été assignés comme important composés (Demirci et Baser, 2006).

L'huile essentielle de *H. linarioides* a été trouvé pour contenir 74 composés, principalement  $\delta$ -cadinène (6,9%), (Z) - $\beta$ - farnésène (5,2%),  $\gamma$ -muurolene (5,5%), spathulenol (4,8%), hexahydrofarnesyl de l'acétone (4,5%) et selinene (4,0%). L'huile a été également caractérisée par une teneur élevée en sesquiterpènes (64,2% de l'huile total) (Cakir *et al.*, 2005).

*H. adenotrichum* (e), *H. calycinum*, *H. montbretii*, *H. cerastoides* et *H. perforatum* ont été étudiés et leurs principaux composés volatils ont été déterminées comme suit:

Germacrène D (38%) en *H. adenotrichum*;  $\alpha$ -pinène (24%) et de  $\beta$ -pinène (14%) en *H. calycinum*;  $\alpha$ -pinène (58%), l'undécane (5%) et de  $\beta$ -pinène (3%) en *H. cerastoides*;  $\alpha$ -pinène (26%),  $\beta$ -pinène (19%) et undécane (5%) en *H. montbretii*;  $\alpha$ -pinène (50%) et carvacrol (22%) en *H. perforatum* (Erken *et al.*, 2001).

L'huile volatile de *H. hircinum* a été obtenue avec un rendement de 0,73%. Les principaux composants de l'huile étaient déterminé comme suit,  $\alpha$ -pinène (88,3%), mircene (3%),  $\beta$ -pinène (2,8%),  $\beta$ -caryophyllène (1,5%) et (E) - $\beta$ - ocimène (1,4%) (Ozkan et Matt (2013))

### 3.3. Les composés phénoliques

*H. calycinum* et *H. perforatum* ont été étudiés pour déterminer leurs composés phénoliques. Cinq flavonoïdes (I3, II8-biapigenin, la quercétine, quercétine-3-O- $\alpha$ -arabinofuranoside, quercétine-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside, la quercétine-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) et une naphodianthrone (Hypéricine) ont été isolés et leurs structures ont été déterminées par Ultra violet (UV), Infra rouge (IR), résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse (MS) méthodes spectroscopiques en *H. hyssopifolium* (Cakir et al., 2003).

La quercétine, quercétine 3-glucoside, et la quercétine 3-galactoside ont été isolés à partir d'*H. pamphylicum* (e) (Ozkan et Matt (2013). De plus, les travaux de Dogrukol-Ak *et al.*, (2001) ont réalisé une électrophorèse capillaire de zone (CZE) pour la déterminer la rutine dans un extrait éthanolique des parties aériennes d'*H. perforatum*, la quantité de la rutine dans la matière végétale totale était de 0,21% (Dogrukol-Ak *et al.*, 2001).

Par ailleurs, deux dérivés de l'acide cafféoylquiniques (acide chlorogénique chlorogénate et de butyle), sept flavonoïdes (quercétine, quercitrine, hypéroside, isoquercitrine, miquelianin, rutine et I3, II8-biapigenin) et deux flavanols [(+) - catéchine et (-) - Épicatéchine] ont été isolées à partir de *H. calycinum* (Kirmizibekmez *et al.*, 2008a). Quatre glycosides de quercétine majeures (rutine, miquelianin, hypéroside et quercitrine) ont été séparés et déterminé quantitativement dans des extraits méthanoliques d'*H. perforatum* en employant chromatographie de haute performance sur couche mince (HPTLC)–densitométrie (Kirmizibekmez *et al.*, 2008b).

D'autre part, les flavonoides représentent environ 4 % de la drogue végétale séchée. L'hypéroside prédomine (1 à 2 %), puis viennent la rutine et l'isoquercitrine. Les autres dérivés sont détectés en plus faible proportion. Des bisflavones sont également retrouvées. Les tanins représentent 6 à 12 % et sont surtout de type catéchique. Le premier glycoside isolé sous forme cristalline était l'hyperoside

Les biflavones sont représentées par trois constituants, la 3,8''-biapigénine (0.1 à 0.5 %) et l'amentoflavone (3',8''-biapigénine 0.01 à 0.05 %), qu'on trouve principalement dans les fleurs et les boutons floraux, et le 6,8''-diquercétine.

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, de saveur astringente,. Ils représentent 6.3 à 12.1 % de la drogue.

Leur teneur augmente jusqu'à la floraison puis elle diminue et elle diffère selon l'organe. Ces tanins sont des procyanidines oligomériques. Les précurseurs biogénétiques sont identifiés

comme la catéchine et l'épicatéchine. Les proanthocyanidines ont des effets antimicrobiens et antiviraux. Les procyanidines B2 et C1 solubilisent l'hypéricine et la pseudohypéricine.(Touafek *et al.*, 2012)

Les xanthones sont des constituants typiques de la famille des Clusiaceae et on les trouve chez plusieurs espèces du genre *Hypericum* tel que *H. chinense*, *H. beanii*, *H. mysorensis*, *H. ericoides*, *H. canariensis* (Li *et al.*, 1997 ; Shiu & Gibbons, 2006))

Les autres composés bioactifs potentiels qui étaient identifiés des espèces d'*Hypericum* incluent également : les composés volatils *H. microcalycinum*, révélant le composé majeur de l'oxyde caryophyllène (Toker *et al.* 2006), du spathulenol de *H. thymopsis* (Ozkan *et al.*, 2009.), les constituants en acides gras de *H. scarboïdes*, et *H. amblysepalum lysimachioides* représentés par l'acide linoléique et l'acide palmitique comme composants principaux (Ozen et Basham 2003. Ozen *et al.*, 2004b). En outre, il existe de nombreux constituants inconnus qui peuvent contribuer à l'efficacité médicinale de matériaux d'*Hypericum*.

#### **4. Utilisation thérapeutique du genre *Hypericum* :**

Dans l'Antiquité, Dioscoride (médecin et botaniste grec, auteur d'un traité : Sur la matière médicale) s'en servait pour tout : comme diurétique, emménagogue, pour baisser la fièvre, guérir les sciaticques et les brûlures. L'usage populaire en avait fait une panacée capable également d'assainir les plaies, de chasser les vers, de résister au venin, de fortifier les articulations et de soulager les coliques néphrétiques. Des études de laboratoire ont réellement démontré les propriétés cicatrisantes et antiseptiques de son « huile rouge ». Ce qui explique pourquoi l'huile de millepertuis est efficace pour soigner les brûlures légères, les érythèmes fessiers, les inflammations de la peau consécutives aux traitements radiologiques, les ulcères variqueux, les escarres des personnes toujours allongées et les plaies difficiles à cicatrifier.

On l'emploie également avec succès contre les lésions eczémateuses et dans le traitement d'appoint adoucissant et antiprurigineux des affections dermatologiques, comme trophique protecteur dans le traitement des crevasses, écorchures, gerçures, manifestations articulaires douloureuses et contre les piqûres d'insectes (Touafek *et al.*, 2012) ).

Du point de vue médicinal l'*Hypericum* possède une grande réputation dans la médecine traditionnelle.

Il est utilisé dans le traitement des infections virales et bactériennes, la cicatrisation des plaies, l'inflammation et l'anxiété. La plante possède également des propriétés anti-dépressives vraisemblablement par une activité IMAO, en agissant sur la MAO de type A.

Le niveau élevé en flavonoïdes dans les espèces du genre *Hypericum* est aussi responsable de certains aspects de leur utilisation dans la médecine traditionnelle et scientifique comme : Renforceur capillaire, anti-inflammatoire, diurétique et cholagogue.

L'étude de la bioactivité des composés individuels et leur efficacité collective dans différentes préparations de matériaux d'*Hypericum* est crucial pour valider leur usage médicinal et assurer la sécurité. Il sera également possible d'utiliser la relation constitutive et la bioactivité de prédire l'efficacité des différentes espèces en fonction de leur profil phytochimique

Sur un autre plan, l'activité antioxydante des extraits de l'éthanol et de l'eau des fleurs d'*H. venustum* a été étudiée. Ils étaient avérés posséder un fort pouvoir réducteur des radicaux libres et une activité de piégeage de peroxyde d'hydrogène, ainsi qu'une capacité de chélation de métal (Spiteller *et al.*, 2008).

L'activité antioxydante d'*H. lysimachioides* var. *lysimachioides* a été étudiée *in vitro*, les chercheurs ont observé que l'activité antioxydante des extraits d'éthanol d'*H. lysimachioides* sont comparables à la vitamine E, et il était conclu que l'utilisation de cet extrait pouvait être utile dans la gestion des maladies cardiovasculaires dans lesquelles l'athérosclérose est importante (Hakimoglu *et al.*, 2007).

De plus, l'activité antiradicalaire 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) des échantillons de *H. pamphylicum* en fructification et en floraison ont été étudiés, les deux échantillons de plantes étaient actifs dans le test de l'activité antiradicalaire DPPH qui a été effectué en comparaison avec l'acide ascorbique (Eroglu, 2007). Les échantillons d'*H. montbretii* et *H. perforatum* en fructification et en floraison étaient actives, contre ascorbique et l'acide  $\alpha$ -tocophérol (Oktayoglu, 2003).

Par ailleurs, l'activité antioxydante des composés phénoliques isolés d'*H. hyssopifolium* subsp. *elongatum* var. *elongatum* était déterminés, et tous les composés se sont avérés actifs (Cakir *et al.*, 2003). L'activité de piégeage des radicaux libres des composés isolés à partir de *H. calycinum* a révélé que ces composés montrent une forte activité de piégeage de DPPH et d'oxyde nitrique (NO) de façon dépendante à la concentration, (+) - Catéchine et (-) - épicatechine étaient les composés les plus actifs (Kirmizibekmez *et al.*, 2008a).

D'autre part, les travaux d'Ozturk, (2001), sur le mécanisme de l'activité analgésique due à *H. perforatum*, démontré que les mécanismes endogènes d'opioïdes liés aux récepteurs OP1-jouent un rôle important dans l'analgésie induite par *H. perforatum* (Ozturk, (2001)).

D'autre part, l'effet de cicatrisation de l'extrait d'*H. perforatum* a été testé sur les fibroblastes embryonnaires de poulet en culture. Il a été rapporté que cet extrait présente une activité de guérison dont le mécanisme d'action est similaire à celui de l'extrait de tetraté de *Centella asiatica* (Ozturk *et al.*, 2007).

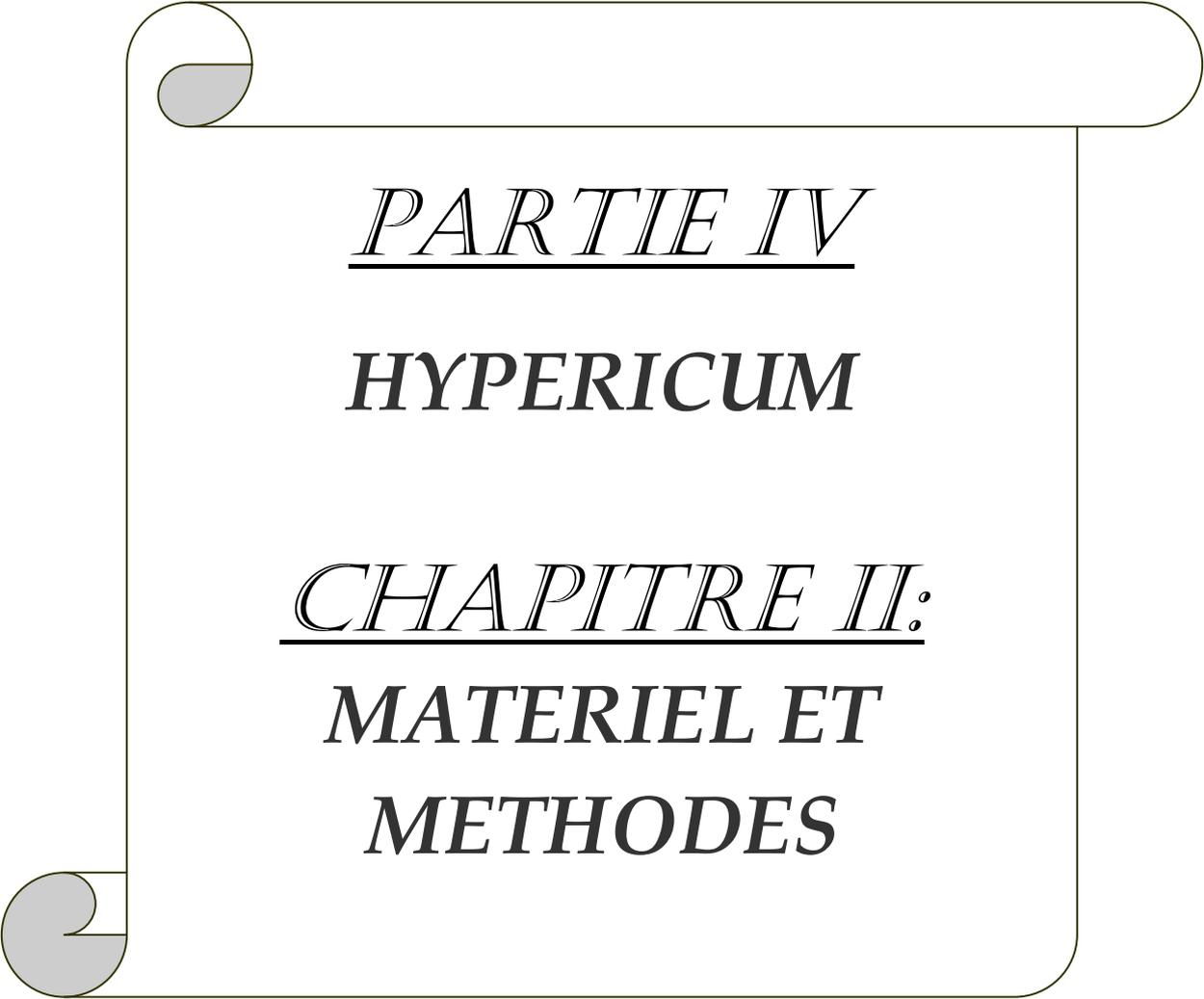
De plus, les travaux d'Ozturk *et al.*, (2002) ont rapporté l'effet anti-inflammatoire probable d'*H. triquetrifolium* sur un modèle d'inflammation aigue induit par la carragénine chez le rat (Ozturk *et al.*, 2002). De plus l'extrait total de cette meme plante *H. triquetrifolium* montre une activité anti-nociceptive chez la souris (Apaydin *et al.*, 1999).

Par ailleurs, une étude a rapporté l'effet *in vitro* de 3 espèce d'*Hypericum* (*H. perforatum*, *H. empetrifolium* et *H. triquetrifolium* sur la myeloperoxydase polymorphonu leucocytaire clair - humaine (MPO). Chaque extrait des espèces d'*Hypericum* réduit l'activité peroxydative et l'activité de chloration de leucocyte humain MPO de manière dépendante de la concentration. L'activité inflammatoire de ces espèces peut être lié avec l'inhibition de l'activité MPO (Pabuccupglu *et al.*, 2003).

D'autres études ont souligné l'effet antidépresseur de certaines espèces d'*Hypericum* sur des modèles animaux. Ces études ont noté une activité antidépresseur de l'extrait alcoolique d'*H. Calycinum*, dont les effets sur le système nerveux central des souris sont presque égaux à ceux de l'extrait préparé à partir de *H. perforatum*. *H. hyssopifolium* ssp.

Cependant, *elongatum* var. *elongatum*, semble n'avoir aucune activité antidépresseur (Ozturk, 1997).

Les effets d'*H. perforatum* et *H. calycinum* sur le système nerveux central ont été étudiés en utilisant différents modèles d'expérimentation de comportement, y compris le teste de la nage, l'activité locomotrice. Les résultats trouvés montrent que les extraits préparés à partir d'*H. perforatum* et *H. calycinum* étaient aussi efficace que les médicaments antidépresseurs, et le désipramine et le trimipramine utilisés comme référence. Cette conclusion suggère que l'effet antidépresseur de *H. calycinum* peut être plus puissant que celui d'*H. perforatum* et peut être utilisé à des fins thérapeutiques dans le traitement de la dépression (Ozturk *et al.*, 1996).



*PARTIE IV*

*HYPERICUM*

*CHAPITRE II:*

*MATERIEL ET*

*METHODES*

**1. Matériel végétal :**

En période de floraison les parties aériennes d' *H. scabroides* ont été recueillies dans la région de l'Anatolie (Erzincan, 1550) en 2006. Les spécimens ont été identifiés et les échantillons ont été déposés dans l'herbier de l'Université d'Istanbul, Faculté de pharmacie (ISTE). Numéro ISTE est 85343.

**2. Matériel biologique**

L'étude est réalisée sur des souris males et femelles de souche WISTAR pesant  $25 \pm 5$  g fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Ces animaux sont élevés au niveau de l'animalerie de l'université de Mostaganem. Après une période d'adaptation, les souris sont pesées, marquées et soumises à jeûne pendant une nuit avant leur utilisation.

**3. Préparation de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scabroides*:**

L'extraction a été réalisée dans le laboratoire de pharmacognosie, Istanbul, Turquie. Ces parties ont été stockées à température ambiante à l'abri de la lumière.

Le matériel végétal a été séché et broyé en poudre, 10g ont été extraites à température ambiante avec de le méthanol (96%) (100ml) en macération (3 fois par 24h) et cette procédure a été répétée deux fois. L'extrait est filtré a été séché sous pression réduite à une température inférieure à 45 ° C. l'extrait de méthanol brut a été lyophilisé et stocké à -20 ° C.

**4. Test de toxicité :**

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

**4.1. Protocole :**

Le test est réalisé sur un effectif de 6 souris pesant  $25 \pm 5$ g réparties, ces souris reçoivent par voie orale 10 ml/Kg de poids corporel de la solution test à la dose de 200 mg/Kg de poids corporel de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides*.

## 5. Analyse chimique d'*Hypericum scarboïdes*

### 5.1. Agents chimiques

L'hypericin, l'acide chlorogénique, la rutine, l'hypéroside, l'isoquercitrine, la quercitrine, le kaempférol, la quercétine, l'amentoflavon, l'hyperforine, l'AlCl<sub>3</sub> et le D-galactose sont obtenus auprès de Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Allemagne).

Le Pseudohypericine est obtenu à partir de PhytoPlan (Heidelberg, Allemagne).

### 5.2. Échantillons :

L'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboïdes* a été préparé comme décrit au dessus.

### 5.3. Solvants :

L'eau ultrapure Milli-Q est obtenue à partir de Millipore (Billerica, MA), l'HPLC grade acétonitrile, le méthanol, l'acétate d'éthyle et le dihydrogénophosphate de sodium dihydraté sont obtenus de Merck (Darmstadt, Allemagne) et l'acide ortho-phosphorique à 85% est obtenu auprès de Fluka (Steinheim, Suisse).

### 5.4. Instrumentation :

Le système HPLC consiste en une pompe à eau quaternaire 2690 Alliance. La détection a été réalisée avec un accordable détecteur Waters visible à UV avec travaillant dans la gamme de 590 à 360 nm et un détecteur à barrette de diodes Waters 996 travaillant dans la gamme de 200 à 650 nm (Milford, MA, USA). Les données chromatographiques ont été enregistrées et traitées par le logiciel Waters Millennium.

Pour les analyses par chromatographie liquide (LC) - thermospray (TSP) spectrométrie de masse (MS), triple spectromètre de masse quadripolaire TSQ-700 MAT Finnigan (San Jose, CA, USA) équipé d'un système de données 5100DEC, de l'ICIS et une interface TSP-2, a été utilisé. Le système HPLC inclus une pompe Waters 600-MS (Bedford, MA, USA) équipée d'un contrôleur de gradient, un détecteur accordable UV Vis-Waters 486 et un module d'injection automatique d'échantillon Waters 717.

Pour la LC-électropulvérisation (ESI) analyse de MS) une LCQ ion spectromètre de masse à piège Finnigan MAT équipé d'un système de données Microsoft Windows NT et une interface ESI ont été utilisés. Le système HPLC comprend une pompe à Thermo Séparation de Produits P4000 (San Jose, CA, USA), et un détecteur accordable à Thermo séparation de Produits UV1000.

Les conditions de spectrométrie de masse ont été optimisées pour obtenir une sensibilité maximale. Les valeurs TSP: source de température de bloc 230°C, la température vaporisé

90°C, la tension de décharge 2000 V et la tension répulsive 30 V. la tension du multiplicateur d'Electron: 1800 V, dynode: 20 kV. Filament: mode arrêt. Spectres complets de m/z 200 à 700 u en mode d'ions positifs ont été obtenus (temps de cycle 1 s). Concentration de l'extrait d' *Hypericum*: 30 mg / ml (méthanol). Injection: volume: 20 µl.

Les valeurs ESI étaient: tension de la source de 3,6 kV, débit de gaz gaine 62 p.s.i, l'auxiliaire d'écoulement de gaz 9 p.s.i. la tension capillaire -16 V et la température capillaire 200°C (1 p.s.i = 6894,76 Pa). Les spectres complets de m/z 200 à 700 u en mode d'ions négatifs ont été obtenus (temps de cycle 1 s). Volume d'injection de l'extrait d'*Hypericum*: 20 µl d'une solution de 1 mg/ ml (méthanol).

### **5.5. Procédé de HPLC analytique :**

Les analyses ont été effectuées à 30°C sur un RP-18 colonne 201 TP 54 (250x4.6 mm ID, µ5 m, 300 Å °, Vydac Séparation Groupe Hesperia, CA, USA), protégé par un préfiltre DE colonne universelle à Connexion directe de 2 µm porosité Alltech (Deerfield, IL, USA).

La séparation chromatographique a été réalisée en utilisant trois solvants [acide phosphorique A=water-85% (99,7: 0,3 v / v); B = acétonitrile; C = méthanol] dans un programme de gradient linéaire. Le débit était de 1,0 ml / min, le volume d'injection était de 10 µl et le volume de séjour était de 1,5 ml (le volume de séjour donné était basé sur l'utilisation du système Waters Alliance: si un autre système ont été utilisés, les ajustements serait être nécessaire). Les pics ont été détectés à 360 nm et à 590 nm. (Brolis *et al.*, 1998)

## 6. Activité anti-inflammatoire :

### 6.1. Prétraitement par l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboide* (*Hyp sc*)

Une heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 18 souris est divisé en 3 groupes, chaque groupe reçoit par voie orale 10 ml /Kg de poids corporel les solutions expérimentales comme suit :

- ✓ **Groupe témoin** (n=6): une solution de NaCl (0,9%).
- ✓ **Groupe standard** (n=6): un anti-inflammatoire de référence (diclofénac) à la dose de 50 mg/Kg dissous dans du NaCl 0,9%).
- ✓ **Groupe *Hyp sc*** (n=6): Extrait méthanolique d'*Hypericum scarboide* (200 mg/Kg de PC dissous dans du NaCl 0,9%).

### 6.2. Induction de l'inflammation

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait, le modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte de la souris induit par la carragénine à été sélectionné (Winter *et al.* 1962).

#### 6.2.1. Injection de la carragénine

Une heure après l'administration de l'extrait, chaque animal reçoit par injection sub-plantaire dans la patte arrière droite, 0,1 ml d'une suspension de carragénine à 0.5% dissous dans du NaCl 0,9%.

#### 6.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

##### ➤ Mesure de l'œdème

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

L'évolution de l'œdème de la patte arrière droite a été déterminée à 1 h, 3h et 6 h.

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

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

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

D<sub>n</sub> : diamètre de la patte la i<sup>ème</sup> heure après l'injection de la carragénine.

D<sub>0</sub> : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

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

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

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

### **7. Analyses statistiques**

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. Et analysés par le test *t* de *Student*. Les valeurs de  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  ;  $p < 0,001$  ont été considérés comme significatifs (\*), très significatifs (\*\*) et hautement significatif (\*\*\*) respectivement.

*PARTIE IV*

*HYPERICUM*

*CHAPITRE III:*

*RESULTATS*

### 1.Extraction

L'extrait méthanolique obtenue à partir de la partie aérienne de *H. Scabroides*: 7,74%

### 2. Test de toxicité

L'administration orale de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* à la dose de 200 mg/Kg p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigue au cours des 24 heures d'observation (de comportement des animaux, mort, coma...) (tableau 9)

**Tableau 9:** Test de toxicité à la dose de 200 mg/Kg de p.c de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* au cours des 24 heures.

	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot (200 mg/Kg de p.c)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

### 3. Analyse de la composition chimique

#### 3.1. Composés chimiques de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides*

Le tableau 10, a révélé la présence de certains composés en trace (pseudohypericin, hypericin, kaempferol). De plus, les valeurs de l'acide chlorogénique, de la rutine, de l'hyperoside et l'isoquercitrin de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* varient entre 0.014% et 0.034%.

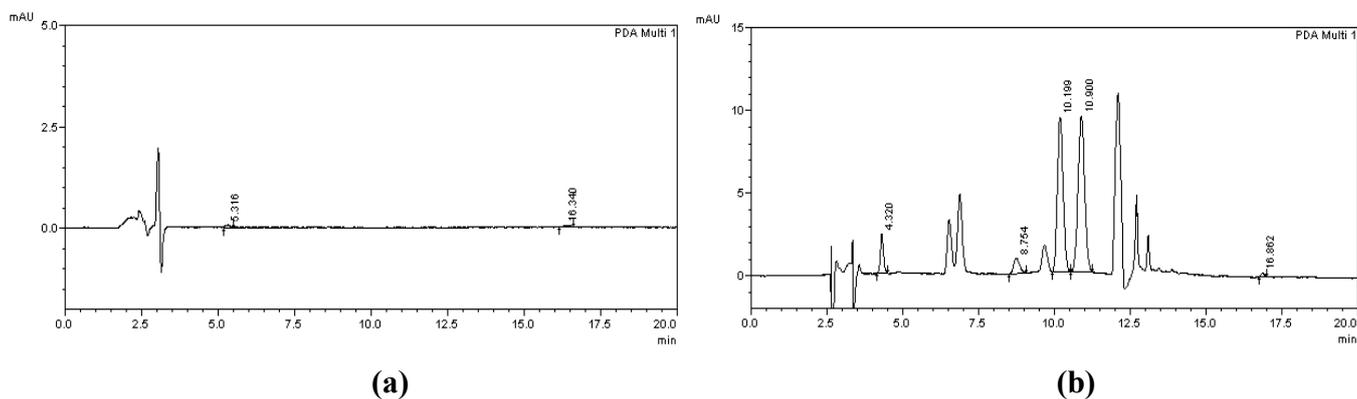
#### 3.2. Le liquide de chromatographie

Les chromatogrammes du liquide de chromatographie de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* sont représentés dans la figure 27:

A 590 nm, l'investigation phytochimique a révélé la présence de pseudohypericine et l'hypericine. De plus, à 360 nm, la présence de l'acide chlorogénique et la rutine a été notée.

**Tableau 10:** Valeurs de composés chimiques de l'extrait méthanolique *d'Hypericum scarboides* %, tr (trace), nd (non déterminé)

Composes	Retention temps (min)	Equation de calibration des valeurs	regression Linéaire ( $r^2$ )	Valeurs de l'extrait de HSM en %
Pseudohypericin	4.86	$y= 2.582269e+007x+1741.874$	0.9998	trace
Hypericin	13.93	$y= 6.03411e+007x+297.2292$	0.9999	trace
Chlorogenic acid	4.33	$y= 5110294x + 1490.398$	0.9999	$0.014 \pm 0.0005$
Hyperoside	10.19	$y= 2.849917e+007x+526.7023$	0.9999	$0.016 \pm 0.0005$
Isoquercitrin	10.75	$y= 1.671137e+007x -3712.788$	0.9999	$0.034 \pm 0.0005$
Quercitrin	14.41	$y= 1.205178e + 007 -3518.974$	0.9999	nd
Kaempferol	17.09	$y= 5.183916e+007x +4373.856$	0.9999	trace
Quercetin	17.84	$y= 3.688175e+007+18905.43$	0.9999	nd
Amentoflavon	20.27	$y= 2.207879e+007+772.0972$	0.9996	nd
Hyperforin	27.75	$y= 6212343x$	0.9997	nd

**Figure 27:** Chromatogramme LC de l'extrait méthanolique *d'H. scabroides* \* Pseudohypericine (1) , hypericine (2) dans l'extrait méthanolique *d'H. scabroides* à 590 nm (Figure 27 a)

\* Chlorogenic acid (1), rutin (2), hyperoside (3), isoquercitrin (4), kaempferol (5) dans l'extrait méthanolique *d'H. scabroides* à 360 nm (Figure 27 b)

**4. Activité anti-inflammatoire :****4.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte chez les souris :****4.1.1. Groupe Témoin :**

La carragénine entraîne une augmentation significative du volume de la patte de souris témoins à la première heure de l'expérimentation comparée à la troisième heure ( $52,84 \pm 9,64$  % et  $36,97 \pm 6,88$  %), de plus une augmentation significative du volume de la patte est observé à la troisième heure comparée à la sixième heure ( $36,97 \pm 6,88$  % et  $22,94 \pm 9,89$  %), alors qu'aucune augmentation significative n'est observée entre la 1<sup>ère</sup> et la 6<sup>ème</sup> heure respectivement ( $52,84 \pm 9,64$  %, et de  $22,94 \pm 9,89$  %) (Figure 28)

**4.1.2. Groupe standard :**

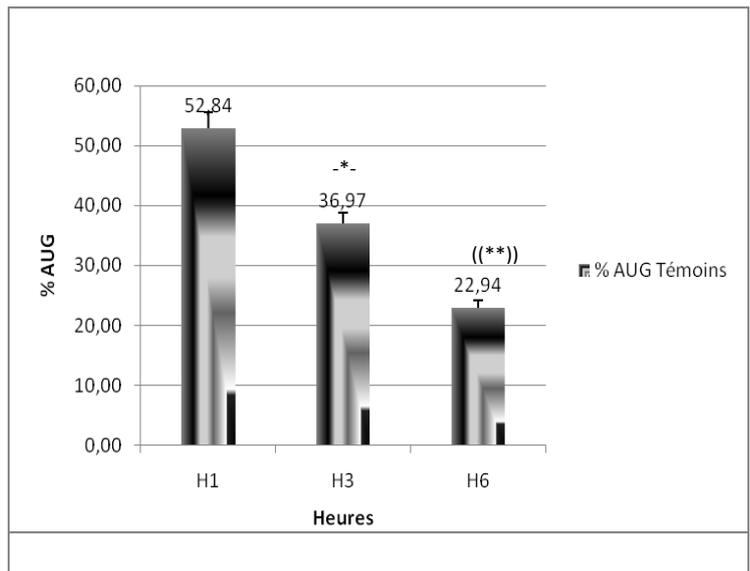
Pendant les six heures d'administration de diclofénac à la dose de 50 mg/kg ne montre une différence significative d'augmentation du volume de la patte de souris ( $36,40 \pm 16,66$  %,  $36,18 \pm 0,95$  % et de  $20,80 \pm 7,54$  %). (Figure 29)

**4.1.3. Groupe traité par l'extrait méthanolique d' *H. scabroides* à la dose de 200 mg/Kg de P.C:**

L'administration orale de l'extrait d'*Hypericum scabroides*, à la dose de 200 mg/Kg de P.C, aucune différence significative du volume de la patte des souris n'a été observée pendant les six heures de l'expérimentation. ( $8,55 \pm 3,74$  %, de  $21,72 \pm 5,97$  % et de  $20,16 \pm 5,50$  %). (Figure 30)

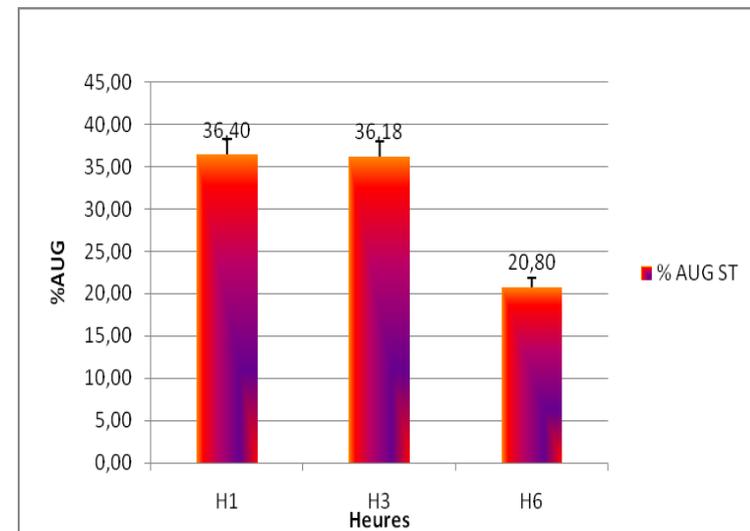
**Figure 28 :** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris Témoins

P < 0,05 \* significatif, p < 0,01 \*\* très significatif, p < 0,001 \*\*\* hautement significatif  
 comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 (\*\*)) H4 [\*], H5 [\*\*], H6 " \* "



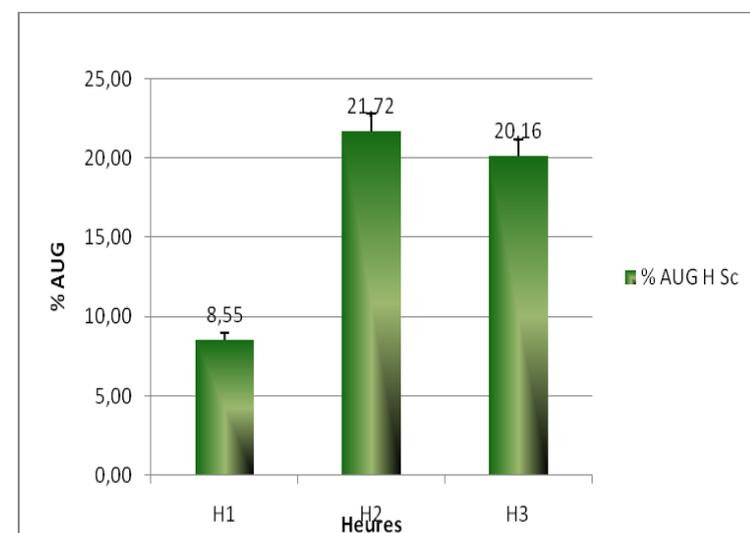
**Figure 29 :** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris des souris standards

P < 0,05 \* significatif, p < 0,01 \*\* très significatif, p < 0,001 \*\*\* hautement significatif n=6  
 comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 (\*\*)) H4 [\*], H5 [\*\*], H6 " \* "



**Figure 30 :** Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris des souris traitées par Hypericum scarboïdes (200 mg/kg PC)

P < 0,05 \* significatif, p < 0,01 \*\* très significatif, p < 0,001 \*\*\* hautement significatif n=6  
 comparaison entre les heures (H1-\*, H2 (\*), H3 (\*\*)) H4 [\*], H5 [\*\*], H6 " \* "



**4.2. L'activité d'inhibition de l'œdème (%INH):**

Pour l'évaluation du test anti inflammatoire nous avons utilisé le test d'inhibition de l'œdème de la patte postérieure de souris.

**4.2.1. Groupe standard :**

L'activité d'inhibition de l'œdème de la patte des souris standards est significativement élevée à la première heure comparée à la troisième heure. De plus, à la sixième heure cette activité est significativement réduite. (Figure 31)

**4.2.2. Groupe traité par l'extrait d'*Hypericum Scarboides* à la dose de 200 mg/Kg de P.C :**

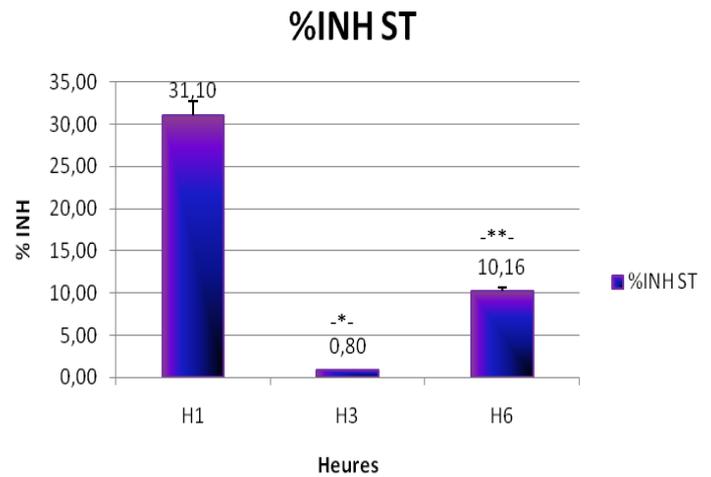
L'effet inhibiteur de l'extrait *H.Scarboides* à dose 200 mg/kg de P.C se manifeste dès la première heure qui suit l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 78%; cette activité est maintenue durant toute la période de l'expérimentation (6 heures), avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 40% et de 12% respectivement. (Figure 32)

**4.2.3. Groupe standard comparé au groupe traité par l'extrait d'*Hypericum Scarboides* à la dose de 200 mg/Kg de P.C :**

La comparaison entre les deux groupes montrent que l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* à la dose de 200 mg/Kg de P.C est significativement plus importante par rapport à celle du diclofenac particulièrement à la troisième heure ( $p < 0.001$ ). De plus, à la première heure ses valeurs présentent une différence significative ( $p < 0.05$ ). Cependant cette activité est similaire à la fin de l'expérimentation. (Figure 33)

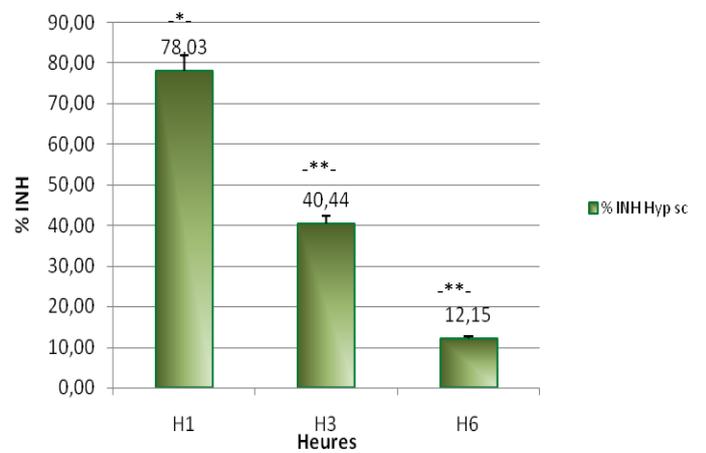
**Figure 31:** Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard traité par diclofénac pendant 6h.

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
comparaison entre les heures (H1-\*,H2 (\*), H3 (\*\*), H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )



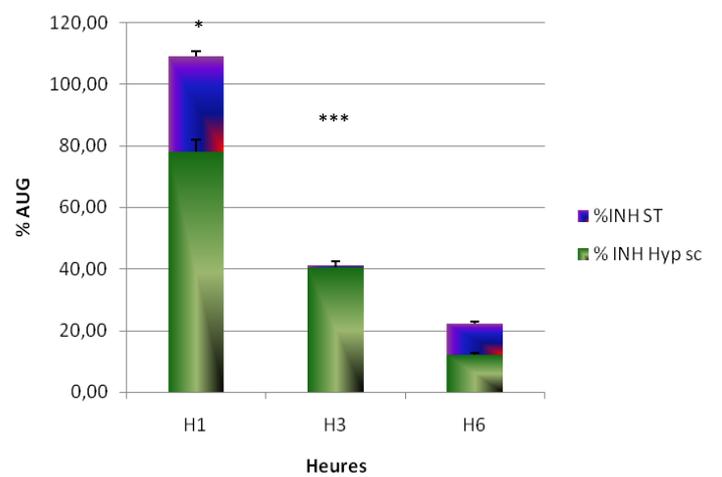
**Figure 32:** Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* (200 mg/Kg PC) pendant 6h.

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
comparaison entre les heures (H1-\*,H2 (\*), H3 (\*\*), H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )



**Figure 33 :** Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des souris standard comparées aux souris traitées par l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* (200 mg/Kg PC) pendant 6h.

p<0,05\*significatif, p<0,01\*\* très significatif, p<0,001\*\*\* hautement significatif, (n=6)  
comparaison entre les heures (H1-\*,H2 (\*), H3 (\*\*), H4 [\*], H5 [[\*]], H6 " \* " )



L'objectif de notre étude est d'une part de réaliser l'extraction d'un extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides*, de déterminer la toxicité aiguë de cet extrait et de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* à la dose de 200 mg/Kg de poids corporel sur un le modèle de la patte inflammatoire induit par la carragénine selon la méthode de Winter *et al.*, 1962.

Nos résultats montrent qu'après une macération dans le méthanol, l'extrait obtenu est un extrait méthanolique brut. En effet, L'extraction est une étape importante impliquée dans la découverte de composés bioactifs à partir de matières végétales. (Fougère et Wynn, 2007).

De plus, l'étude réalisée sur la toxicité de cet extrait n'a révélé aucune effet toxique de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* à la dose de 200 mg/kg de poids corporel aux souris, indiquant que cet extrait n'est pas toxique à cette dose expérimentale (200 mg/Kg de PC).

En effet, certains études ont rapporté la toxicité d'*Hypericum perforatum*, cette plante contient de l'hypéricine, qui est une substance considérée comme toxique, c'est un pigment fluorescent, elle est considérée comme un dérivé de la naphthodianthrone. Ce pigment se trouve dans les petites taches noires à peine visibles à l'œil nu qui se trouvent sur les feuilles et les pétales. Elle exerce une action photodynamique sur la peau (Araya and Ford 1981). Son ingestion a causé des problèmes de peau chez des bovins, des chevaux, des lapins, des moutons et des porcs. Ces problèmes sont apparus sur la peau blanche ou claire, et la peau foncée n'a pas été affectée. Certains animaux ont eu des symptômes graves comme des convulsions, une démarche chancelante et le coma. De plus, une dégradation de la qualité de la laine des moutons et de la viande des animaux affectés a été constatée. La réaction est plus prononcée en cas d'ingestion de plantes fraîches; bien que les plantes séchées perdent 80 % de leur teneur en hypéricine, elles peuvent tout de même causer une photosensibilisation (Araya et Ford 1981, Cooper et Johnson 1984, Crompton *et al.* 1988).

Par ailleurs, une équipe allemande a réalisée une étude comparant les effets du millepertuis et de l'imipramine (antidépresseur tricyclique, de prescription usuelle pour le traitement de la dépression) dans le traitement des dépressions légères à modérées. Cette étude a montré que le millepertuis interagit essentiellement avec des médicaments à faible marge thérapeutique en diminuant leurs taux sanguins, comme les contraceptifs oraux, les anticoagulants oraux, la ciclosporine, la digoxine, la théophylline...dont l'efficacité se trouve ainsi diminuée. De plus,

ils ont souligné quelques effets indésirables de cette plante, sachant que millepertuis contient des substances photosensibilisantes, l'ingestion de la plante peut être à l'origine de dermatites intenses et de photosensibilisation, en particulier à haute dose ou en cas d'utilisation chronique. Les manifestations de la photosensibilisation sont, chronologiquement les brûlures, inflammation des muqueuses, les œdèmes de la face, des oreilles, des paupières, et les suppurations des œdèmes, croûtes, nécrose de la peau. D'autres effets indésirables sont possibles à haute dose comme les troubles digestifs (nausées, douleurs abdominales, anorexie...), les allergies cutanées, les troubles neurologiques avec somnolence et confusion, et les convulsions (De Smet, 1996).

A un effet toxique aussi important, d'autres composés tel que la cicutoxine contenue dans *Cicuta virosa* provoque chez l'homme des brûlures endobuccales et des vertiges qui surviennent 20 min après l'ingestion de la toxine. De même, la ricine contenue dans *Ricinus communis* est responsable des nausées qui sont suivies par des vertiges, des diarrhées, d'une insuffisance rénale. (Reichl *et al.*, 2004)

Par ailleurs, quelques glycosides triterpéniques, peuvent exercer un effet toxique moins important, tel que l'adonitoxine (*Adonis vernalis*) qui provoque des nausées et des vomissements et l'oléandrine (*Nerium oleander*) qui induit une défaillance cardiocirculatoire qui peut entraîner la mort. (Reichl *et al.*, 2004).

Sur un autre plan, l'étude phytochimique d'*H. scarboïdes* a révélé la présence de certains de composés (isoquercitrin, hyperoside, rutin et l'acide chlorogénique), qui sont impliqués dans l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique.

L'analyse phytochimique préliminaire de l'extrait méthanolique d'*H. scarboïdes* a révélé la présence de composés flavonoïdes.

Ces flavonoïdes sont connus pour être des cibles de prostaglandines, qui sont impliqués dans la phase finale de l'inflammation aiguë et la perception de la douleur (Morimoto *et al.*, 1988)

De plus, la survenue des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboïdes* est largement documenté. Le contenu de ces métabolites est connu pour être élevé dans les fleurs au stade de bourgeonnement juste avant la floraison (plus que 12% de poids sec) (Hansen *et al.*, 1999).

Par ailleurs, l'étude de Umek *et al.*, (1999), a rapporté que le contenu en rutine dans *H. perforatum* est positivement corrélé à l'altitude de la localité dans laquelle la plante se développe.

Le flavonol quercétin et ses dérivés glycoside, la rutine, l'hyperoside, l'isoquercitrine, la quercitrin, les biflavones 13,118-biapigenine et l'amentoflavone sont décrits comme étant les plus communs dans les extraits de médicaments. Récemment, une étude détaillée par couplage en ligne d'HPLC avec UV, NMR et MS, a permis la détermination de deux autres flavonoïdes d'*H. perforatum*: la quercétine-galacturonide et la quercétinarabinoïde (Umek *et al.*, 1999).

Par ailleurs, d'autres travaux ont permis l'isolement de plusieurs composés à partir d'*H. calycinum* ces composés sont deux dérivés de l'acide caféoylquinique (acide chlorogénique chlorogénate et de butyle), sept flavonoïdes (quercétine, quercitrine, hyperoside, isoquercitrine, miquelianin, rutine et 13, 118-biapigenin) et deux flavanols [(+) - catéchine et (-) - Épicatéchine]. De plus, quatre glycosides de quercétine majeurs (rutine, miquelianin, hyperoside et quercitrine) ont été séparés et déterminés quantitativement dans des extraits méthanoliques d'*H. perforatum* (Kirmizibekmez *et al.*, 2008b), ces résultats vont dans le même sens que nos résultats.

En outre, Ozkan et Mat (2013) ont rapporté la détermination quantitative d'hypericine, de pseudohypericine et d'hyperforine pour plusieurs espèces d'*Hypericum*. Ces résultats indiquent que le plus important taux d'hypericine était noté chez *H. triquetrifolium* (4.56) (Mg/g), alors qu'*H. montbretii* était riche en Pseudohypéricine (3.58 (Mg/g) et *H. perforatum* contenait un taux important en Hyperforin (5.46 (Mg/g), contrairement à nos résultats n'ayant pas détecté ces composés.

Sur un autre plan, l'étude de l'activité anti inflammatoire a montré qu'au cours du suivi des souris témoins et des souris traitées pendant les six heures après l'injection de la carragénine nous avons noté une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots. Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez le groupe témoin a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que la carragénine a induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

En effet, l'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. (Devulder *et al.*, 2002 ; Rousselet *et al.*, 2005).

Par ailleurs, l'administration du diclofénac à la dose de 50 mg/kg par voie orale réduit de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris.

D'autre part, l'extrait éthanolique d'*H.scabroides* s'est révélé plus actif plus précisément à la première heure. Ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire des extraits pourrait s'expliquer par la présence des stéroïdes, des triterpènes, des saponosides (Bruneton, 1993 ; Lompo, 1999).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique d'*H.Scabroides* montre une inhibition de l'œdème pendant les six heures (78,03 % ; 40,44 %; 12,15 %), ce résultat peut s'expliquer en partie par la présence de composés actifs dans les feuilles de cette plante.

Relativement à ces résultats, de nombreuses études ont démontré que les tanins sont des substances chimiques reconnues pour leur pouvoir de fixation aux protéines avec une tendance à l'imperméabilité des couches externes et la protection des couches sous-jacentes. Ceci ajouté à leurs propriétés de retendre les tissus et de drainer les sécrétions excessives ce qui pourrait expliquer leur activité antidiarrhéique (Bruneton, 1993).

Ces résultats sont en accord avec plusieurs recherches qui rapportent que le genre *Hypericum* est connu dans l'antiquité, les Grecs l'utilisaient pour le traitement des plaies, des blessures, des infections interne et des troubles névralgiques (Lefrançois & RUBY, 2010 et Filière des plantes médicinales biologiques du Québec, 2007). Il possède des propriétés cicatrisantes grâce à l'hypericine qui est une naphthodianthrone antivirale, contenu dans les huiles essentielles, elle est photosensibilisante et antiseptique et l'hyperforine qui est une pénylphloroglucinol antibiotique, anti-inflammatoire et antibactérienne (Busser, 2005 & Demarque *et al.* 1993).

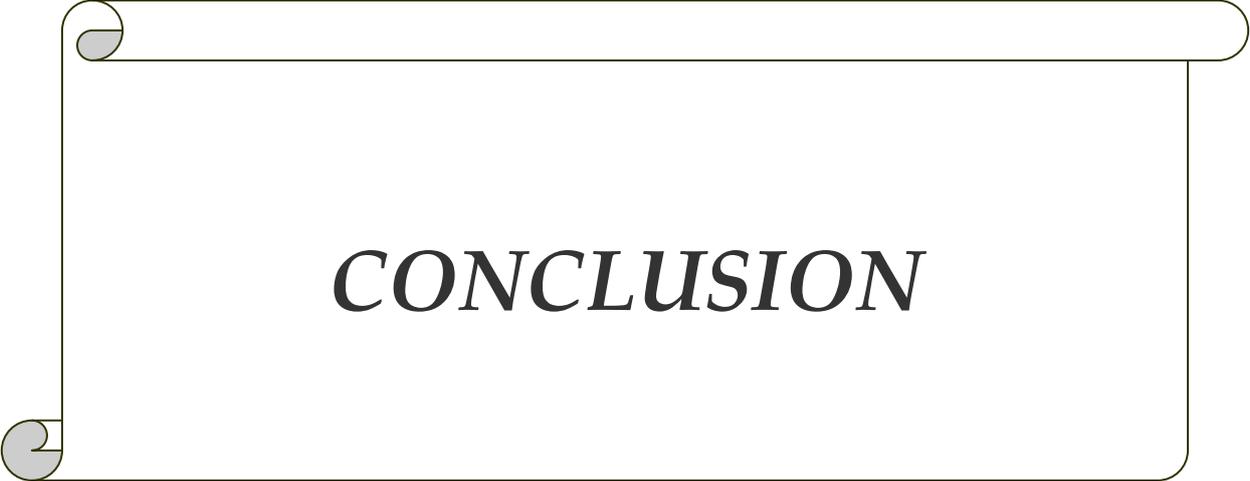
De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gallego *et al.*, 2007) d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim *et al.*, 2004).

D'autre part, la pharmacopée concède aux constituants polyphénoliques comme les flavonoïdes, aux acides phénols et aux anthocyanes une activité anti-inflammatoire (Harborne, Baxter, 1993).

D'autre part, *Hypericum scabroides* pourrait soit contenir des substances anti inflammatoire non hormonale qui bloquent ou freinent la production des molécules pro-inflammatoire (prostaglandine) soit que cette plante stimule les glandes surrénales à produire davantage de

cortisone qui exerce un effet anti-inflammatoire soit que cette plante pourrait diminuer le taux d'histamines (médiateurs des inflammations) dans le sang (plante antihistaminique).

L'inhibition de la perméabilité vasculaire et l'œdème de la patte des souris de certains extraits éthanoliques du *Hypericum scabroides* obtenu est due probablement à l'inhibition de l'activité de la lipooxygénase et de la cyclooxygénase, enzymes catalysant la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines respectivement à partir de l'acide arachidonique et les autres pros inflammatoires tels que la sérotonine et l'histamine par les composants présents dans cet extrait.



***CONCLUSION***

Dans cette étude l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* a été obtenu par macération dans le méthanol.

De plus, la composition chimique des extraits a mis en évidence la présence de certains composés en trace (pseudohypericin, hypericin, kaempferol). De plus, les valeurs de l'acide chlorogénique, de la rutine, de l'hyperoside et l'isoquercitrin de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* variaient entre 0.014% et 0.034%.

Les chromatogrammes du liquide de chromatographie de l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* ont révélé la présence de pseudohypericine et l'hypericine à 590 nm. De plus, à 360 nm, la présence de l'acide chlorogénique et la rutine a été notée

D'autre part, la toxicité aigüe évaluée sur les souris a montré que l'extrait méthanolique d'*Hypericum scarboides* n'induit aucun effet toxique à la dose de 200 mg/Kg de poids corporel

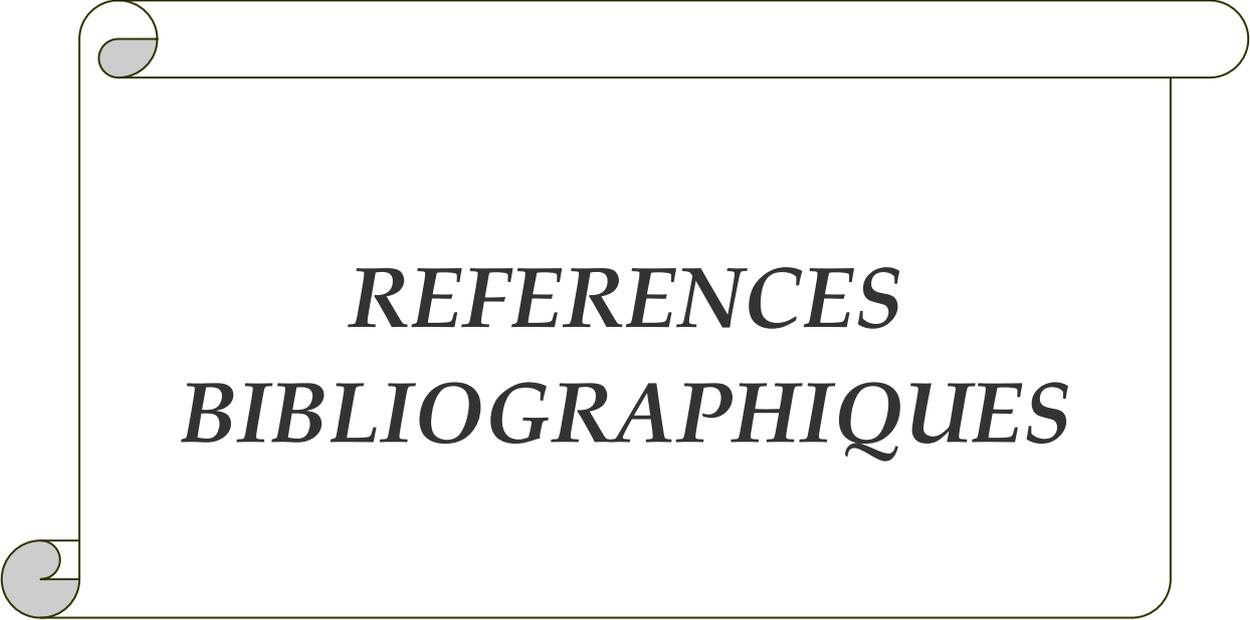
Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire de cet extrait a été évaluée chez les souris model de la patte inflammatoire.

En effet, un effectif de 42 souris a été utilisé, ces souris sont réparties en six lots (six souris par lot), chaque lot reçoit respectivement par voie orale la dose de 10 ml/Kg de p.c, soit d'une solution de NaCl (0,9%) (groupe témoin), soit de diclofinac 50 mg/Kg (groupe standard), soit l'extrait éthanolique d'*Hypericum scarboides* (200 mg / Kg de p.c). Une heure après les souris de tous les groupes reçoivent une injection de carragénine à 0,5%. L'œdème est évalué par la mesure du diamètre (mm) de la patte dans l'axe dorsal-plantaire avant et à des intervalles d'une heure, pendant 6 heures après injection de la carragénine.

Nos résultats montrent que l'injection de la carragénine (0,5%) entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris de tous les lots. De plus, l'administration orale du diclofinac (50 mg/Kg de p.c) réduit de façon significative l'inhibition de l'œdème de la patte de souris.

Le traitement par l'extrait éthanolique d' *Hypericum scabroides* à la dose de 200 mg/Kg de pc, exerce une action anti-inflammatoire qui est plus importante à la troisième et la sixième heure de l'expérimentation.

L'ensemble de ces résultats montre que l'extrait méthanolique d'*Hyepricum scarboides*) exerce un effet anti-inflammatoire et par ce fait il pourrait être utilisé comme composés alternatifs particulièrement dans la prévention contre l'inflammation.



*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

- Aberham A, Ciçek, S S, Schneider P, Stuppner H (2010). Analysis of sesquiterpene lactones, lignanes and flavonoids in wormwood (*Artemisia Absinthium L.*) using high performance liquid chromatography (HPLC) – Mass Spectrometry, Reversed Phase HPLC, and HPLC Solid Phase Extraction – Nuclear Magnetic Resonance. *J. Agric. Food Chem.* 58: 10817–10823.
- Adrie A et Pinsky M R (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med.* 26, 364 -375.
- Aggarwal B B et Shishodia S (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol.* 71, 1397 -1421.
- Akrouit A. (2004). Essential oil study of some pastoral plants from Matmata (south Tunisia)(in French). *Cah. Options Med.*, 62, 289-292.
- Annegowda HV., Anwar LN., Mordi MN., Ramanathan S., et Mansor SM (2010). Influence of sonication on the phenolic content and antioxidant activity of *Terminalia catappa L.* leaves. *Pharmacognosy Res.* 2 (6) : 368-373.
- Apaydin S, Zeybek U, Ince I, Elgin G, Karamenderes C, Ozturk B, Tuglular I (1999). *H. triquetrifolium Turra.* extract exhibits antinociceptive activity in the mouse. *J. Ethnopharmacol.* 67:307-312.
- Araya, O. S., Ford, E. J. (1981). An investigation of the type of photosensitization caused by the ingestion of St John's wort (*Hypericum perforatum*) by calves. *J. Comp. Pathol.*, 91: 135-141.
- Ayan AK, Cirak C, Kevseroglu K, Zen T (2004). Hypericin in some *Hypericum* species from Turkey. *Asian J. Plant Sci.* 3(2):202-204.
- Azuma K, Nakayama M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, et al. (1999) Phenolic Antioxidants from the Leaves of *Corchorus olitorius L.* *J Agric Food Chem* 47: 3963–3966.
- Baker DD, Chu M, Oza U, Rajgarhia V (2007). The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Nat Prod Rep*, 24 : 1225-44.
- Barkely T M, Brouillet L, Strother J L (2006). *Flora of North America –Asteraceae.* Oxford University Press, New York. P193.

- Barnes J, Anderson A et Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) : a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53 : 583-600.
- Baytop (1984) Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Istanbul University Press, Istanbul, pp 166–167
- Benmansour A. et taleb Bendiab S. A. (1998). Comparative investigation of proteins and amino acids in *Artemisia herba-alba* residues and Algerian date stones. Proposal to use them as additional feed for livestock. *J. de la Societe Algerienne de Chimie*, 8(1), 67-71.
- Benmansur A., Taleb-Bendiab S. A., Mashev N. and Vasilev G. (1990). Studies on the chemical composition of *Artemisia* (*Artemisia herba-alba*). *Bolgarskoi Akademii Nauk*, 43(8), 65-7.
- Bidaut-Russell M (2001). Adverse gastrointestinal effects of nsaid: consequences and costs. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*.15, 739-753.
- Bombardelli E, Morazzoni P (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*. 66:43-68.
- Boriky D., Berrada M., Talbi M., Keravis G. et Rouessac F. (1996). Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 43 (1), 309-311.
- Botting R M et Botting J H (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clin Drug Investing*. 19, 1 -7.
- Brolis, M.B. Gabetta, N. Fuzzati, R. Pace\*, F. Panzeri, F. Peterlongo (1998). Identification by high-performance liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry and quantification by highperformance liquid chromatography–UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. *Journal of Chromatography A*, 825 : 9–16.
- Bruneton J (1995). Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. *Lavoisier Publishing*, Paris 367-370.
- Bruneton J (2009). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> ed. Paris: Tec & Doc.
- Cakir A, Kordali S, Kilic H, Kilic H, Kaya E (2005). Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *H. linarioides* Bosse. *Biochem. Syst. Ecol*, 33(3):245-256.

- Cakir A, Mavi A, Yildirim A, Duru ME, Harmandar M, Kazaz C (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *H. hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J. Ethnopharmacol*, 87:73-83.
- Caner, A., Doskaya, M., Degirmenci, A., Can, H., Baykan, S., Uner, A., Basdemir, G., Zeybek, U., Guruz, Y., 2008. Comparison of the effects of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia absinthium* growing in western Anatolia against trichinellosis (*Trichinella spiralis*) in rats. *Exp. Parasitol.* 119, 173–179.
- **Catelan S C**, Belentani R M, Marques L C, Silva E R, Silva M A, Caparroz-Assef S M, Cuman R K N , Bersani-Amado C A (2006). The role of adrenal corticosteroids in the anti inflammatory effect of the whole extract of *Harpagophytum procumbens* in rats *Phytomedicine*, 13, 446-451.
- Catier O et Roux D (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3<sup>ème</sup> édition. Wolthers Kluner. p.85, 112.
- Cazin FJ (1876). *Artémisia Absinthium. L* : In *Traité pratique et raisonné des plantes indigènes et acclimatées*, Paris : P. Asselin, 4<sup>ème</sup> ed., p 1-8.
- Charles N S, Peter A W et Derek W G (2010). *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.
- Chemesova I I, Belenovskaya L M, Stukov A N (1987). Antitumour activity of flavonoids from some species of *Artemisia L*, *Rastit Resur* , 23(1), 100-103.
- Chiasson H, Bélanger A, Bostanian N, Vincent C, Poliquin A (2001). Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *J Econ Entomol*, 94(1):167-71.
- Cirak C, Radusiene J, Camas N (2008). Pseudohypericin and Hyperforin in two Turkish *Hypericum* Species: Variations Among Plant Parts and Phenological Stages. *Biochem. Syst. Ecol.* 36:377-382.
- Cirak C, Saglam B, Ayan AK, Kevseroglu K (2006a). Morphogenetic and diurnal variation of hypericin in some *Hypericum* species from Turkey during the course of ontogenesis. *Biochem. Syst. Ecol.* 34(1):1-13.
- Cooper, M. R., Johnson, A. W. (1984). *Poisonous plants in Britain and their effects on animals and man*. Her Majesty's Stationery Office, London, England. 305 pp.

- Crompton, C. W., Hall, I. V., Jensen, K. I., Hildebrand, P. D. (1988). The biology of Canadian weeds. 83. *Hypericum perforatum* L. Can. J. Plant Sci., 68: 149-162.
- Dahmani-Hamzani N. et Baaliouamer A. (2005). Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa. Riv. Ital. EPPOS, 40, 7-13.
- Davis, M. A., Thompson, K., et Grime, J. P. (2005). Invasibility: the local mechanism driving community assembly and species diversity. *Ecography*, 28: 696-704.
- De Smet PAGM. St John's wort as an antidepressant *BMJ* 1996, 313: 241-242
- Hansen SH, Jensen AG, Cornett C, Bjørnsdottir I, Taylor S, Wright B (1999). High-performance liquid chromatography online coupled to high-field NMR and mass spectrometry for structure elucidation of constituents of *Hypericum perforatum* L. *Anal Chem*; 71: 5235-5241.
- Dob T et Benabdelkader T. (2006). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *J. Essen. Oil Res.*, 18, 685-690.
- Dogrukol-Ak D, Kirimer N, Tuncel M, Aboul-Enein HY (2001). Determination of Rutin in *H. perforatum* extract by Capillary Electrophoresis. *Anal. Lett.* 34(2):185-191.
- Dombrowicz, D. and M. Capron (2001)"Eosinophils, allergy and parasites." *Curr Opin Immunol* 13(6): 716-20.
- Donoghue, M. J. (2008). A phylogenetic perspective on the distribution of plant diversity. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105(Suppl. 1): 11549-11555.
- Dunn C. E., Brooks R. R., Edmondson J., Leblanc M. et Reeves R. D. (1996). Biogeochemical studies of metal-tolerant plants from southern Morocco. *Journal of Geochemical Exploration*, 56 (1), 13-22.
- Ejebe DE, Siminialayi IM, Emudainowho JOT, Ofesi U, Morka L (2010). Analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of the leaves of *Helianthus Annus* in Wistar rats. *Asian Pac J Trop* ; 3(5): 341-347.
- El-Sayed A. M. et Seida A. A (1990). Comparative study of the major constituents of the essential oils of wild and cultivated Egyptian *Artemisia herba-alba* with those of plants produced abroad. *Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.)*, 28, 57-58.

- Eming S A, Krieg T, Davidson J M (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, 514–525.
- Erken S, Malyer H, Demirci F, Demirci B, Baser KHC (2001). Chemical Investigations on some *Hypericum* Species Growing in Turkey-I. *Chem. Nat. Compounds*, 37(5):434-438.
- Fenardji F., Klur M., Furlon C and Ferrando R. (1974). White *artemisia*, (*Artemisia herba-alba*), *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux*, 27(2), 203-6.
- Ferreira JFS (2009) Artemisia species in small ruminant production: their potential antioxidant and anthelmintic effects. In: Morales M (ed) Appalachian Workshop and Research Update: improving small ruminant grazing practices, Beaver, WV, 2009. Mountain
- Ferreira JFS, Luthria DL (2010) Drying affects artemisinin, dihydroartemisinic acid, artemisinic acid, and the antioxidant capacity of *Artemisia annua* L. leaves. *J Agric Food Chem* 58(3):1691-1698, 10.1021/jf903222j
- Ferreira JFS, Luthria DL, Sasaki T, Heyerick A (2010) Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules* 15(5):3135–3170 Ekanem A, Brisibe EA (2010) Effects of ethanol extract of *Artemisia annua*; L. against monogenean parasites of *Heterobranhus longifilis*. *Parasitol Res* 106(5):1135–1139. doi:10.1007/s00436- 010-1787-0
- Feuerstein I., Danin A., Segal R. (1988). Constitution of the essential oil from an *Artemisia herba-alba* population of Spain, *Phytochemistry*, 27, 433-434.
- Fougère B J et Wynn S G (2007). Herb manufacture, pharmacy and dosing. In: *Veterinary herbal medicine*, ed. Mosby Elsevier, St Louis, p. 221-236.
- Fournier P (1947). Absinthe. *Artemisia Absinthium* L : In *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Tome I, Paris: Paul Lechevalier ed., p115-120.
- Friedman J., Yaniv Z., Dafni A. and Palewitch D. (1986). A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an

- ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev desert, Israel. *J. of Ethnopharmacol.*, 16(2-3), 275-287.
- Gibellin D (2003). La phytothérapie en médecine vétérinaire : états des lieux et perspectives. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, p 201.
  - Goetz P (2011). Phytothérapie de l'inflammation (partie II). *Phytothérapie*, 9:310-317.
  - Gudžić B, Đorđević S, Vajs V, Palić R, Stojanović G (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Hypericum maculatum* Crantz. *Flavour and fragrance Journal*. 17:392–394.
  - Hadi A, Hossein N, Shirin P, Najmeh N, Abolfazl M (2014). Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Artemisia absinthium* and Chemical Composition of its Essential Oil. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 24(2), 38, 237-244
  - Hakimoglu F, Kizil G, Kanay Z, Kizil M, Isi H (2007). The effect of ethanol extracts of *H. lysimachioides* on lipid profile in hypercholesterolemic rabbits and its *in vitro* antioxidant activity. *Atherosclerosis*, 192:113-122.
  - Haouari M. and Ferchichi A. (2009). Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia, *Molecules*, 14, 1585-1594.
  - Hartmann T (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry*, 68, 2831–2846.
  - Hatimi S, Boudouma M, Bouchichi M, Chaib N et I Guessous (2000). Evaluation *in vitro* de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba alba* Asso. Manuscrit N) 2162 « thérapeutique ».
  - Henzen C (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442-446.
  - Hernández H, Mendiola J, Torres D, Garrido N, Pérez N (1990). Effect of aqueous extracts of *Artemisia* on the *in vitro* culture of *Plasmodium falciparum*. *Fitoterapia*, 41(6), 540-541.
  - Hishamoto M, Kikuzaki H, Ohigashi HN (2003) Antioxidant Compounds from the Leaves of *Peucedanum japonicum* Thunb. *J Agric Food Chem* 51: 5255–5261.
  - Hogan S P, Rosenberg H F, Moqbel R, Phipps S, Foster P S, Lacy P, Kay A B, Rothenberg M E (2008). Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy*, 38, 709–750.

- Huang W, Xue A, Niu H, Jia Z, Wang J. Optimised ultrasoundassisted extraction of flavonoids from Folium eucommiae and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. Food Chem. 2009;114:1147–54.
- Hudaib M et Aburjai T. (2006). Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing in Jordan, *J. Essen. Oil Res.*, 18, 301-304.
- Hurabielle M., Malsot M. et Paris M. (1981). Chemical study of two oils from wormwood; *Artemisia herbaalba* Asso and *Artemisia vulgaris* Linnaeus of chemotaxonomic interest. *Riv. Ital. EPPOS*, 63, 296-299.
- Idris, U.E., Adam, S.E., Tartour, G., 1982. The anthelmintic efficacy of *Artemisia herba-alba* against *Haemonchus contortus* infection in goats. *Natl. Inst. Anim. Health Q (Tokyo)* 22, 138–143.
- Iserin P (2001), Larousse Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins. Ed Larousse, p 66, 292, 293, 295, 296, 298.
- Janeway C A, Travers P, Walport M et Shlomchik M (2001). An introduction to immunobiology and innate immunity. In *Immunology*, 5th edition, (New York), pp: 347 -380.
- Januário A H, Santos S L, Marcussi S, Mazzi M V, Pietro R, Sato D N, Ellena J, Sampaio S V, França S C, Soares A M (2004). Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): antiproteolytic and anti-hemorrhagic properties. *Chemico-Biological Interactions*, 150, 243-251.
- Jill M. Squiresa, Jorge F.S. Ferreirab, David S. Lindsaya, Anne M. Zajaca,. Effects of artemisinin and *Artemisia* extracts on *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Veterinary Parasitology* 175 (2011) 103–108
- Jorge F. S. Ferreira & Paul Peadar & Jennifer Keiser. In vitro trematocidal effects of crude alcoholic extracts of *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *Asimina triloba*, and *Fumaria officinalis*. Trematocidal plant alcoholic extracts. *Parasitol Res* (2011) 109:1585-1592
- José AM, Ansuategui M, Bermejo P (2007). Active antifungal substances from natural sources, *ARKIVOC*, VII, 116-145.

- Judd W S, Campbell C S, Kellogg E A, Stevens P (2002). Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK, p: 84-336.
- Juteau F, Jerkovic I, Masotti V, Milos M, Mastelic J, Bessiere(2003). Composition and anti-microbial activity of essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France JM, Viano J. *Planta Med* 69:158–161
- Kaul V K, Nigam S S, Dhar K L (1976). Antimicrobial activities of the essential oils of *Artemisia Absinthium Linn.*, *Artemisia vestita Wall.*, and *Artemisia vulgaris Linn.* *Indian J. Pharm*, 38(1), 21-22.
- Kaul V K, Nigam SS, Dhar K L (1978). Insecticidal activity of some essential oils. *Indian J. Pharm*, 40(1), 22.
- Kerboeuf D, Riou M, Guegnard F (2008) Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. *Mini Rev Med Chem* 8:116–128
- Khattak S G, Gilani S N (1985). Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 14(1), 45-51.
- Kilzil G, Toker Z, Özen HC, Aytakin C (2004). The antimicrobial activity of *Hypericum Scabrum*, *Hypericum scarboides* and *Hypericum triquetrifolium*. *Phytotherapy Research*, 18 :339-341.
- Kırmızıbekmez H, Celep E, Bardakçı H, Yesilada E (2008). Quantitative determination of hypericin on *Hypericum perforatum* by using HPTLC. *J. Sci. Phytother. Fitomed Turk.* 2(6):43.
- Kordali, S., I. Aslan, O. Calmasur and A. Cakir, 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Ind. Crops Prod*, 23: 162-170.
- Korotkova N, Scheneider JV, Ouandt D, Worberg A, Zizka G ET Borsch T (2009). Phytoeny of the eudicot order Malpighiales : Analysis of recalcitrant clade with sequences of the petD group II intron. *Plant Systematics and Evolution*, 282 : 201-228.
- Koul MK (1997) Medicinal Plants of Kashmir and Ladakh. Temperate and Cold Arid Himalaya, Indus Publishing Company, FS-5, Tagore Garden, New Delhi p 102, ISBN: 81-7837-061-6

- Kumar V, Abul K A, Nelson F et Richard M (2007). Robbins Basic Pathology, 8th Edition, 20-60.
- Labre P (2012). Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval. 2<sup>ème</sup> édition, ed. Femenvet, Thônes, p 352.
- Lachenmeier D (2008). Thujone-attributable effects of absinthe are only an urban legend toxicology uncovers alcohol as real cause of absinthism. *Med Monatsschr Pharm* 31(3):101-6.
- Laid M., Hegazy M-E. F. and. Ahmed A. A (2008). Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herbaalba*. *Phytochemistry lett.*, 1, 85-88.
- Lawrence B. M. (1981). Progress in essential oils, perfume. & flavor., 6(1), 37-8, 43-6.
- Lawrence B. M. (1989). Progress in essential oils, perfume. & flavor., 14(3), 71-6, 78-80.
- Lawrence B. M. (1995). Armoise oil. In: Essential oils 1982-1994 Edit., *natural Flavor and Fragrancematerials "Perfumer & Flavorist"*, p. 179-180, Allured Publ. Corp., carol stream, IL.
- Lee KW, Lee HJ, Kang KS, Lee CY (2002). Preventive effects of vitamin C on carcinogenesis. *Lancet.*;359:172.
- Li, J., Biswas, M.G., Chao, A., Russell, D.W., and Chory, J. (1997). and floral meristem size in Arabidopsis. *Cell*. 89, 575–585. Conservation of function between mammalian and plant steroid 5αClouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 94, 3554–3559.
- Lopes-Lutz D, Alviano D S, Kolodziejczyk P P (2008), Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils, *Phytochem*. 69: 1732–1738.
- Male D, Roitt Y, Brostoff J, Roth D B (2007). Mécanisme de l'immunité innée. In: *Immunologie*. Eds, Masson (France), p: 155.
- Marco J. A., Sanz J. F. et Falco E. (1990). New oxygenated Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Tetrahedron*, 46 (23), 7941-7950.
- Marie-Josèphe D J (2011). Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse

pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, p 33.

- Matteucci E et Giampie L (2008). Proposal open for discussion : defingar ed diagnostic procedures in experiment al diabetes research. *J Etho Pharmacol*, 115 : 163-72
- Meschler JP, Howlett AC (1999) Thujone exhibits low affinity for cannabinoid receptors but fails to evoke cannabimimetic responses. *Pharm Biochem Behav* 62:413–480
- Mohamed,A., Magdi H., El-Sayed A., Hegazy M., E. Helaly1 S,. Esmail A et Mohamed NS. (2010). Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec. Nat. Prod.* 4:1 (2010) 1-25.
- Mohr K, lüllmann H, Ziegler A, (2001). Atlas de poche de pharmacologie. Flammarion, Médecine-Science. 384
- Mohsen H.and Ali F, (2008). Study of genetic polymorphism of *Artemisia herba-alba* from Tunisia using ISSR markers, *African J. of Biotechnol.*, 7(1), 44-50.
- Morimoto A, Nakamori T, Watanabe T, Ono T et N Murakami (1988). Pattern differences in experimental fevers induced by endotoxin, endogenous pyrogen, and prostaglandins. *Am J Physiol*; 254: R633–R640.
- Muto T, Watanabe T, Okamura M, Moto M, Kashida Y, Mitsumori K (2003). Thirteen-week repeated dose toxicity study of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *J Toxicol Sci*, 28(5):471-8.
- Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 19-26,420, 846-852.
- Nawwar M, El mousallamy A, Barakat , Bddrus J et Luinscheid M (1989). Flavonoid lactates from leaves of *Murrubium vulgare*. *Phytoche stry*, 28 : 3201-6.
- Neffati A., Skandrani I., Sghaier M. B., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Nefati M., Cherif I., Hammani M.et Chekir-Ghedira L. (2008). Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *J. Essen. Oil Res.*, 20, 471-477.
- Newton P N, McGready R, Fernandez F, Green D M, Sunjio M, Bruneton C, Phanouvong S, Millet P, Christopher J. Whitty M, Ambrose O T, Proux S, Christophel E M, Malenga G, Singhasivanon P, Bojang K, Kaur H, Palmer K, Day P. J,

- Greenwood B M, Nosten F, White N J. (2006) Manslaughter by Fake Artesunate in Asia—Will Africa Be Next? PLoS Med 3(6): e197. *Journal.pmed.0030197*
- Nourshargh S, Fritz K, et Elisabetta D (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 714-718.
  - O'Neill PM, Barton VE, Ward SA (2010) The molecular mechanism of action of artemisinin: the debate continues. *Molecules* 15 (3):1705–1721
  - Ohnishi M, Morishita H, Iwahashi H, Toda S, Shirataki Y, et al. (1994). Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry* 36: 579–583. Tsuchiya T, Suzuki O, Igarashi K (1996) Protective effects of chlorogenic acid on paraquat-induced oxidative stress in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 60: 765–768.
  - Ouédraogo N, Lompo M, Sawadogo R W, Tibiri A, Hay A E, Koudou J, Dijoux M G, Guissou I P (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie* DOI : 10.1007/s10298-012-0682-1
  - Özen HC, Başhan M (2003). The composition of fatty acids in *Hypericum scabrum*, *H. scabroides* and *H. amblysepalum*. *Turkish Journal of Chemistry*.; 27:723–725.
  - Özen HC, Başhan M, Toker Z, Keskin C. (2004a). 3-hydroxy fatty acids from the flowers of *Hypericum lysimachioides* var. *lysimachioides*. *Turkish Journal of Chemistry*, 28:223–226.
  - Ozkan AMG, Demirci B, Başer KHC (2009). Essential oil composition of *Hypericum thymopsis* Boiss. *Journal of Essential Oil Research*.; 21:149–153.
  - Özkan Eroğlu E and Mat A (2013). An overview on *Hypericum* species of Turkey. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, Vol. 5(3) : 38-46
  - Ozturk B, Apaydin S, Goldeli E, Ince I, Zeybek U (2002). *H.triquetrefolium* Turra. extracts exhibits antiinflammatory activity in the rat. *J. Ethnopharmacol*, 80:207-209.
  - Ozturk N, Korkmaz S, Ozturk Y (2007). Wound-healing activity of St. John's Wort (*H. perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *J. Ethnopharmacol*, 111:33-39.
  - Ozturk Y (1997). Testing the Antidepressant Effects of *Hypericum* Species on Animal Models. *Pharmacopsychiatry*, 30:125-128.

- Ozturk Y (2001). Possible mechanism of the analgesic effect of St. John's Wort. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 15(1):113-153.
- Ozturk Y, Aydin S, Beis B, Baser KHC, Berberoglu H (1996). Effects of *H. perforatum* and *H. calycinum* extracts on Central Nervous System in mice. *Phytomedicine* 3(2):139-146.
- Pabuccuoglu A, Konyalioglu S, Bas M, Elgin-Meral G (2003). The in vitro effects of *Hypericum* species on human leukocyte myeloperoxidase activity. *J. Ethnopharmacol.* 87:89-92.
- Padosch S A, Lachenmeier D W, Kröner L U, (2006). Absinthism: a fictitious 19<sup>th</sup> century syndrome with present impact. Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy. *Journal of Ethno pharmacology.* P 1, 14.
- Paschapur S M, Patil M B, Kumar R, Sachin R P (2009). Evaluation of aqueous extract of leaves of *Ocimum kilimandscharicum* on wound healing activity in albino wistar rats. *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 1(3), 544-550.
- Payne D N R, Adcock I M (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2, 145–150.
- Punchard N A, Whelan C J, Adcock I (2004). *The Journal of Inflammation.* *Journal of inflammation* (London, England), p 1.
- Rahman H, Vakati K et Chinna E (2012). *in-vivo* and *in vitro* activity of *Aquilaria agallocha* Oil. *IJBMS*. 2 (1):7-10.
- Rankin JA (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues*, 15, 3 -17.
- Rao V S N, Menezes A M S, Gadelha M G T (1988). Antifertility screening of some indigenous plants of Brasil. *Fitoterapia*, 59(1), 17-20.
- Reichl F-X, Bliefert C et Perraud R (2004). Guide pratique de Toxicologie. *De Boeck* .
- Reinke R, King PJ, Victoria GJ, McDougall RB, Ma G, et al. (2002) Dicaffeoyltartaric Acid Analogues Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Integrase and HIV-1 Replication at Nontoxic Concentrations. *J Med Chem* 45: 3669–3683.
- Rezaeinodehi A, Khangholi S (2008). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(6): 946-949.

- Robson NKB (1977). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 1. Infra-generic classification. *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany). 5 : 291-355.
- Robson NKB (1981). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 2. Characters of the genus. *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany). 8 :55-236.
- Robson NKB (1985). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 3. Sections 1. *Campyloporus* to 6a. *Umbraculoides* . *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany).12 :163-325.
- Robson NKB (1990). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 8. Sections 29. *Brathys* (part 2) and 30. *Trigynobrathys* . *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany). 20 :1-151.
- Robson NKB (1996). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 6. Sections 20. *Myriandra* to *Elodes* . *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany). 26 (2) : 75-217.
- Robson NKB (2001). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 4 (1). Sections 7. *Roscyna* to 9. *Hypericum sensu lato* (part 1). *Bulletin of British Museum of natural history* (Botany). 31 (2) : 37-88.
- Roitt I M, Brostoff J, Male D K (2001). Immunology. Mosby
- Rousselet M C, Vignaud, J M, Hofman P, Chatelet F P (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP, 1-57.
- Ruhfel, B. R., Bittrich V., Bove C. P., Gustafsson M. H. G., Philbrick C. T., Rutishauser R., Xi, Z. X. et Davis C. C.. 2011. Phylogeny of the Clusioid Clade (Malpighiales): Evidence from the Plastid and Mitochondrial Genomes. *American Journal of Botany*, 98:306-325.
- Russo-Marie F, Peltier A, Polla B S (1998). L'inflammation. Paris: John Libbey Eurotext, p.565.
- Saban K, Recep M, Ahmet CAA, Ali Y (2005) Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *Artemisia dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 53:9452–9458

- Saleh N. A. M., El-Negoumy S. I. et Abou-Zaid M. M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*. 26 (11), 3059-3064.
- Saleh N. A. M., El-Negoumy S. I., Abd-Alla M. F., Abou-Zaid M. M., Dellamonica G. et Chopin J. (1985). Flavonoids glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 24 (1), 201-203.
- Salido S., Altarejos J., Nogueras M. et Sanchez A. (2001). Chemical composition of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso. ssp. *valentina* (Lam.) Marc. *J. Essen. Oil Res.*, 13, 221-224.
- Salido S., Valenzuela L. R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. et Cano E. (2004). Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32, 265-277.
- Segal R, Feuerstein I and Danin A (1987). Chemotypes of *Artemisia herba-alba* in Israel based on their sesquiterpene lactone and essential oil constitution. *Phytochemistry*, 15(4), 411-416.
- Setty A R, Sigal L H (2005). Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology: Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34, 773-784.
- Sharopov F S, Sulaimonova V A, Setzer W N (2012), Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan, *Rec. Nat. Prod.* P127–134. State University/USDA, p 53–70
- Shiu WK et Gibbons S. (2006). Anti-staphylococcal acylphloroglucinols from *Hypericum bearii*. *Phytochemistry*, 67(23):2568-72.
- Silbemagi S, Lang F (2000). Atlas de poche de physiopathologie 1<sup>ère</sup> Éd France, Flammarion Médecine-Sciences, p. 48.
- Sofowora A (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Eds, Karthala, pp : 22
- Spiteller M, Ozen T, Smelcerovic A, Zuehlke S, Mimica-Dukic N (2008). Phenolic constituents and the *in vitro* antioxidant activity of the flowers of *H. venustum*. *Fitoterapia* 79(3):191-193.
- Steinhubl S R (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 21, 115-121.

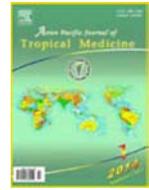
- Stevens PF (2007). Clusiaceae-Guttiferae. In Kubitzki K (Ed) The families and Genera of vascular plants (Vol IX). *Springer*, Berlin, Germany, Pp 48-66.
- Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z. H, Lyoussi B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province), *J. of Ethnopharmacol.*, 110 (1), 105-17.
- Tariku Y, Hymete A, Hailu A, Rohloff J (2011). In vitro evaluation of antileishmanial activity and toxicity of essential oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. *Chem Biodivers*, 8(4):614-23.
- Tariq KA, Chishti MZ, Ahmad F, Shawl AS (2008) Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes. *Vet Parasitol* 160(1–2):83–88
- Toker Z, Kizil G, Ozen HC, Kizil M, Ertekin S (2006). Compositions and antimicrobial activities of the essential oils of two *Hypericum* species from Turkey. *Fitoterapia*, 77(1):57-60.
- Touafek O, Kabouche Z, Boustie J et Bruneau C (2012). A New Long-Chain Unsaturated Ester and Other Constituents of *Hypericum tomentosum*. *Natural Product Communications*, 7 (1) : 47 – 50
- Umek A., Kreft S., Katrtnig T., Heydel B. (1999). Quantitative phytochemical analysis of six *Hypericum* species growing in Slovinia. *Planta Medica*, 65 : 388-390.
- Vernin G. et Merad L. O. (1994). Mass spectra and Kovats indexes of some new *cis*-chrysanthenyl esters found in the essential oil of *Artemisia herba-alba* from Algeria. *J. Essen. Oil Res.*, 6, 437-338.
- Vernin G., Merad O., Vernin G. M., Zamkotsian R. M. et Parkanyi C. D. (1995). GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. *Develop. in food Sci.*, 37A, 147-205.
- Vernin G. et Parkanyi C. (2001). GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso. from Algeria, Nonpolar and polar extracts. *Riv. Ital. EPPOS*, 32, 3-16.
- Wagner D D (2005). New links between inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 25:1321-4.
- Wagner J G et Roth R A (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev.* 52, 349-374.

- Wallace M, Staats P S (2004). Pain medicine and management: just the facts. McGraw-Hill (New York), p: 48.
- Weill B, Batteux F, Dhainaut J (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), p: 12-23.
- Wiart C (2006). Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific. Eds, Humana Press (Totowa), p: 1-20.
- Williams C M M et Galli S J (2000). The diverse potential effectors and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 105, 847-59.
- Worku, M., Franco, R., Miller, J.H., 2009. Evaluation of the activity of plant extracts in Boer goats. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 4, 72–79.
- Wright C W (2002). *Artémisia*. Taylor&Francis, New York, U.S.A. P 82.
- Wu J, Lin L, Chau FT. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochem.* 2001;8:347–52.
- Wurdack KJ et Davis CC (2009). Mapighiales phylogenetics : Gaining ground one of the most recalcitrant clades in angiosper tree of life. *American journal of Botony.*96 :1551-1570.
- Yarnell E (2007). Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action. In: *Veterinary herbal medicine*, ed. Mosby Elsevier, St Louis, p. 159-182.
- Yesilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Goto K, Ikeshiro Y (1993). Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *J. Ethnopharmacol.* 39:31-38.
- Yiannis C. Fiamegos<sup>1</sup>, Panagiotis L. Kastritis<sup>2</sup>, Vassiliki Exarchou<sup>3</sup>, Haley Han<sup>4</sup>, Alexandre M. J. J. Bonvin<sup>2</sup>, Jacques Vervoort<sup>5</sup>, Kim Lewis<sup>6</sup>, Michael R. Hamblin<sup>4,7,8</sup>, George P. Tegos<sup>4,7\*</sup>□. Antimicrobial and Efflux Pump Inhibitory Activity ofCaffeoylquinic Acids from *Artemisia absinthium* against Gram-Positive Pathogenic Bacteria April 2011 | Volume 6 | Issue 4 | e18127
- Yıldız K, Başalan M, Duru O, Gokpınar S (2011). Antiparasitic Efficiency of *Artemisia absinthium* on *Toxocara cati* in Naturally Infected Cats. *Turkiye Parazitol Derg*, 35: 10-4.

- Zaim A, El Ghadraoui L, Farah A (2012). Effets des huiles essentielles de l'Armoise sur les criquets, Bulletin de l'institut scientifique de Rabat, section Sciences de la vie, n°34 (2),p : 127-133.
- Ziyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M. and Benjelloun W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J. of Ethnopharmacol.*, 58(1), 45-54.

Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

## Asian Pacific Journal of Tropical Medicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/apjtm](http://www.elsevier.com/locate/apjtm)

Document heading doi: 10.1016/S1995-7645(14)60283-2

*In vivo* anti-inflammatory activity and chemical composition of *Hypericum scabroides*Sadia Mansour<sup>1,2\*</sup>, Nouredine Djebli<sup>1</sup>, Esra Eroglu Ozkan<sup>3</sup>, Affe Mat<sup>3</sup><sup>1</sup>Pharmacognosy, Api-Phytoteraphy Laboratory, Department of Biology, Faculty of SNV, Mostaganem University, Algeria<sup>2</sup>Molecular Applied Genetic Department, Sciences and Technology Oran University, Algeria<sup>3</sup>Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Istanbul University, Istanbul, Turkey

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 7 Jan 2014

Received in revised form 3 Feb 2014

Accepted 15 Mar 2014

Available online 24 Jul 2014

## Keywords:

Anti-inflammatory

Carrageenan

*Hypericum scabroides*

Mice

Chemical compounds

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the methanolic extracts of aerial parts of *Hypericum scabroides* (HSM) (200 mg/kg, *p.o.*) for *in vivo* anti-inflammatory activity.**Methods:** The anti-inflammatory activity of HSM was tested in mice weighting (25±5) g. Either vehicle (control group), the methanolic extracts (200 mg/kg) or diclofenac (50 mg/kg), was administered (*p.o.*) for 60 min before an edema was induced in the mice paw by subcutaneous injection of carrageenin. The mouse-paw volume was measured 1 h, 3h and 6 h after injection of carrageenin.**Results:** The HSM showed significant reduction of edema in carrageenan induced mice paw edema model at 1 h and 3 h for (78.03±15.54)% and (40.44±16.36)%, respectively. The diclofenac 50 mg/kg exhibited % reduction in paw volume (31.00±11.52)%, (0.80±0.09)% and (9.39±1.99)% after 1 h, 3 h and 6 h, respectively compared to control group. The obtained results revealed that HSM has significant anti-inflammatory activity. Furthermore, the chemical composition of HSM was analyzed by using high performance liquid chromatography–diode array detector. The plant contained pseudohypericin (trace) hypericin (trace), chlorogenic acid (0.0140±0.0005)%, rutin (0.0050±0.0006)%, hyperoside (0.016±0.005)%, isoquercitrin (0.0340±0.0005)% and kaempferol (trace).**Conclusions:** The obtained results of the present investigation revealed that methanol extract of *Hypericum scabroides* has significant anti-inflammatory activity.**1. Introduction**

Inflammation or phlogosis is a pathophysiological response of living tissues to injuries that leads to the local accumulation of plasmatic fluid and blood cells, which involves a complex sequence of bio-chemical events closely associated to the pathogenesis of various diseases such as rheumatoid arthritis, osteoarthritis, ankylosing spondylitis, acute gout, migraine<sup>[1–3]</sup>.

Aging, skin disorders, rheumatoid arthritis, atherosclerosis are caused by oxidative stress, occurring when production of reactive oxygen species (ROS)—in the form of hydroxyl radical, superoxide anion, peroxy radical, singlet oxygen, hydrogen peroxide or ozone, exceeds the antioxidant protective capacity of target cells<sup>[4]</sup>. Free radicals are the initiators of a redox reaction cascade, resulting in changes of the chemical structure of biological macromolecules, such as proteins, lipids and DNA, or disturbances of human cell metabolism<sup>[5]</sup>, or even tissue injury<sup>[6]</sup>. Human skin is exposed to both external factors, such as radiation, smoking, pollutants, organic solvents, pesticides<sup>[7]</sup> and internal ROS products from normal cell metabolism, normal aerobic respiration, stimulated polymorphonuclear leukocytes or macrophages<sup>[8,9]</sup>, that increase the level of oxidative

\*Corresponding author: Sadia Mansour, Pharmacognosy, Api-Phytoteraphy Laboratory, Department of Biology, Faculty of SNV, Mostaganem University, Algeria.  
E-mail: mansoursadia@gmail.com

Foundation Project: Supported by the Algerian Ministry of the Higher Education and Scientific Research, CNEPRU project approved in 2011/2013 (Grant No. F02220120001).

stress<sup>[10,11]</sup>. These conditions could delay the healing of skin injuries, such as burns, ulcers, wounds, eczema.

Nowadays, although the synthetic anti-inflammatory drugs are dominating the market, the element of toxicity from these drugs cannot be ruled out. Many drugs [both nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and corticosteroids] have been developed but their safety profile studies have shown that none of them is clearly safe. Due to adverse reactions of synthetic and chemical medicines *i.e.* causing gastrointestinal irritation and reappearance of symptoms after discontinuation, herbal medicines have made a comeback to improve our basic health needs. Many plants and herbs such as ginger, turmeric and olive oil, have been shown to exhibit potent anti-inflammatory effects<sup>[12]</sup>. Currently available drugs such as opiates and NSAIDs are not useful in all cases due to their adverse effects. In this respect, new compounds with improved pain management capacity and fewer side effects are searched every nook and corner of the world. Therefore, drugs lacking those effects are searched all over the world as alternatives to NSAIDs and opiates. During this process, the investigations of the efficacy of plant-based drugs used in the traditional medicine have been paid great attention because they are cheap and have little side-effects<sup>[13,14]</sup>.

Synthetic and natural antioxidants are of particularly importance in maintaining the oxidative stress level under the critical point in human organism. Previous *in vitro* and *in vivo* studies reported the antioxidant capacity of several species of medicinal plants<sup>[15,16]</sup>, acts at cellular level, through cell growth stimulation, membrane potential stabilizing or at molecular level, through ROS scavenging, lipid peroxidation, *etc*<sup>[17]</sup>. These roles have been attributed, in part, to their biological active constituents, such as liposoluble and watersoluble vitamins (E and C, respectively) and polyphenolic substances<sup>[18]</sup>.

As plants produce a significant amount of antioxidants to prevent oxidative stress, they represent a potential source of new compounds with antioxidant activity<sup>[19]</sup>.

Some of these plants are those of the *Hypericum* genus, (Clusiaceae Lindley, syn. Guttiferae A.L. de Jussieu). They include a large number of species distributed worldwide<sup>[20]</sup>. Several of the botanical species belonging to the genus are used in folk medicine and among them *Hypericum perforatum* L. (*H. perforatum*), also named St. John's Wort, is especially known as a traditional remedy for the treatment of melancholia, abdominal and urogenital pain and ulcerated bums<sup>[21,22]</sup>. Over the last two decades, it has been demonstrated that *H. perforatum* is effective as an antidepressant<sup>[23,24]</sup>, an antiviral<sup>[25]</sup>, and an antimicrobial<sup>[26]</sup>.

The drug contains peculiar chemical constituents such as naphthodianthrones (hypericins), acylphloroglucinols

(hyperforin), flavonol glycosides (quercetin derivatives) and biflavones and all the metabolites seem to contribute to its pharmacological activity<sup>[27]</sup>. Current use of *H. perforatum* is mainly for the treatment of mild to moderate depression<sup>[21,28]</sup>, and drug extracts for antidepressant applications have become increasingly popular.

During the recent years, several phytochemical studies on other species of *Hypericum* have also been performed, leading to the isolation of new molecules, some having biological activity.

These studies suggested that some species such as *H. perforatum* possess anti-inflammatory and anti-viral activity, which could be potentially used to alleviate conditions like inflammatory bowel disease, diarrhea, and respiratory infection<sup>[29–32]</sup>.

Besides *H. perforatum*, other species of the *Hypericum* genus are being studied to identify their constituents as well as anti-inflammatory, anti-proliferation, and anti-microbial activities<sup>[33–35]</sup>. Among these species, a more lipophilic fraction of *Hypericum gentianoides* methanol extract rich in acylphloroglucinols, was found to have potent inhibitory effect on LPS-induced macrophage production of prostaglandin E<sub>2</sub><sup>[36]</sup>.

In this study, an attempt has been made to investigate another species of *Hypericum*—*Hypericum scabroides* (*H. scabroides*). It aims to evaluate the anti-inflammatory activity of the methanol extract of aerial parts of *H. scabroides*.

## 2. Materials and methods

Fresh aerial parts of *H. scabroides* (Clusiaceae Lindley, syn. Guttiferae A.L. de Jussieu) for the proposed work were collected from East Anatolia, namely, Erzincan–Kelkit, 15 km to Kelkit, 1550 m and were authenticated. Vouchers were deposited in the Herbarium of Istanbul University, Faculty of Pharmacy (ISTE 85343).

All the experiments were carried out using Swiss albino mice (24–30 g). All the experimental procedures and protocols used in this study were approved by the Institutional Animal Ethics Committee (1205/c/08/CPCSEA, 21.04.08). The animals were housed in polypropylene cages and maintained under standard laboratory conditions. Animals were housed at a temperature of (24±2) °C and relative humidity of 60%–70%. They were fed with a standard diet and water was given *ad libitum*. All experiments were conducted after overnight fasting but there was free access to water. The mice were divided into 3 groups, a minimum of six animals were used in each group.

The following chemicals procured from various sources were used in this investigation *i.e.* carrageenan, Brewer's

yeast (Sigma Aldrich, Bangalore, India), petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, acetic acid (Rankem, New Delhi, India), carboxymethyl cellulose (CMC, Loba Chemie, Mumbai, India) and diclofenac sodium (Akums Drugs and Pharmaceuticals, Delhi, India) were used during the experimental protocol.

### 2.1. Chemical agents

Hypericin, chlorogenic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, quercitrin, kaempferol, quercetin, amentoflavon, hyperforin,  $AlCl_3$  and D-Galactose were obtained from Sigma–Aldrich (Taufkirchen, Germany). Pseudohypericin was obtained from PhytoPlan (Heidelberg, Germany). Milli-Q ultrapure water was obtained from Millipore (Billerica, MA), high–performance liquid chromatography grade acetonitrile, methanol, ethylacetate and sodium dihydrogen phosphate dihydrate were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) and ortho–phosphoric acid 85% was obtained from Fluka (Steinheim, Switzerland).

### 2.2. Extraction and preparation of sample

The dried aerial parts of *H. scabroides* were macerated with methanol (100 mL) ( $3 \times 24$  h) and this procedure was repeated twice at room temperature. The extract was filtered and dried under reduced pressure at a temperature below 45 °C. The crude methanol extract was lyophilized and stored at  $-20$  °C for biological investigations[37–39].

### 2.3. Inflammatory paw edema test in mice

In this part of the experiment, the anti–inflammatory activity of the methanolic extract was investigated on carrageenan–induced inflammatory paw edema[40].

The methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* was dissolved and dispersed in physiological saline (0.09%) and administrated by orally for pretreated group of mice at 200 mg/kg dosage. Physiological saline (0.09%) was given to the control group at the same volume as vehicle. One hour after administration, 0.1 mL of 0.5% carrageen solution was injected into the footpad of the hind paws of each mouse in all groups. Prior to carrageenan injection, the mice' paw volume was measured with a plethysmometer.

Increasing of carrageenan induced inflammatory paw volume was measured at 1, 3, and 6 h over the injection. The anti–inflammatory activity of *H. scabroides* extracts was compared with that of 50 mg/kg diclofenac.

The percentage inhibition of the inflammation was

calculated from the formula:  $\text{inhibition\%} = (D - D_1) / D_0 \times 100$ , where D is the diameter of injected paw,  $D_0$  is the average inflammation (hind paw edema) of the control group of mice at a given time 0; and  $D_1$  is the average of diameters of hind paw edema of the drug treated (*i.e.* extract or reference diclofenac) mice at the same time[41].

### 2.4. Acute toxicity

Methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* in 200 mg/kg doses was administered to the mice orally (*p.o.*). All animals were observed for 24 h after drug administration.

### 2.5. Statistical analysis

The observations were expressed as mean  $\pm$  SD. The difference in response to test drugs was determined as a percentage.  $P < 0.05$  was considered significant when compared to the control group. All statistical calculations were analysed using One–way ANOVA followed by multiple comparison tests.

## 3. Results

### 3.1. Acute toxicity

After oral administration of the methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* 200 mg/kg doses, no mortality was recorded for all animals observed 24 h after drug administration.

### 3.2. Chemical compounds

Chemical compounds of methanolic extract of *H. scabroides* represented in Table 1, revealed presence of some compounds in traces (pseudohypericin, hypericin, kaempferol). Furthermore, Chlorogenic acid, Rutin, Hyperoside and Isoquercitrin percentage values of methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* varied between 0.014% and 0.034%.

### 3.3. Liquid chromatography

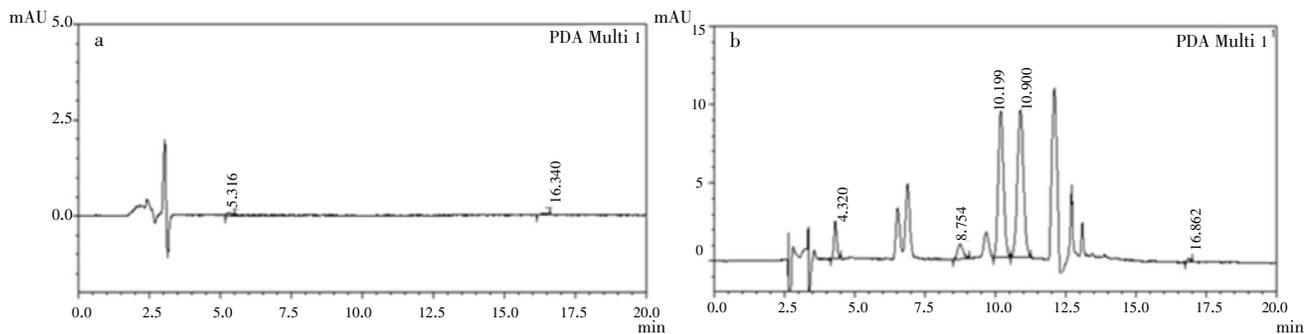
The liquid chromatography chromatograms of the methanolic extract of *H. scabroides* were showed in Figure 1. At 590 nm, the phytochemical investigation in the present study revealed the presence of pseudohypericin and hypericin. Moreover at 360 nm, the presence of chlorogenic

**Table 1**

% Value of chemical compounds of HSM (Mean±SD; n=3).

Compounds	Retention time (min)	Calibration equation values	Linear regression( $r^2$ )	% Value of HSM
Pseudohypericin	4.86	$y=2.582269e+007x+1741.874$	0.9998	Trace
Hypericin	13.93	$y=6.03411e+007x+297.2292$	0.9999	Trace
Chlorogenic acid	4.33	$y=5110294x+1490.398$	0.9999	0.0140±0.0005
Rutin	8.89	$y=1.383368e+007+5188.182$	0.9999	0.0050±0.0006
Hyperoside	10.19	$y=2.849917e+007x+526.7023$	0.9999	0.0160±0.0005
Isoquercitrin	10.75	$y=1.671137e+007x-3712.788$	0.9999	0.0340±0.0005
Quercitrin	14.41	$y=1.205178e+007-3518.974$	0.9999	Not determined
Kaempferol	17.09	$y=5.183916e+007x+4373.856$	0.9999	Trace
Quercetin	17.84	$y=3.688175e+007+18905.43$	0.9999	Not determined
Amentoflavon	20.27	$y=2.207879e+007+772.0972$	0.9996	Not determined
Hyperforin	27.75	$y=6212343x$	0.9997	Not determined

HSM: Methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides*.



**Figure 1.** Liquid chromatography chromatogram of methanolic extract of *H. scabroides*.

Pseudohypericin (1), hypericin (2) in the methanolic extract of *H. scabroides* at 590 nm (a). Chlorogenic acid (1), rutin (2), hyperoside (3), isoquercitrin (4), kaempferol (5) in the methanolic extract of *H. scabroides* at 360 nm (b).

acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin and kaempferol was revealed.

### 3.4. Anti-inflammatory activity

Percentage increase in paw volume was significantly reduced after 1 h pretreatment with *H. scabroides* in treated mice compared to controls. This reduction was maintained for 3 h after pretreatment. The values in 6 h were similar among three groups.

According to diclofenac sodium antiinflammatory effect, the diclofenac sodium group shows an important diminution in percentage increase in paw volume induced by carrageenan (Table 2).

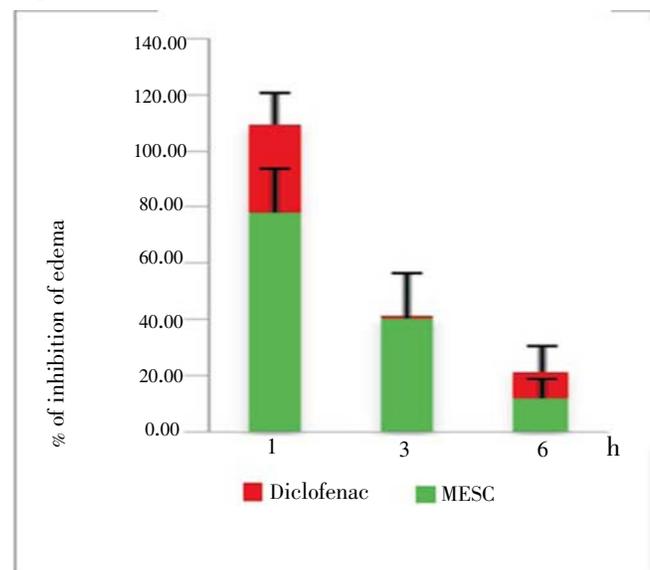
**Table 2**

Effect of *H. scabroides* methanol extract (aerial parts) on carrageenan induced paw volume.

Treatment	Doses (mg/kg)	Percentage increase in paw volume induced by carrageenan		
		1 h	3 h	6 h
Controls		52.84±9.64	36.97±6.88	22.94±9.89
<i>H. scabroides</i>	200	8.55±3.74***	21.71±5.97***	20.16±5.50
Diclofenac	50	36.40±16.66**	36.18±0.95***	20.80±7.54

Values are expressed in mean±SEM (n=6); \*\*:  $P<0.001$ , \*\*\*:  $P<0.0001$ .

The anti-inflammatory activity of methanolic extract of *H. scabroides* was very important during the three post injection hours as it shown in Figure 2. However, this activity was similar as the diclofenac one at the sixth hour of experimentation.



**Figure 2.** Percentage inhibition of edema by methanol extract of *H. scabroides* (aerial parts) at different time intervals determined with diclofenac sodium as reference.

MESC: methanol extract of *H. scabroides*.

#### 4. Discussion

The present experimental investigation revealed that methanol extract of aerial parts of *H. scabroides* possessed significant anti-inflammatory activity in experimental animals at a dose of 200 mg/kg.

Carrageenan-induced hind paw edema is the standard experimental model of acute inflammation. Moreover, the experimental model exhibits a high degree of reproducibility[42]. It has a biphasic effect. The first phase is due to release histamine and serotonin (5-HT) (0–2 h), while plateau phase is maintained by a kinin like substance (3 h) and a second accelerating phase of swelling is attributed to PG release (>4 h)[43].

Methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* produced significant inhibition of carrageenan-induced paw edema. The inhibition was more important than that of the standard drug—diclofenac sodium. There are several mediators or multi processes underlining the pathogenesis of fever. Inhibition of any of these mediators may bring about antipyresis[44]. On preliminary phytochemical screening methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* was found to contain flavonoid compounds. Flavonoids are known to target prostaglandins, which are involved in the late phase of acute inflammation and pain perception[45]. Indeed, the occurrence of flavonoids in the methanolic extract from the aerial parts of some species of *Hypericum* is well documented. The content of these metabolites is reported to be high in the flowers during the budding stage, immediately before flowering (up to 12%/dry weight)[46]. Moreover, Umek *et al.* reported that the rutin content in *H. perforatum* is positively correlated with the altitude of the locality where the plant grows. The flavonol quercetin and its glycoside derivatives, rutin, hyperoside, isoquercitrin, quercitrin, and the biflavones 13,118-biapigenin and amentoflavone are described as the most common compounds in the drug extracts. Recently, a detailed chemical study by on-line coupling of high-performance liquid chromatography with UV, nuclear magnetic resonance and mass spectrum[47], allowed the determination of two other flavonoids in *H. perforatum*: the quercetin-glucuronide and the quercetin arabinoside. Our phytochemical study of *H. scabroides* revealed presence of some of these compounds (isoquercitrin, hyperoside, rutin and chlorogenic acid), which could be involved for anti-inflammatory activity of the methanolic extract. Furthermore, different phytochemicals produces have been found to have a broad range of activities, which may help in protection

against chronic diseases[48]. These compounds are known to be biologically active. Alkaloids which are one of the largest groups of phytochemicals in plants have amazing effects on humans and have led to the development of powerful pain killer medications[49]. It should be noted that the anti-inflammatory activities of many plants have been attributed to their triterpene or flavonoid contents[50]. It has been also demonstrated that various flavonoids (such as rutin, quercetin, and luteolin), biflavonoids, and triterpenoids (such as ursolic acid) produced significant antinociceptive and/or anti-inflammatory activities[50,51]. The effective anti-inflammatory activity of ethanolic extract of aerial parts of *H. scabroides* is due to the higher concentration of bioactive phytoconstituents[52]. Hence, the presence of flavonoids may be contributory to the anti-inflammatory activity of methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides*. Although the exact nature of the anti-inflammatory activity mechanisms of the phytoconstituents have not been elucidated, the results of the present study were validated from a preclinical point-of-view, and the popular use of this medicinal plant in the treatment of inflammatory diseases. These studies are valuable for identifying lead compounds for anti-inflammatory drugs, keeping in mind the side-effects of NSAIDs and corticosteroids. Further, human studies are needed to prove the safety and efficacy of long term administration of methanol extract of *H. scabroides* as potential anti-inflammatory agent in routine clinical practice.

Finally this study showed that methanolic extract of *H. scabroides* contains several phytochemical compounds (pseudohypericin, hypericin, chlorogenic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, and kaempferol) with different percentages. These compounds may be involved for the anti-inflammatory activity and protective effect of the methanolic extracts of aerial parts of *H. scabroides* against inflammation process particularly during the first and third hours of inflammation so it could be used for clinical practices.

#### Conflict of interest statement

We declare that we have no conflict of interest.

#### Acknowledgements

This work was supported by the Algerian Ministry of the Higher Education and Scientific Research, CNEPRU project approved in 2011/2013 (Grant No. F02220120001).

## References

- [1] Vázquez AI, Sánchez CM, Delgado NG, Alfonso AM, Ortega YS, Sánchez HC. Anti-inflammatory and analgesic activities of red seaweed *Dichotomaria obtusata*. *Braz J Pharm Sci* 2011; **47**: 111–118.
- [2] Kandati V, Govardhan P, Reddy CS, Ravinder Nath A, Reddy RR. *In-vitro* and *in-vivo* anti-inflammatory activity of *Syzygium alternifolium* (wt) Walp. *J Med Plants Res* 2012; **6**: 4995–5001.
- [3] Huang N, Rizshsky L, Hauck C, Nikolau BJ, Murphy PA, Birt DF. Identification of anti-inflammatory constituents in *Hypericum perforatum* and *Hypericum gentianoides* extracts using RAW 264.7 mouse macrophages. *Phytochemistry* 2011; **72**(16): 2015–2023.
- [4] Migdal C, Serres M. [Reactive oxygen species and oxidative stress]. *Med Sci* 2011; **27**: 405–412. French.
- [5] Avery SV. Molecular targets of oxidative stress. *Biochem J* 2011; **434**: 201–210.
- [6] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; **39**: 44–84.
- [7] Büyükkokuroğlu ME, Gülçin I, Oktay M, Küfrevioğlu OI. *In vitro* antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacol Res* 2001; **44**: 491–494.
- [8] Mensah AY, Sampson J, Houghton PJ, Hylands PJ, Westbrook J, Dunn M, et al. Effects of *Buddleja globosa* leaf and its constituents relevant to wound healing. *J Ethnopharmacol* 2001; **77**: 219–226.
- [9] Gülçin I, Küfrevioğlu OI, Oktay M, Büyükkokuroğlu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol* 2004; **90**: 205–215.
- [10] Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol* 2003; **48**: 1–19.
- [11] Svobodová A, Walterová D, Psotová J. Influence of silymarin and its flavonolignans on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. *Burns* 2006; **32**: 973–979.
- [12] Gomase PV, Shire PS, Nazim S, Choudhari AB. Development and evaluation of polyherbal formulation for anti-inflammatory activity. *J Nat Prod Plant Resour* 2011; **1**: 85–90.
- [13] Dash PR, Nasrin M, Saha MR. Evaluation of analgesic and neuropharmacological activities of methanolic rhizome extract of *Hedychium coronarium*. *Int J Pharm Sci Res* 2011; **2**: 979–984.
- [14] Gomase PV, Shire PS, Nazim S, Choudhari AB, Shaikh S, Khairnar A. Phytochemical evaluation and analgesic activity of fresh juice of young stem (tender) bark of *Azadirachta indica* A. Juss. *Der Pharmacia Lettre* 2011; **3**: 407–415.
- [15] Houghton PJ, Hylands PJ, Mensah AY, Hensel A, Deters AM. *In vitro* tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. *J Ethnopharmacol* 2005; **100**: 100–107.
- [16] Maharwal J, Samarth RM, Saini MR. Radiomodulatory influence of Rajgira (*Amaranthus paniculatus*) leaf extract in Swiss albino mice. *Phytother Res* 2003; **17**: 1150–1154.
- [17] Katiyar SK, Afaq F, Perez A, Mukhtar H. Green tea polyphenol (–)–epigallocatechin–3–gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation–induced oxidative stress. *Carcinogenesis* 2001; **22**: 287–294.
- [18] Ginsburg I, Kohen R, Koren E. Microbial and host cells acquire enhanced oxidant–scavenging abilities by binding polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 2011; **506**: 12–23.
- [19] Bora KS, Sharma A. Evaluation of antioxidant and free–radical scavenging potential of *Artemisia absinthium*. *Pharm Biol* 2011; **49**(12): 1216–1223.
- [20] Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. 3rd ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates; 1999.
- [21] Mohamed Saleem TK, Azeem AK, Dilip C, Sankar C, Prasanth NV, Duraisami R. Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011; 147–149.
- [22] Padmanabhan P, Jangle NS. Evaluation of *in-vitro* anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. *Int J Basic Appl Med Sci* 2012; **2**: 109–116.
- [23] Di Cesare Mannelli L, Bani D, Bencini A, Brandi ML, Calosi L, Cantore M, et al. Therapeutic effects of the superoxide dismutase mimetic compound Mn<sup>II</sup>Me<sub>2</sub>DO<sub>2</sub>A on experimental articular pain in rats. *Mediators Inflamm* 2013; doi: 10.1155/2013/905360.
- [24] Johnston MJ, Wang A, Catarino ME, Ball L, Phan VC, MacDonald JA, et al. Extracts of the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta*, suppress macrophage activation *in vitro* and alleviate chemically induced colitis in mice. *Infect Immun* 2010; **78**: 1364–1375.
- [25] Chopade AR, Somade PM, Sayyad FJ. Membrane stabilizing activity and protein denaturation: a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Phyllanthus amarus*. *J Karad Inst Med Sci Univ* 2012; **1**(1): 67–72.
- [26] Pranakhon R, Pannangpetch P, Aromdee C. Antihyperglycemic activity of agarwood leaf extracts in STZ–induced diabetic rats and glucose uptake enhancement activity in rat adipocytes. *Songklanakarin J Sci Technol* 2011; **33**: 405–410.
- [27] Yang GM, Wang D, Tang W, Chen X, Fan LQ, Zhang FF, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Oxytropis falcate* fractions and its possible anti-inflammatory mechanism. *Chin J Nat Med* 2010; **8**: 285–292.
- [28] Boudreau LH, Maillet J, LeBlanc LM, Jean–François J, Touaibia M, Flamand N, et al. Caffeic acid phenethyl ester and its amide

- analogue are potent inhibitors of leukotriene biosynthesis in human polymorphonuclear leukocytes. *PLoS One* 2012; doi: 10.1371/journal.pone.0031833.
- [29] Kasetti RB, Rajasekhar MD, Kondeti VK, Fatima SS, Kumar EG, Swapna S, et al. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol: water (4:1) fraction isolated from aqueous extract of *Syzygium alternifolium* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2010; **48**(4): 1078–1084.
- [30] Birt DF, Widrlechner MP, Hammer KD, Hillwig ML, Wei J, Kraus GA, et al. *Hypericum* in infection: identification of anti-viral and anti-inflammatory constituents. *Pharm Biol* 2009; **47**: 774–782.
- [31] Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, Dixon PM, Delate K, Murphy PA, et al. Inhibition of prostaglandin E(2) production by anti-inflammatory hypericum perforatum extracts and constituents in RAW264.7 mouse macrophage cells. *J Agric Food Chem* 2007; **55**: 7323–7331.
- [32] Hu ZP, Yang XX, Chan SY, Xu AL, Duan W, Zhu YZ, et al. St. John's wort attenuates irinotecan-induced diarrhea via down-regulation of intestinal pro-inflammatory cytokines and inhibition of intestinal epithelial apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; **216**: 225–237.
- [33] Zdunić G, Godevac D, Milenković M, Vucićević D, Savikin K, Menković N, et al. Evaluation of *Hypericum perforatum* oil extracts for an antiinflammatory and gastroprotective activity in rats. *Phytother Res* 2009; **23**(11): 1559–1564.
- [34] Crockett SL, Wenzig EM, Kunert O, Bauer R. Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. *Phytochem Lett* 2008; **1**: 37–43.
- [35] Henry GE, Campbell MS, Zelinsky AA, Liu Y, Bowen-Forbes CS, Liu Y, et al. Bioactive acylphloroglucinols from *Hypericum densiflorum*. *Phytother Res* 2009; **23**(12): 1759–1762.
- [36] Kartnig T, Göbel I, Heydel B. Production of hypericin, pseudohypericin and flavonoids in cell cultures of various *Hypericum* species and their chemotypes. *Planta Med* 1996; **62**: 51–53.
- [37] Hillwig ML, Hammer KD, Birt DF, Wurtele ES. Characterizing the metabolic fingerprint and anti-inflammatory activity of *Hypericum gentianoides*. *J Agric Food Chem* 2008; **56**: 4359–4366.
- [38] Liao JC, Tsai JC, Peng WH, Chiu YJ, Sung PJ, Tsuzoki M, et al. Anti-inflammatory activity of N-(3-Florophenyl)ethylcaffeamide in mice. *Int J Mol Sci* 2013; **14**(8): 15199–15211.
- [39] Radulović N, Stankov-Jovanović V, Stojanović G, Šmelcerović A, Spiteller M, Asakawa Y. Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chem* 2007; **103**(1): 15–21.
- [40] Trovato A, Raneri E, Kouladis M, Tzakou O, Taviano MF, Galati EM. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Hypericum empetrifolium* Willd. (Guttiferae). *II Farmaco* 2001; **56**(5–7): 455–457.
- [41] Marzocco S, Di Paola R, Serraino I, Sorrentino R, Meili R, Mattaceraso G, et al. Effect of methylguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in the rats. *Eur J Pharmacol* 2004; **484**: 341–350.
- [42] Çadirci E, Süleyman H, Gürbüz P, Kuruüzüm UZ A, Güvenalp Z, Demirezer LÖ. [Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species]. *Turk J Biol* 2012; **36**: 59–64. Turkish.
- [43] Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; **111**: 544–547.
- [44] El-Shenawy SM, Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-Batran S, Arbid MS. Studies on the anti-inflammatory and antinociceptive effects of melatonin in the rat. *Pharmacol Res* 2002; **46**: 235–243.
- [45] Morimoto A, Nakamori T, Watanabe T, Ono T, Murakami N. Pattern differences in experimental fevers induced by endotoxin, endogenous pyrogen, and prostaglandins. *Am J Physiol* 1988; **254**: R633–R640.
- [46] Chippada SC, Volluri SS, Bammidi SR, Vangalapati M. *In vitro* anti inflammatory activity of methanolic extract of *Centella asiatica* by HRBC membrane stabilization. *Rasayan J Chem* 2011; **4**(2): 457–460.
- [47] Hansen SH, Jensen AG, Cornett C, Bjørnsdottir I, Taylor S, Wright B, et al. High-performance liquid chromatography on-line coupled to high-field NMR and mass spectrometry for structure elucidation of constituents of *Hypericum perforatum* L. *Anal Chem* 1999; **71**: 5235–5241.
- [48] Rahman H, Vakati K, Eswaraiah MC. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Aquilaria agallocha* oil. *Int J Basic Med Sci Pharm* 2012; **2**(1): 7–10.
- [49] Da Silva G, Taniça M, Rocha J, Serrano R, Gomes ET, Sepodes B, et al. *In vivo* anti-inflammatory effect and toxicological screening of *Maytenus heterophylla* and *Maytenus senegalensis* extracts. *Hum Exp Toxicol* 2010; **30**: 693–700.
- [50] Srivastava S, Singh P, Jha KK, Mishra G, Srivastava S, Khosa RL. Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of aerial parts of *Costus speciosus* Koen. *Indian J Pharm Sci* 2013; **75**(1): 83–88.
- [51] Silva GN, Martins FR, Matheus ME, Leitão SG, Fernandes PD. Investigation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Lantana trifolia*. *J Ethnopharmacol* 2005; **100**: 254–259.
- [52] Yousuf M, Aslam K, Wani BA, Aslam N, Dar NA, Nawchoo IA. *In vitro* antibacterial activity and phytochemical studies of methanolic extract of leaves of *Hypericum perforatum* L. growing wild in Kashmir Himalaya. *Asian J Plant Sci Res* 2012; **2**(4): 414–420.