

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N° :

DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : DEFFAF Fahima

BEN LECHHEB Mayada

CHOUKI Hafidha

Intitulé

**Activités anti-inflammatoires de l'extrait acétonique
d'*Anacyclus clavatus***

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. KHERBACHE Abdallah

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Encadreur

Mme. BOUAZIZ Samia

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Présidente

Mme. DEHIMI Khadidja

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examinatrice

Année universitaire : 2022 /2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالَ مَوْلانا

لَسْبَبًا أَنْكَ لَا تَعْلَمُ لَنَا

إِلَّا مَا عَلِمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ

الْعَلِيمُ الْعَظِيمُ

صدق الله العظيم

Remerciement

*Avant toute chose, nous remercions **ALLAH** tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience et de nous avoir gardé en bonne santé pour mener ce travail à terme*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à notre promoteur **Mr. KHERBACHE Abdallah** pour avoir accepté de nous encadrer. Nous ne vous remercierons jamais assez pour votre patience, votre soutien et vos précieux conseils.*

Merci pour la confiance que vous nous avez faite.

*Nous remercions chaleureusement les membres du jury, **M^{me}.DEHIMI Khadidja** et **M^{me}.BOUAZIZ Samia**, Vous nous faites un grand honneur d'avoir accepté d'être le jury de notre soutenance.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à **Mr. HARRAR Abdénassar** pour sa gentillesse sans limite, ses bons conseils et ses orientations, ses qualités humaines et ses encouragements constants envers nous et tous les étudiants.*

*Nous remercions également tous qui ont participé à la réalisation de ce modeste travail de près ou de loin et surtout aux membres du laboratoire de Biochimie et Microbiologie en particulier : **Mr. SGHERI Kamel**, **Mme hamida**, **Mlle. Halima**, **Mme.***

Meriem et Mme. Ilham.

Nous adressons nos remerciements à toute la promotion de la Biochimie Appliquée et Nos chères collègues.



Dédicace

Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour, que dieu te garde pour nous papa **Lahcen***

*A ma très chère mère **Fadila***

Tu représentes pour moi l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

*A ceux que j'aime beaucoup mes belle sœurs **Chemssa** et **Bariza**, mes frères **Aymen**, **Achref** et **Abdelkader** qui m'ont toujours soutenu et étaient toujours à mes coté.*

A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée.

*A ma copine et ma Binôme **Mayada***

En témoignage de l'amitié que nous uni et de Tous les Moments de stress, de Joie et de fatigue que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail

Fahima



Dédicaces

Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour, que dieu te garde pour nous Papa **Khalifa***

*A ma très chère mère **khadra***

Tu représentes pour moi l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

*A ceux que j'aime beaucoup mes frères **Mohammed, Abou Bakr al-siddik** et **Djahid**, mes belles sœurs **Karima** et **Kholoud** qui mon toujours soutenus et étaient toujours à mes coté.*

A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée.

*A ma copine et ma Binôme **Fahima***

En témoignage de l'amitié que nous uni et de Tous les Moments de stress, de Joie et de fatigue que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail.

Mayada



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A Mon Père **Yahya***

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices, tes consentis pour ma formation.

*A Ma Mère **Fatíha***

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, Tu représentes pour moi l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

*A mes très chers frères : **Marouane, Belkacem, Ayman, Akram***

Sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant toute ma vie.

*A mon mari : **massoud**, qui mon toujours soutenus et étaient toujours à mes côtés.*

A tous ma famille

*A Mes chères amies : **Amína et Donía***

*A mes copines : **Farída, Karíma, Ríma***

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université

Hafídhá

Abstract

The objective of the present study is to evaluate the anti-inflammatory properties of the acetonc extract of the aerial part of *Anacyclus clavatus*. The contents of total polyphenols and flavonoids of the extract were determined using the method of Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride, respectively. The results reveal that (AC. E) is riche in polyphenols and flavonoids with values of $79.85 \pm 7.995 \mu\text{g GAE/mg}$ of extract and $9.474 \pm 0.1 \mu\text{g QE/mg}$ of extract, respectively. Anti-inflammatory activity was assessed using human erythrocyte membrane stability (HRBC) assays and xylene-induced ear edema assay in mice, Compared with the synthetic anti-inflammatory diclofenac and indomethacin. The *in vitro* evaluation of anti-inflammatory activity shows that AC. E have a strong inhibitory activity with a percentage inhibition of 99.33% at the dose 2 mg/ml. The results of anti-inflammatory activity *in vivo* showed a remarquable reduction in the increase in edema volume with a percentage inhibition of 75% for AC. E, a relatively high reduction to that obtained with indomethacin, the reference anti-inflammatory (70%). In conclusion, the acetonc extract of *Anacyclus clavatus* possess a significant anti-inflammatory activity due to the presence of phenolic compounds which can be exploited in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Anacyclus clavatus*, anti-inflammatory, polyphenols, flavonoids, plant extract.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للالتهابات للمستخلص الأسييتوني للجزء الهوائي لنبته *Anacyclus clavatus*. تم التقدير الكمي لكل من متعدد الفينول والفلافونويدات باستخدام طريقة Folin Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. اظهرت النتائج المتحصل عليها ان المستخلص الأسييتوني غني بمتعدد الفينول والفلافونويدات بقيمة 79.185 ± 7.995 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ مستخلص و 9.474 ± 0.1 ميكروغرام مكافئ كيرستين/مغ مستخلص، على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات بالاعتماد على اختبار استقرار غشاء كريات الدم الحمراء البشرية واختبار وذمة الأذن المحدث بـ Xylène عند الفئران، مقارنة مع ديكلوفيناك والاندوميثاسين على الترتيب. حيث اعطى اختبار استقرار غشاء كريات الدم الحمراء نتائج تثبت ان المستخلص الاسيتوني له نشاط فعال في حماية غشاء هذه الكريات ضد الانحلال بنسبة 99.33% بجرعة 2مغ/مل. من جهة أخرى اعطي العلاج عبر الفم بجرعة 200 مع/كغ من المستخلص الاسيتوني تأثير مضاد لالتهاب الأذن المحفز بـ Xylène مع معدل تثبيط يقدر بـ 75% لوذمة الأذن. هذه النتائج أحسن من المتحصل عليها مع مضاد الالتهاب التجاري (70%). في الختام، المستخلص الاسيتوني لنبته *A. clavatus* يمتلك نشاطية عالية ضد الالتهاب بسبب وجود المركبات الفينولية التي يمكن استغلالها في صناعة الأغذية والادوية.

كلمات مفتاحية: *Anacyclus clavatus*، مضادات الالتهاب، متعدد الفينول، فلافونويدات، مستخلص النبتة.

Résumé

Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire de l'extrait acétonique (E.AC) de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats révèlent que l'E.AC est riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de $79.185 \pm 7.995 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et $9.474 \pm 0.1 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en utilisant les tests de la stabilité membranaire des érythrocytes humains (HRBC) et le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. En comparaison avec les anti-inflammatoires de références (diclofénac et l'indométacine). L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire montre que l'E.AC a une activité inhibitrice forte avec un pourcentage d'inhibition maximale de 99.33% à la dose 2 mg/ml. Les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* montrent une réduction remarquable de l'augmentation de volume d'œdème avec un pourcentage d'inhibition de 75 % d'extrait acétonique, une réduction relativement élevée que celle obtenue avec l'indométacine, anti-inflammatoire de référence (70 %). En conclusion, l'extrait acétonique possède une activité anti-inflammatoire importante due à la présence des composés phénoliques qui peuvent être exploités dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés : *Anacyclus clavatus*, anti-inflammatoire, polyphénols, flavonoïdes, extrait de plante.

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

ANOVA : Analyse des variances

COX : Cyclooxygénase

ONAB : l'Office National de l'Alimentation du Bétail

PBS : Tampon phosphate saline

RBC : Globules rouges

SD : Ecart-type

SEM : Erreur standard de la moyenne

EAG : Equivalent d'acide gallique

EQ : Equivalent de la quercétine

PG : Prostaglandines

PKC : Protéine Kinase C

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale

IL : Interleukine

TGF : Facteur de croissance de transformation

GRE : Elément de réponse glucocorticoïde

CBP : Protéine de liaison à l'élément de réponse à l'AMP cyclique

HAT : histone acétyltransférase

GR : Récepteur des glucocorticoïdes

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Classification de l'inflammation en fonction de la durée et des fonctions immunitaires	3
Figure 2: Voies de l'inflammation aigue et leur processus d'activation	4
Figure 3: Etapes des processus inflammatoires chroniques et leurs conséquences	5
Figure 4: Médiateurs cellulaires et biochimiques qui participent dans le processus inflammatoire	6
Figure 5: Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.....	8
Figure 6: Mécanisme d'action de anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	9
Figure 7: Aspect morphologique de la plante <i>Anacyclus clavatus</i>	11
Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	15
Figure 9: Courbe d'étalonnage de la quercétine	16
Figure 10: Effet de l'extrait acétonique d' <i>Anacyclus clavatus</i> sur les globules rouges humains induite par un milieu hypotonique	20
Figure 11: Effet de l'extrait acétonique d' <i>Anacyclus clavatus</i> sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.....	21

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Certaines maladies associées à l'inflammation	7
Tableau 2: Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait acétonique d' <i>Anacyclus clavatus</i>	19

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Inflammation.....	2
I.1. Définition	2
I.2. Types de l'inflammation :.....	2
I.2.1. Inflammation aiguë	2
I.2.2. Inflammation chronique :.....	4
I.3. Médiateurs de l'inflammation :.....	5
I.4. Implications pathologiques de l'inflammation :	6
II. Anti-inflammatoires :.....	7
II.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens :	7
II.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :	8
II.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale :	9
III. La plante <i>Anacyclus clavatus</i> (DESF).	10
III.1. Aspect botanique	10
III.2. Usages traditionnels	10
III.3. Composition phytochimiques.....	11

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES.....	13
I. Matériel.....	13
I.1. Matériel végétal	13
I.2. Animaux.....	13
I.3. Sang humain.....	13
I.4. Produit et réactifs	13
II. Méthodes	13
II.1. Préparation de l'extrait acétonique	13

II.2. Dosage des polyphénols totaux	14
II.2.1. Principe	14
II.2.2. Protocole	14
II.3. Dosage des flavonoïdes	14
II.3.1. Principe	14
II.3.2. Protocole	15
II.4. Activité anti-inflammatoire d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	15
II.4.1. Stabilité membranaire des érythrocytes humains	15
II.4.2. Œdème de l'oreille induit par xylène chez la souris	17
II.5. Analyses statistiques	17
RESULTATS ET DISCUSSION	19
I. RESULTATS	19
I.1. Préparation d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	19
I.2. Détermination de la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes	19
I.3. Activité anti-inflammatoire d'extrait d' <i>Anacyclus clavatus</i>	19
I.3.1. Effets d'extrait acétonique d' <i>Anacyclus clavatus</i> sur la stabilité membranaire des érythrocytes humains	19
I.3.2. Effet d'extrait sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris	20
II. Discussion	22
II.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes	22
II.2. Activités anti-inflammatoires	23
II.2.1. Effet des extraits sur la stabilité membranaire des érythrocytes humains	23
II.2.2. Effet anti-œdémateux	24
CONCLUSION ET PERSPECTIVE	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	27

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'inflammation est un mécanisme de défense du système immunitaire de l'organisme contre les lésions tissulaires, les substances étrangères indésirables ou les agents pathogènes qui envahissent les cellules tissulaires ([Ribaldone et al., 2018](#)). L'inflammation est un problème mondial grave en raison de ses symptômes débilitants, qui entraînent des souffrances considérables et une perte de productivité. Les maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes sont particulièrement préoccupantes. Plusieurs thérapies pharmaceutiques sont déjà disponibles. Toutefois, l'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) s'accompagne d'effets secondaires nocifs et toxiques. Il est donc impératif de rechercher des alternatives thérapeutiques plus sûres et aux effets secondaires limités. L'utilisation de plantes médicinales est une pratique courante au sein de la population d'Afrique australe et peut fournir des cibles pour le développement de médicaments ([Khumalo et al., 2022](#)).

Les plantes sont utilisées depuis l'Antiquité pour soigner et guérir les maladies et pour améliorer la santé et le bien-être des populations. Les plantes médicinales et aromatiques constituent toujours la base des systèmes de santé traditionnels ou indigènes des populations dans la plupart des pays en développement ([Barata et al., 2016](#)). Les études de bioactivité sont se concentrer sur les plantes médicinales isolées et leurs composés, grâce à des techniques traditionnelles d'extraction, d'isolement et d'identification, pour trouver des substances ou des molécules qui produisent des effets bénéfiques avec peu ou pas d'effets secondaires. L'Algérie est stratégiquement située et une véritable terre de flore et de diversité ([Ziani et al., 2015](#)). De plus, les Algériens ont une longue connaissance de la médecine traditionnelle et des plantes médicinales.

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre travail est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire d'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* *in vitro* et *in vivo*.

- Dans la partie bibliographique en parle sur les diverses connaissances bibliographiques sur l'inflammation, les anti-inflammatoires et la plante à l'étude.
- Dans la partie expérimentale, nous devons développer :
 - Préparation d'un extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*.
 - Détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait étudié.
 - Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :
 - ✓ *In vitro* par le test de stabilité membranaire des érythrocytes humains.
 - ✓ *In vivo* par le test de l'œdème de l'oreille induit par xylène chez la souris.
 - La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus et à leur discussion, puis aux conclusions.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. Inflammation

I.1. Définition

L'inflammation est définie, depuis de nombreuses années, comme la réponse à une lésion tissulaire ou à une infection. Ce concept a été récemment mis à jour en raison de l'avalanche de rapports dans lesquels les molécules et les cellules associées à l'inflammation sont également impliquées en l'absence de lésion tissulaire ou d'infection. Ainsi, l'inflammation peut être définie comme la réponse innée à des stimuli nocifs tels que les agents pathogènes, les lésions et le stress métabolique, et sa fonction ultime est de rétablir l'état homéostatique physiologique ([Antonelli & Kushner, 2017](#)). En réponse à une agression telle qu'une infection, des composés toxiques, des cellules endommagées ou une irradiation, dans le but de restaurer l'homéostasie tissulaire. Elle se caractérise par cinq éléments essentiels, à savoir la tumeur (gonflement/œdème), la couleur (rougeur), la douleur (dolor), la fièvre (chaleur) et la (dysfonctionnement des organes/tissus) ([Oschman et al., 2015](#)). Il y a deux types d'inflammations :

L'inflammation aiguë est indispensable à la réponse immunitaire aux agents pathogènes envahissants ou aux lésions traumatiques aiguës. Ce processus permet la réparation et le renouvellement des cellules dans de nombreux tissus. En revanche, l'inflammation chronique provoque normalement une inflammation de faible intensité et persistante, qui conduit à la dégénérescence des tissus ([Straub & Schradin, 2016](#)) (**Figure 1**).

L'inflammation aiguë peut se transformer en inflammation chronique ([Pawelec et al., 2014](#)). Si une inflammation aiguë ne s'est pas résorbée en quelques jours elle peut donc être considérée comme chronique.

I.2. Types de l'inflammation :

I.2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse protectrice de l'hôte qui se met en place en réponse à une lésion tissulaire ou à une infection ([Sansbury & Spite, 2016](#)). Cependant, de plus en plus d'éléments indiquent que la résolution d'une réponse inflammatoire aiguë, considérée comme un processus actif, est le résultat idéal qui conduit à la restauration des tissus et à la fonction des organes ([Gubernatsch et al., 2020](#)). L'inflammation aiguë est une procédure courte, qui dure de quelques minutes à quelques jours, et dont les principales caractéristiques sont la fuite de protéines plasmatiques ou de liquide et le déplacement de leucocytes dans une zone extravasculaire. Ces réactions cellulaires et vasculaires sont favorisées par des facteurs chimiques produits par les cellules ou le plasma et sont responsables des symptômes cliniques classiques de l'inflammation

tels que le gonflement, la rougeur, la douleur, la chaleur et la perte de fonction. Bien qu'une réponse inflammatoire puisse survenir à la suite de n'importe quel stimulus, la caractéristique de ce processus est la réaction du tissu conjonctif vascularisé ([Markiewski & Lambris, 2007](#)).

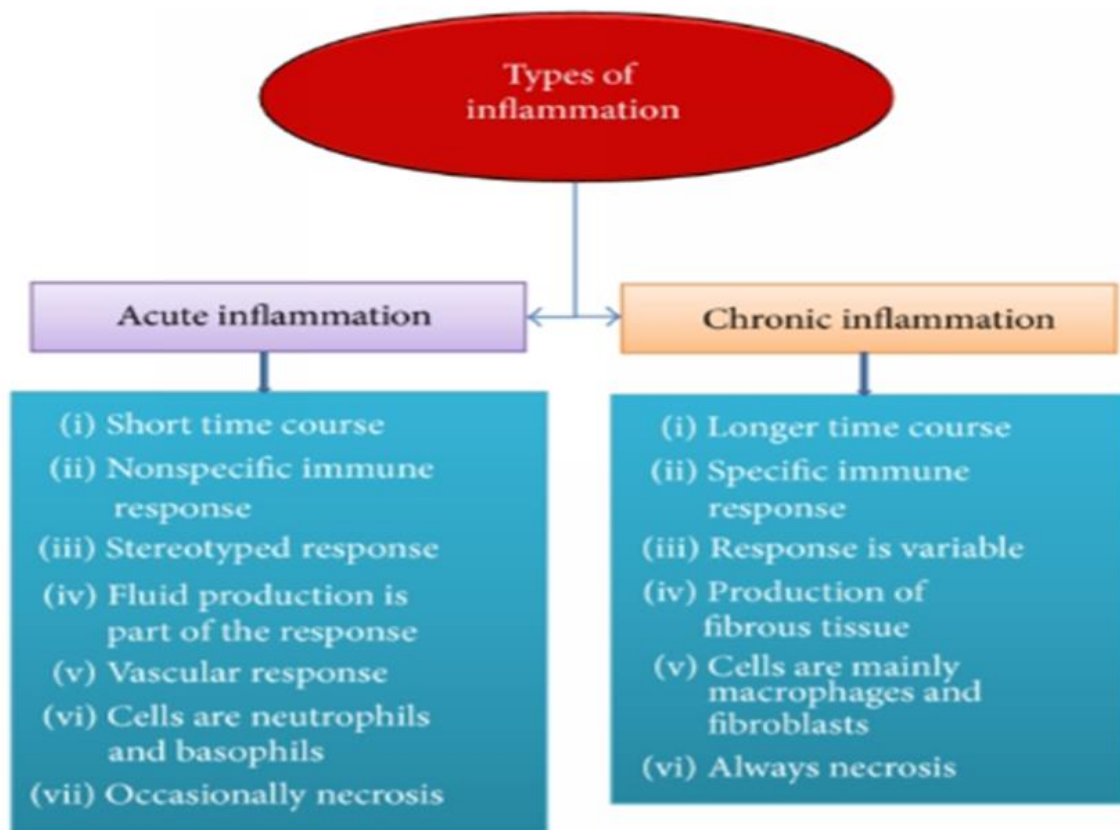


Figure 1: Classification de l'inflammation en fonction de la durée et des fonctions immunitaires ([Arulselvan et al., 2016](#)).

Les réactions inflammatoires aiguës se déroulent en trois étapes principales : augmentation du flux sanguin vers la zone enflammée, vasodilatation et perméabilité vasculaire accrue avec fuite de plasma de la microcirculation, et migration des leucocytes phagocytaires vers les tissus environnants ([Kobayashi et al., 2014](#)) (**Figure 2**).

La réponse inflammatoire est extrêmement complexe et comprend plusieurs étapes, notamment la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de résolution. Les leucocytes sont les principaux effecteurs cellulaires qui dirigent cette réponse par divers mécanismes, notamment des médiateurs chimiques tels que les cytokines ([Wynn & Ramalingam, 2012](#)).

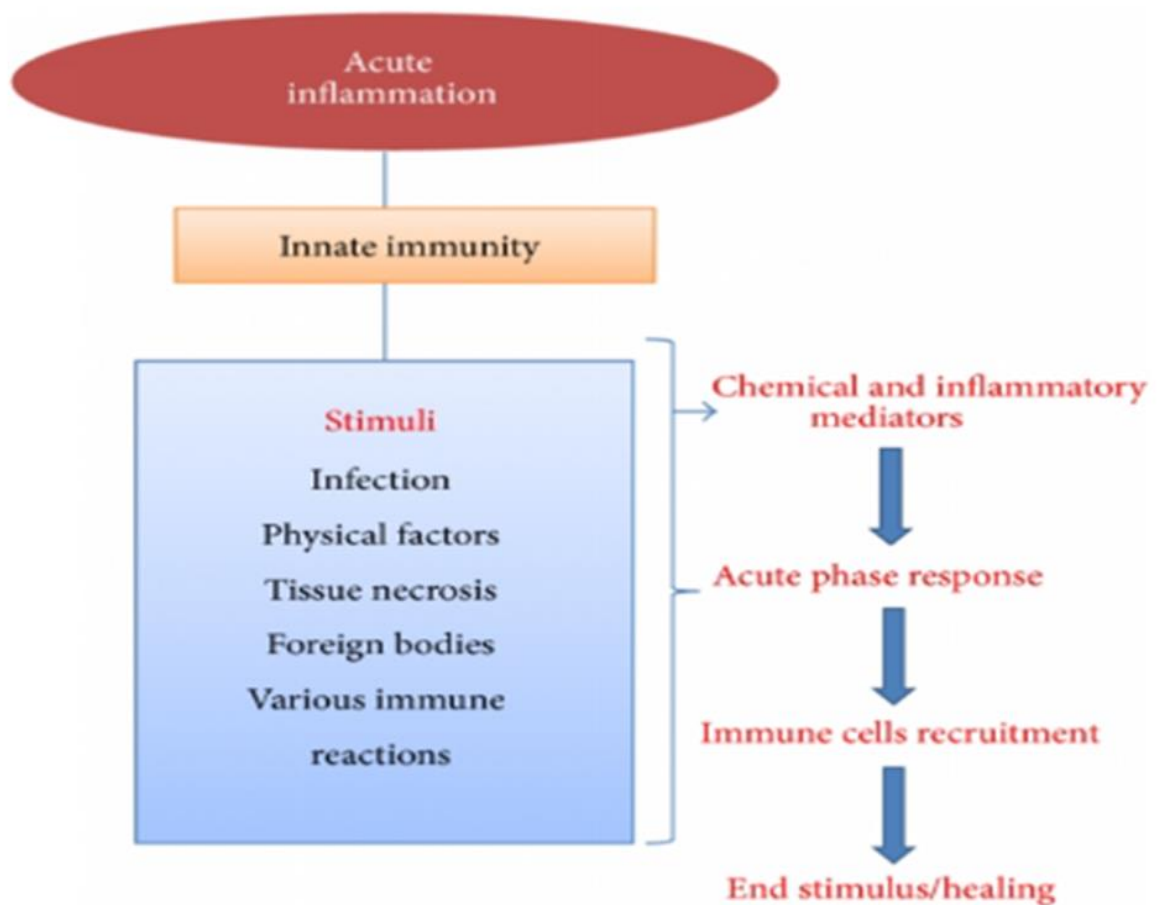


Figure 2: Voies de l'inflammation aigue et leur processus d'activation
([Arulselvan et al., 2016](#)).

I.2.2. Inflammation chronique :

L'inflammation chronique est une inflammation qui n'a pas tendance à guérir d'elle-même et qui est progressive, persistante ou s'aggrave au fil des mois ou des années. Contrairement à l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas, mais coexistent tout au long de la progression de cette inflammation. L'inflammation chronique entraîne souvent une perte de fonction des tissus ou des organes. Le phénomène de destruction tissulaire et les tentatives de réparation existent aussi ([Howcroft et al., 2013](#); [Lee & Surh, 2012](#); [Park et al., 2014](#)) (**Figure3**).

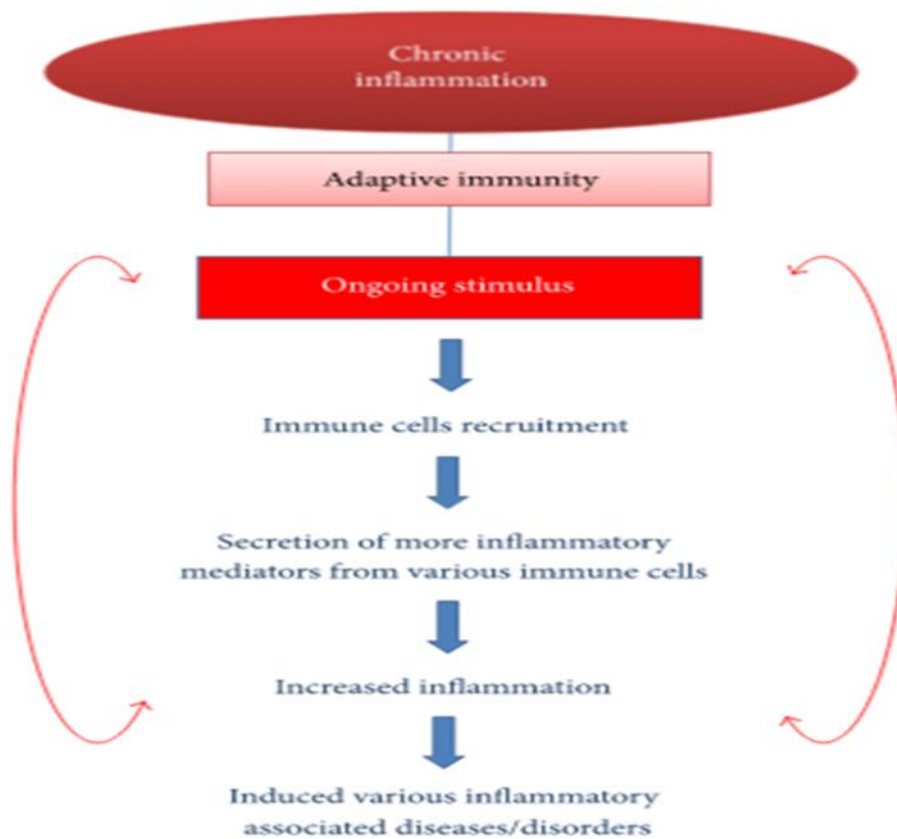


Figure 3: Etapes des processus inflammatoires chroniques et leurs conséquences
([Arulselvan et al., 2016](#)).

I.3. Médiateurs de l'inflammation :

Les médiateurs de l'inflammation sont des molécules régulatrices qui contrôlent la génération, le maintien et la résolution de cette réponse, qui est déclenchée après la reconnaissance d'une infection ou d'une blessure. La reconnaissance initiale des stimuli inflammatoires entraîne la production de médiateurs pro-inflammatoires. Ces médiateurs proviennent des cellules immunitaires (amines vasoactives, médiateurs lipidiques, facteur d'activation des plaquettes, espèces réactives de l'oxygène, oxyde nitrique, cytokines et chimiokines) ou sont des protéines de phase aiguë produites par le foie et circulant dans le plasma (systèmes du complément, de la coagulation et de la kallikréine-kinine). Ensemble, les médiateurs de l'inflammation orchestrent tous les événements inflammatoires tels que la dilatation des vaisseaux sanguins, la perméabilité vasculaire, la migration des leucocytes vers le tissu affecté et la douleur ([Galvão et al., 2018](#)).

Divers médiateurs chimiques provenant du système circulatoire, des cellules inflammatoires et des tissus lésés contribuent activement à la réponse inflammatoire et l'adaptent ([Halliwell & Gutteridge, 2015](#)). Les médiateurs chimiques libérés comprennent (1) des amines vasoactives

telles que l'histamine et la sérotonine, (2) des peptides (par exemple, la bradykinine) et (3) des eicosanoïdes (par exemple, les thromboxanes, les leucotriènes et les prostaglandines).

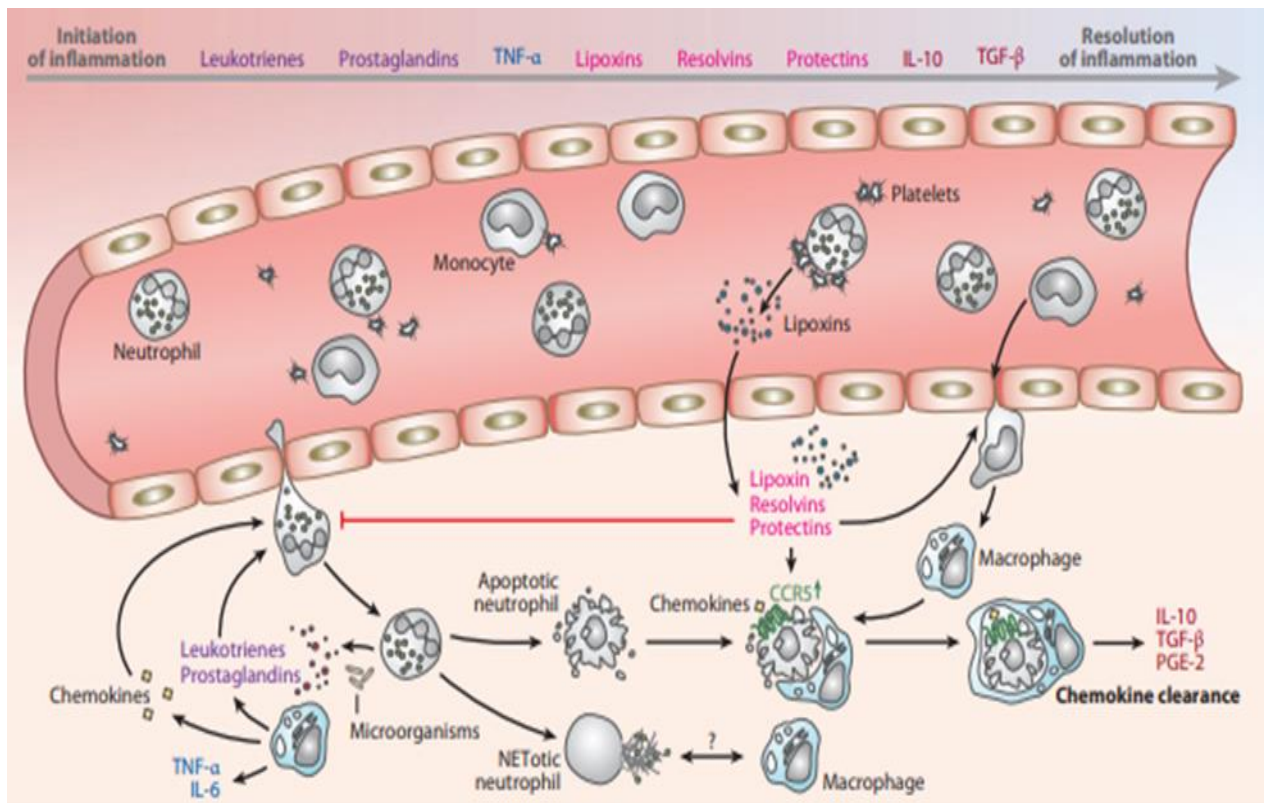


Figure 4: Médiateurs cellulaires et biochimiques qui participent dans le processus inflammatoire ([Amulic et al., 2012](#)).

I.4. Implications pathologiques de l'inflammation :

L'implication de l'inflammation dans une variété de pathologies humaines est assez évidente, y compris des maladies aussi diverses que la maladie de Crohn, la polyarthrite rhumatoïde, les myopathies inflammatoires et le lupus érythémateux disséminé ([Beyaert et al., 2013](#)). De nombreuses maladies inflammatoires sont associées à des mécanismes considérés comme des anomalies immunitaires, c'est-à-dire des maladies auto-immunes systémiques et localisées, des maladies auto-inflammatoires, des états inflammatoires de mécanisme inconnu, notamment des états iatrogènes ou paranéoplasiques où le mécanisme n'est pas auto-immun ([Serhan et al., 2010](#)). Quelques exemples sont rapportés dans le **tableau 2**.

Tableau 1: Certaines maladies associées à l'inflammation ([Nathan, 2002](#)).

Maladies dans lesquelles l'inflammation joue le rôle pathogénique principal	
<ul style="list-style-type: none"> • Asthme • Polyarthrite rhumatoïde • Artériosclérose • Arthrose • Goutte • Thyroïdite d'Hashimoto • Maladie d'Alzheimer 	<ul style="list-style-type: none"> • Lupus érythémateux disséminé • Eczéma • Maladie de Crohn • Spondylarthrite ankylosante • Rectocolite hémorragique • Broncho-pneumopathie chronique obstructive
Maladies infectieuses dans lesquelles l'inflammation est impliquée	
<ul style="list-style-type: none"> • Hépatite C • Dysenterie bactérienne 	<ul style="list-style-type: none"> • Tuberculose • Gastrite induite par <i>Helicobacter pylori</i>
Maladies dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale	
<ul style="list-style-type: none"> • Fibrose pulmonaire idiopathique • Bilharziose 	<ul style="list-style-type: none"> • Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique

II. Anti- inflammatoires :

Il existe deux types d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Les deux types diffèrent principalement par leur mécanisme d'action.

II.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, appelés aussi corticostéroïdes, sont des dérivés synthétiques des corticoïdes naturels, hormones sécrétées par le cortex surrénalien. Ce sont des agents anti-inflammatoires utilisés pour réduire les effets néfastes de la réponse inflammatoire ([Janeway et al., 2009](#)). Les glucocorticoïdes inhibent les prostaglandines et les protéines impliquées dans les processus inflammatoires tels que les corticostéroïdes ([Nunes et al., 2020](#)). Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et immunosuppressives qui contribuent à leur efficacité thérapeutique ([Guilpain & Le Jeune, 2012](#)). L'utilisation des glucocorticoïdes peut entraîner de nombreux effets indésirables. Le risque de ces effets augmente avec la durée et la dose de traitement. Diverses pathologies peuvent être observées, allant des maladies aiguës

telles que l'hypertension artérielle, les troubles de la synthèse naturelle des glucocorticoïdes, l'euphorie avec insomnie jusqu'à l'apparition de psychoses aiguës et d'ulcères peptiques ([Henzen, 2003](#)).

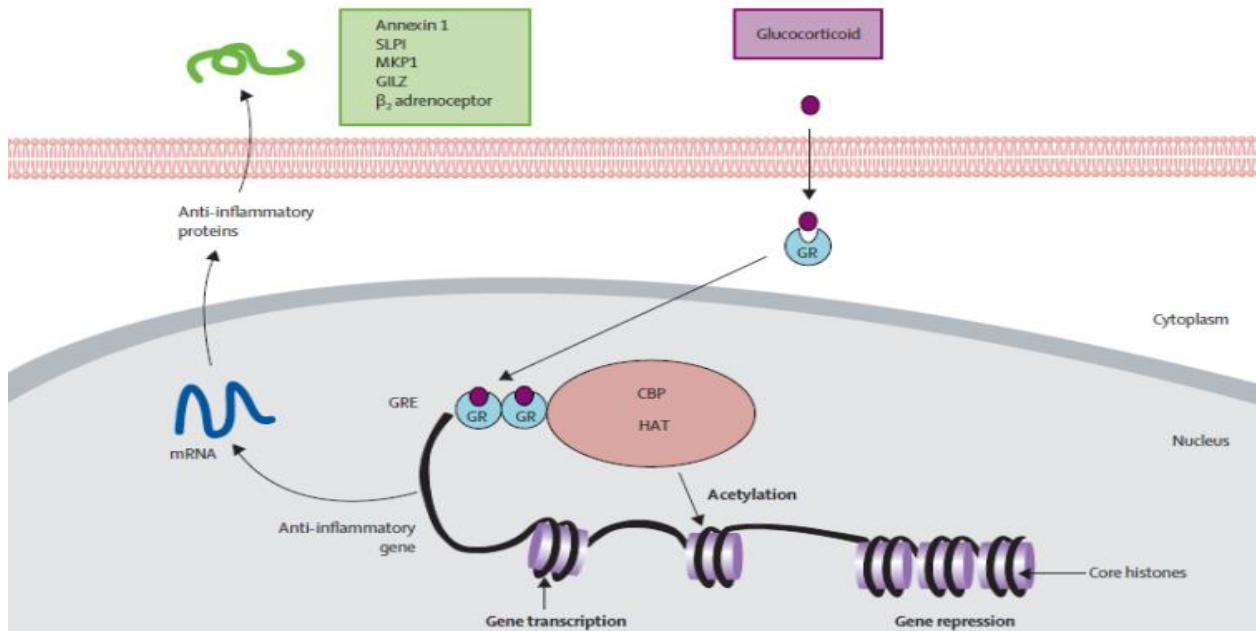


Figure 5: Mécanisme d'action des glucocorticoïdes. GRE : Élément de réponse glucocorticoïde. CBP : Protéine de liaison à l'élément de réponse à l'AMP cyclique. HAT : histone acétyltransférase ; GR : Récepteur des glucocorticoïde ([Barnes & Adcock, 2009](#)).

II.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) font partie des traitements les plus prescrits dans le monde. Ces médicaments ont des effets anti-inflammatoires et antipyrétiques et analgésiques. Le rôle des AINS provient principalement de l'inhibition de la cyclooxygénase pour synthétiser les prostaglandines ([Tréchet & Jouzeau, 2014](#)). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui agissent par inhibition des isoenzymes de la cyclooxygénase (COX), ont été découverts il y a plus de 100 ans. Ils restent un élément clé de la gestion pharmacologique de la douleur aiguë et chronique. Les isozymes COX-1 et COX-2 ont des fonctions biologiques différentes ; l'activité analgésique est principalement (mais pas exclusivement) associée à l'inhibition de la COX-2, tandis que des effets secondaires différents résultent de l'inhibition de la COX-1 et de la COX-2. Tous les AINS disponibles, y compris l'acétaminophène et l'aspirine, sont associés à des effets secondaires potentiels, en particulier des effets gastro-intestinaux et cardiovasculaires, liés à leur sélectivité relative pour la COX-1 et la COX-2. Étant donné que tous les AINS exercent leur activité thérapeutique par l'inhibition des isoenzymes COX, des stratégies

sont nécessaires pour réduire les risques associés aux AINS tout en obtenant un soulagement suffisant de la douleur ([Brune & Patrignani, 2015](#)).

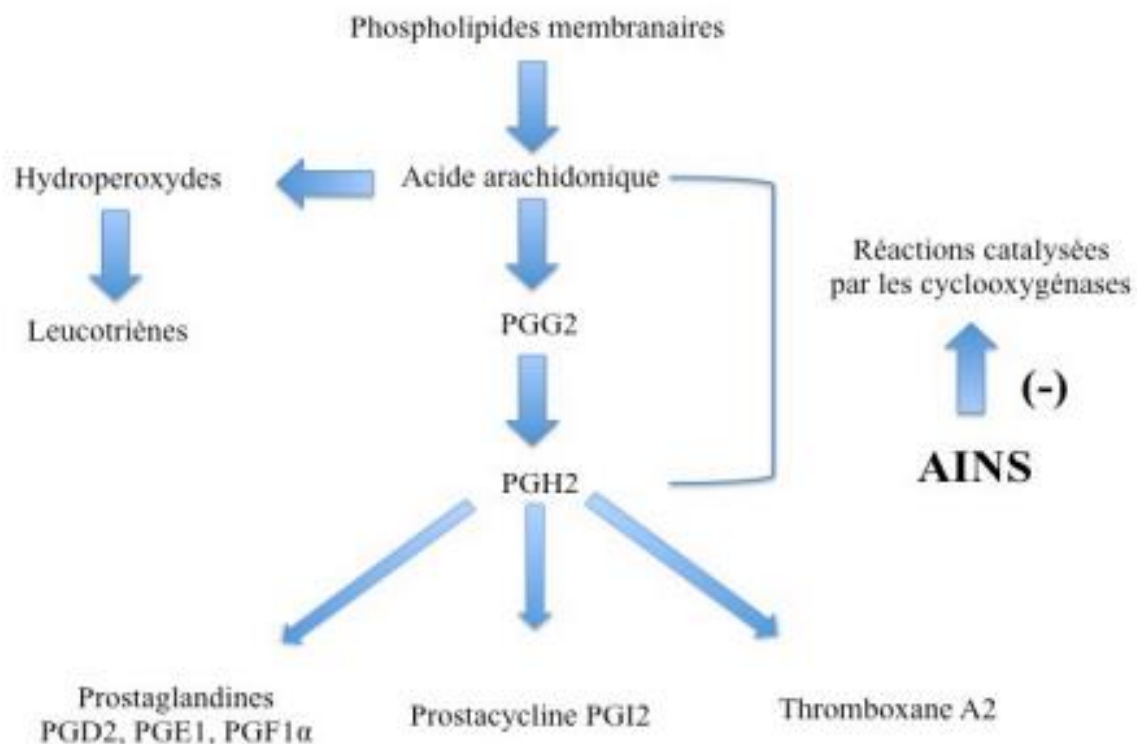


Figure 6: Mécanisme d'action de anti-inflammatoires non stéroïdiens ([Nicolas, 2001](#)).

II.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale :

L'activité anti-inflammatoire des plantes est attribuée au contenu de leurs métabolites secondaires biologiquement actifs, tels que les polyphénols, les stérols, les alcaloïdes, les saponines, les coumarines et les terpènes. Ces substances actives peuvent agir sur plusieurs étapes de la réponse inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, mécanisme de transduction du signal impliqué dans l'activation des cellules inflammatoires, Synthèse de cytokines pro-inflammatoires, expression de molécules d'adhésion, activation du facteur nucléaire kappa-B et production d'espèces réactives de l'oxygène ([Dowiejua & Zeitlin, 1993](#)). La mise au point d'agents plus efficaces et moins toxiques reste un défi pour les chimistes pharmaceutiques en raison de la complexité des différents processus inflammatoires ([Bai et al., 2021](#)). Par conséquent, les agents anti-inflammatoires naturels doivent être utilisés dans le traitement médicamenteux pour améliorer l'efficacité thérapeutique et minimiser les effets secondaires indésirables ([Nunes et al., 2020](#)). Leur palette d'activités est très large, certains d'entre eux les composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires, et on pense que beaucoup agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase, entre autres mécanismes ([Fiebich & Chrubasik, 2004](#)).

III. La plante *Anacyclus clavatus* (DESF).

III.1. Aspect botanique

L'une des plus grandes familles de plantes à fleurs au monde est la famille des astéracées, plus connue sous le nom de famille des tournesols. Elle comprend plus de 1600 genres et 25000 espèces aux morphologies incroyablement variées, allant d'herbes de 1 cm de haut à des arbres de près de 30 m de haut ([Nikolić & Stevović, 2015](#); [Rolnik et al., 2021](#)). Les astéracées se distinguent par leurs capitules, qui comprennent des fleurs étroitement disposées sur un réceptacle entouré de bractées ([Jawhari et al., 2022](#)). Les plantes de la famille des astéracées sont réparties dans le monde entier, à l'exception de l'Antarctique, et sont surtout présentes dans les climats subtropicaux, arides et semi-arides ([Michel et al., 2020](#); [Rolnik et al., 2021](#)). L'*Anacyclus* de la famille des Asteraceae comprend environ 12 espèces réparties dans les pays méditerranéens (Afrique du Nord, Europe du Sud et Moyen-Orient) ([Bouriche et al., 2016](#); [Sissi et al., 2022](#)). Certaines d'entre elles sont connues sous le nom de camomille (*Anacyclus pyrethrum* et *Anacyclus clavatus*) ([Kalam et al., 2015](#); [Sissi et al., 2022](#)). Les espèces d'*Anacyclus* sont des herbes annuelles avec un cycle végétatif court et une période de floraison entre avril et juin ; elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle en raison de leurs activités biologiques démontrées. *Anacyclus clavatus*, également connu sous le nom d'*Anacyclus* blanc ou camomille, est une herbe annuelle, spontanée et abondante dans les pays méditerranéens. Elle mesure de 20 à 50 cm de haut avec un capitule composé de deux types de fleurs différentes : des fleurs jaunes tubulées à l'intérieur et des fleurs blanches ligaturées autour des fleurs jaunes. Les fleurs sont groupées en capitules terminaux rayonnés de 2,5 à 3 cm de long. La floraison commence à la fin du mois de mars et se prolonge jusqu'en mai, et est particulièrement avantageuse pendant la saison des pluies ([Mechergui et al., 2017](#)). Cette espèce est trouvée dans le Tell et dans toutes les régions d'Algérie surtout les montagnes, on l'appelle localement « Boumllele » ou bien « Garttoufa » (**Figure 7**).

III.2. Usages traditionnels

La plupart des plantes de la famille des astéracées sont utilisées traditionnellement dans la médecine conventionnelle ; l'usage médicinal de certaines d'entre elles est connu depuis plus de 3000 ans ([Rolnik & Olas, 2021](#)). Les propriétés pharmacologiques des espèces d'astéracées ont été liées à la présence de plusieurs composants phytochimiques, notamment des polyphénols, des flavonoïdes, des huiles essentielles, des sesquiterpènes, des lignanes, des lactones et des saponines ([Rolnik & Olas, 2021](#); [Rolnik et al., 2021](#)). Les parties aériennes de cette plante sont utilisées sous forme de tisanes pour traiter traditionnellement certaines affections, notamment celles liées au

système gastrique (ulcères gastriques, douleurs d'estomac, troubles digestifs et ballonnements). Son huile essentielle et ses extraits présentent des activités importantes, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antiseptiques ([Aliboudhar & Tigrine-Kordjani, 2014](#); [Aliboudhar et al., 2013](#); [Bouriche et al., 2016](#)) .

III.3. Composition phytochimiques

Les extraits méthanoliques et aqueux d'*Anacyclus clavatus* sont riches en composés phénoliques. Ils contiennent l'acide gentisique, l'acide chlorogénique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchuique, l'acide caféique, l'acide syringique, l'acide vanillique, la rutine, la quercétine-3- β -D-glucoside, l'acide sinapique, le naringine, le polydatine, le diosmine, l'apigétrine, l'acide cinnamique et l'apigénine ([Bouriche et al., 2016](#)). L'huile essentielle des fleurs de l'*Anacyclus clavatus* se compose principalement de β -thuyone, tandis que la composition de l'huile essentielle des feuilles et des tiges se compose principalement de germecrène en plus du δ -elemene et de l' α -caryophyllène ([Aliboudhar et al., 2013](#); [Aliboudhar et al., 2015](#)).



Figure 7: Aspect morphologique de la plante *Anacyclus clavatus*.

La taxonomie d'*Anacyclus clavatus* selon Cronquist (1981) est comme suit :

Règne : Plantae

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Anacyclus*

Espèce : *Anacyclus clavatus* (desf.) pers

MATERIEL

ET

METHODES

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

La plante utilisée dans notre travail est l'*Anacyclus clavatus* a été récoltée de mai 2022 de la région de Bougâa, Sétif. L'identification a été faite par Dr. Djamel Sarri, Faculté des Sciences, Université de M'sila. La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre et à température ambiante puis stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation.

I.2. Animaux

L'étude de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée chez des souris femelles à l'âge de 2,5 mois de souche *Swiss albinos* pesant entre 24 à 28 g, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont répartis en groupes selon le poids et placés dans des cages en polypropylène à température ambiante avec accès libre à l'eau et à l'alimentation. L'alimentation est fournie par l'Office National de l'Alimentation du Bétail (ONAB) d'El-Kassar-Bejaia. Après une période d'adaptation, les souris sont pesées, marquées, numérotées et mises à jeun toute la nuit avant l'utilisation.

I.3. Sang humain

Le sang humain frais est obtenu auprès de tout donneur en bonne santé, non-fumeur et n'ayant pas reçu de traitement médical depuis au moins 15 jours.

I.4. Produit et réactifs

Les réactifs utilisés dans cette étude sont : Acide gallique, carbonate de sodium (Na_2CO_3), chlorure d'aluminium (AlCl_3), chlorure de sodium (NaCl), diclofénac sodique, eau distillée (H_2O), eau physiologique, indométacine, quercétine, réactif de Folin-Ciocalteu, xylène provenaient de Sigma-Aldrich (Allemagne). Les sels utilisés pour la préparation du tampon sont achetés chez Merck (Allemagne). Les solvants sont de qualité analytique et disponibles auprès de Sigma (Allemagne).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait acétonique

L'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* est préparé selon la méthode de ([Niemenak et al., 2006](#)). Une quantité de 50 g de poudre de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* est mis à macérer

dans 500 ml d'acétone /eau (7 :3, V/V) sous agitation pendant 24 heures à température ambiante. Le mélange est filtré et le filtrat est conservé à 4°C tandis que le précipité est soumis à une deuxième macération avec un mélange d'acétone /eau (5 :5 V/V). Les deux filtrats sont mélangés puis soumis à une évaporation de l'acétone sous pression réduite à 30 °C dans un rotavapeur (BÜCHI). La poudre brun foncé obtenue après séchage a été stockée à -32°C jusqu'à son utilisation.

II.2. Dosage des polyphénols totaux

II.2.1. Principe

La teneur en phénols totaux d'extrait d'*Anacyclus clavatus* est déterminé selon la méthode colorimétrique de ([Delgado et al., 2019](#)) . Cette méthode est basée sur l'oxydation des phénols par le Folin-Ciocalteu , le test FC repose sur le transfert d'électrons des composés phénoliques vers le complexe acide phosphomolybdique/acide phosphotungstique en milieu alcalin, formant le complexe ((PMoW₁₁O₄₀)⁴⁻), qui a une couleur bleue, ce qui correspond à la présence de polyphénols Proportionnel, avec absorption à 765 nm ([Ainsworth & Gillespie, 2007](#)) .

II.2.2. Protocole

Le dosage des polyphénols totaux d'extrait d'*Anacyclus clavatus* a été réalisé selon la méthode de ([Blaise et al., 2021](#)). Un volume de 25 µL des solutions d'extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 125 µL de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, ajouter 100 µL de carbonates de sodium (Na₂CO₃) à (7,5 %). Laisser réagir et incuber le mélange à l'obscurité pendant 1 h 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis lire à 765 nm dans un lecteur de microplaque. Un blanc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par l'eau distillée. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0 - 200 µg/mL) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (**figure 8**).

II.3. Dosage des flavonoïdes

II.3.1. Principe

Les flavonoïdes totaux ont été évalués à l'aide d'un test colorimétrique selon le protocole de ([Makuasa & Ningsih, 2020](#)). En effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al³⁺. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait. Cependant, il doit être déterminé par le flavonoïde prédominant, la quercétine est souvent utilisée comme étalon pour déterminer la quantité de flavonoïdes dans un échantillon.

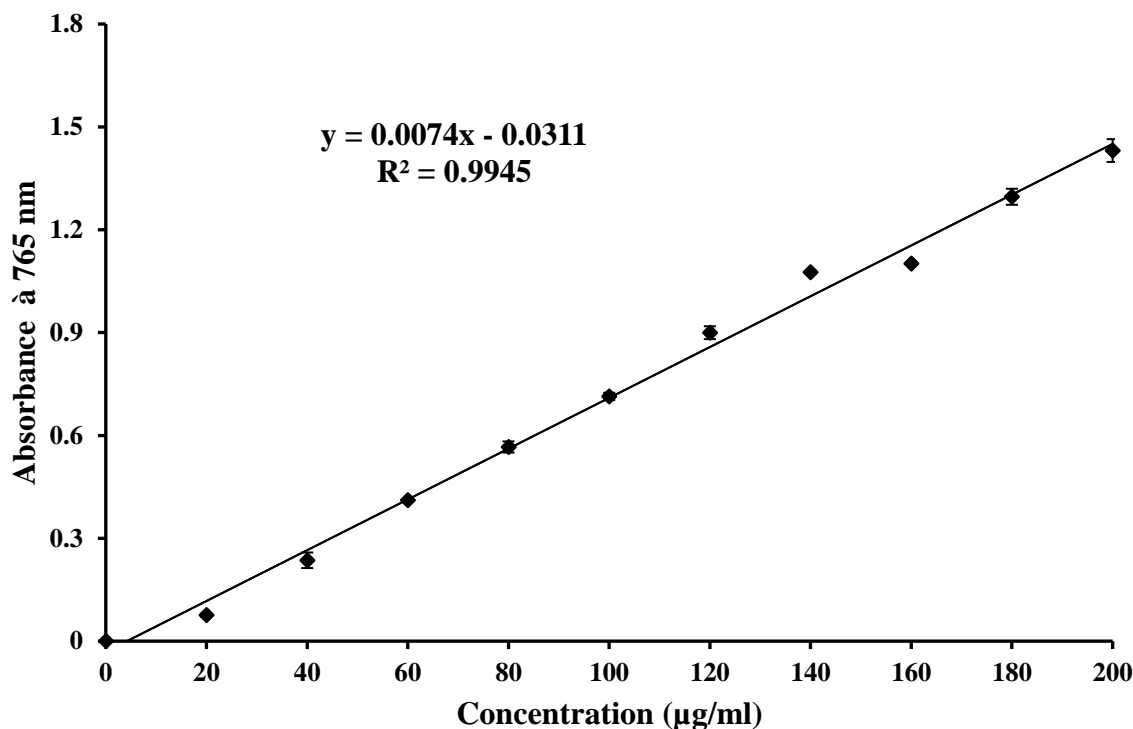


Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

II.3.2. Protocole

Brièvement, 150 µL de la solution d'AlCl₃ (2%) est ajouté à 150 µL de la solution de l'extrait à différentes concentrations préparées dans le méthanol, le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min. La lecture des absorbantes est mesurée à 430 nm en utilisant un lecteur de microplaques. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait d'*Anacyclus clavatus* est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-20 µg/mL) et exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (**Figure 9**).

II.4. Activité anti-inflammatoire d'extrait d'*Anacyclus clavatus*

II.4.1. Stabilité membranaire des érythrocytes humains

- Préparation de la suspension des globules rouges humains

Prélever un volume de sang d'une personne en bonne santé et récupéré dans des tubes EDTA est centrifuger 10 minutes à 3000 rpm. Le surnageant est jeté et le culot de globules rouges est lavé trois fois avec une solution de PBS isotonique tampon phosphate (10 mM, pH = 7,4 et 154 mM NaCl). Centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min à chaque fois jusqu'à l'obtention d'un

surnageant clair. Après la centrifugation finale, recueillir le culot et remettre en suspension dans une solution PBS isotonique pour faire une suspension de globules rouges humains à 10 % (v/v).

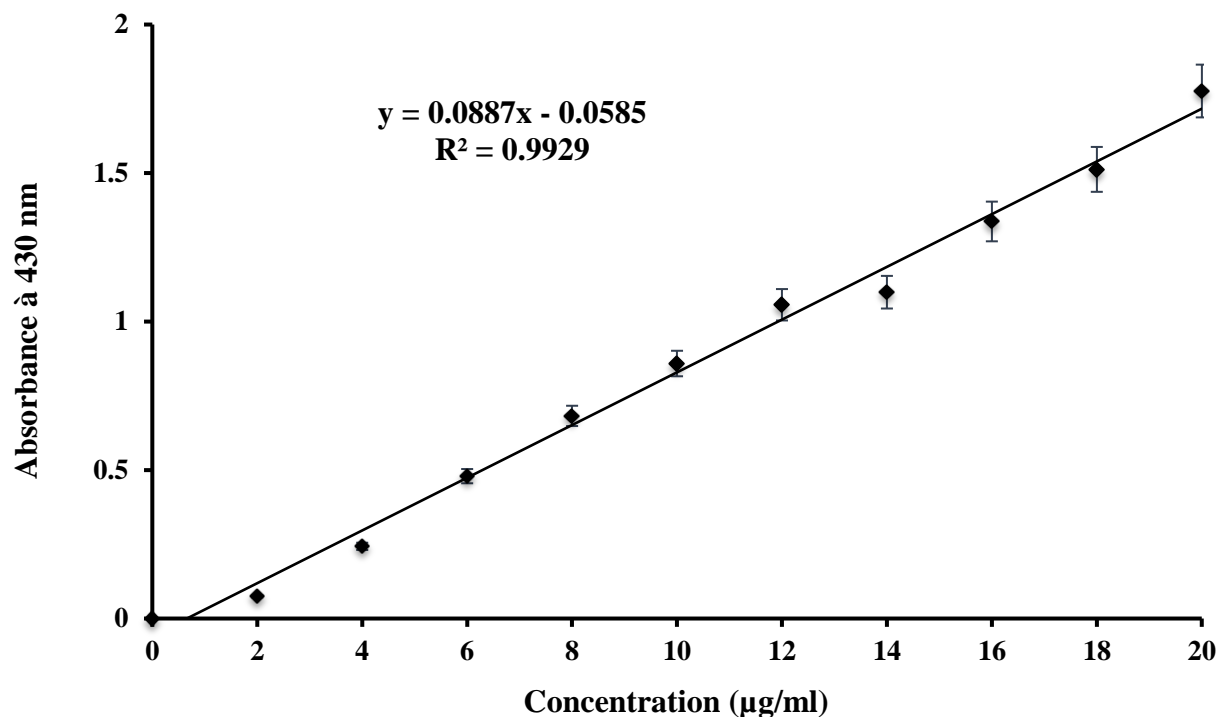


Figure 9: Courbe d'étalonnage de la quercétine

- Détermination de la stabilité membranaire des érythrocytes humains

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait est basé sur l'effet de l'extrait de la plante étudiée sur la stabilisation des érythrocytes après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique a été évalué par la méthode de stabilisation de la membranes érythrocytaire décrite par ([Debnath et al., 2013](#)). En bref, ajouter 125 µl de suspension d'érythrocytes diluée à 10% à chaque 1250 µl d'extrait à différentes concentrations (1, 2, 3 mg/ml) ont été dissoutes dans du milieu hypotonique (10 mM, pH = 7,4 et 50 mM NaCl) ou du diclofénac de sodium 1250 µL utilisé comme standard. Le témoin considéré pour une hémolyse à 100 % comprennent des suspensions de globules rouges contenant uniquement du milieu hypotonique. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes, puis centrifuger à 3000 rpm pendant 10 minutes. Lire l'absorbance du surnageant résultant à 540 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = 100 \times (\text{Ac} - \text{Ae}) / \text{Ac}$$

Ac : Absorbance de control

Ae : Absorbance d'échantillon

II.4.2. Œdème de l'oreille induit par xylène chez la souris

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait acétonique *in vivo* a été évaluée par le test d'œdème de l'oreille de souris induit par le xylène selon la méthode de ([Singsai et al., 2020](#)).

- Prétraitement par l'extrait

Une heure avant l'application topique de xylène, un nombre de 24 souris est divisé en 03 groupes. Chaque groupe de 06 souris reçoit une dose par voie orale des différentes solutions expérimentales comme suit :

- ✓ Groupe témoin : Solution de NaCl (0.9%).
- ✓ Groupe standard : Indométacine (50 mg /kg) dissous dans l'eau physiologie.
- ✓ Groupe essai : Extrait acétonique (200mg/kg) dissous dans l'eau physiologie.
- Induction de l'inflammation

Pour démontrer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*Anacyclus clavatus*, un œdème de l'oreille est induit par application topique de 30 µl de xylène sur la surface interne de l'oreille droite de chaque souris en trois groupes à l'aide d'une micropipette.

- Evaluation de l'activité anti-œdémateuse et détermination du pourcentage d'inhibition de l'œdème

L'épaisseur de l'oreille est mesurée avant l'induction et 30 minutes après l'induction de l'inflammation par un pied à coulisse digital ([Delaporte et al., 2004](#)). Calculer la différence d'épaisseur avant et après l'application de xylène. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traitées par rapport au groupe témoin. Il est obtenu par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = ((\Delta \text{ témoin} - \Delta \text{ traité}) / \Delta \text{ témoin}) \times 100$$

Δ témoin : Différence d'épaisseur de l'oreille avant et après l'induction de l'inflammation pour chaque souris de groupe témoin.

Δ traité : Différence d'épaisseur de l'oreille avant et après l'induction de l'inflammation pour chaque souris des groupes traités par les solutions expérimentales.

II.5. Analyses statistiques

Les résultats des études menées *in vitro* et *in vivo* ont été exprimés en moyenne \pm SD et moyenne \pm SEM, respectivement, par le logiciel (Graphpad Prism version 9.2.0) et différents tests ont été analysés par ANOVA (univariée et multivariée) suivi de test Dunnett pour les

MATERIEL ET METHODES

Comparaisons multiples et détermination des taux de signification. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0,05$).

RESULTATS

ET

DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS

I.1. Préparation d'extrait d'*Anacyclus clavatus*

Le processus de macération utilisé pour produire l'extrait acétonique donne une poudre brun foncé avec un rendement de 23,84%.

I.2. Détermination de la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes

Un dosage spectrophotométrique a été réalisé à l'aide de l'extrait acétonique pour déterminer la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes. La quantité de chaque composé chimique a été définie par la molécule de référence utilisée dans l'étude (acide gallique pour les polyphénols et quercétine pour les flavonoïdes). Indiquez en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait) ou en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait de flavonoïdes et polyphénols ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ extrait).

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques montrent que l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* est riche en polyphénols et flavonoïdes (**tableau 2**).

Tableau 2: Teneur en polyphénols totaux et en flavonoides d'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus*.

Extrait	Polyphénols ($\mu\text{g EAG} / \text{mg}$ d'extrait)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait)
E. AC	79.185 ± 7.995	9.474 ± 0.100

Les valeurs représentent la moyenne de 03 essais \pm SD.

I.3. Activité anti-inflammatoire d'extrait d'*Anacyclus clavatus*

I.3.1. Effets d'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* sur la stabilité membranaire des érythrocytes humains

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* d'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* qui compte sur l'étude de l'effet protecteur de cet extrait contre l'hémolyse des globules rouges induit par milieu hypotonique est illustré dans la (**figure 10**).

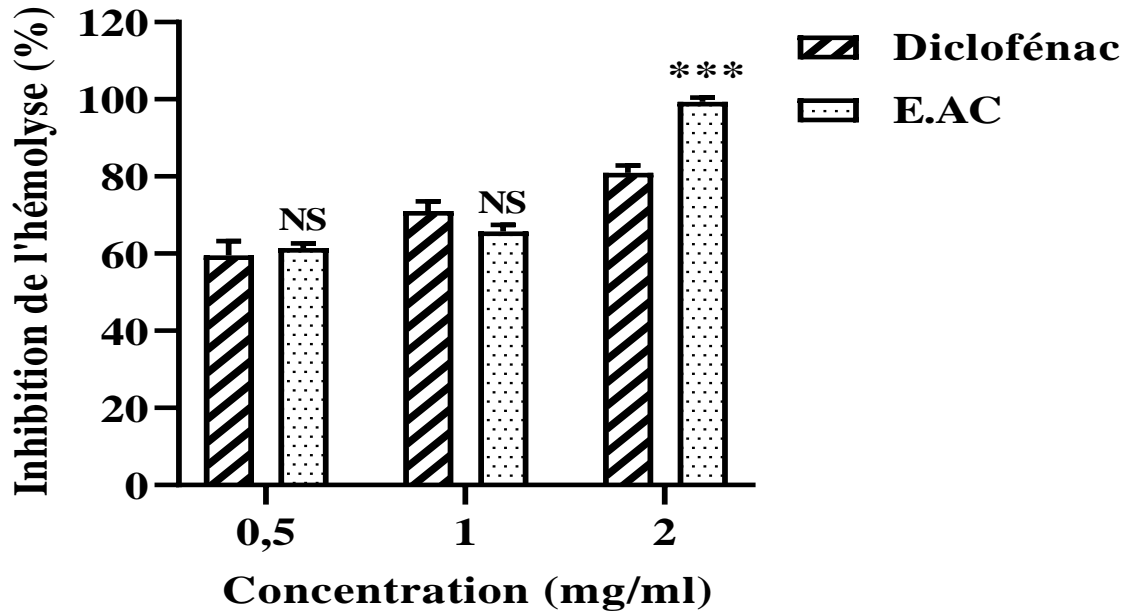


Figure 10: Effet de l'extrait acétonique (E.AC) d'*Anacyclus clavatus* sur les globules rouges humains induite par un milieu hypotonique. Les valeurs représentent la moyenne \pm SD (n= 3). *** : $p < 0.001$; NS : non significatif vs diclofénac.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait acétonique protège significativement ($p < 0.001$) les érythrocytes humains induite par un milieu hypotonique. A la concentration de 2mg/ml, l'extrait acétonique a donné le taux d'inhibition de l'hémolyse le plus élevé (99.33 %) contre (80.93 %) exercé par le diclofénac.

I.3.2. Effet d'extrait sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris

L'effet anti-œdémateux de l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* a été évalué sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris qui est un modèle de l'inflammation aigue.

Les souris du groupe témoin n'ayant reçu que la solution de xylène a développé au bout de 30 min un œdème caractérisé par une augmentation de l'épaisseur de $311.667 \pm 24.415 \mu\text{m}$. Le traitement oral avec 200mg/kg d'extrait acétonique a induit une atténuation très significative ($p < 0.001$) de l'inflammation par rapport aux souris du groupe témoin. L'augmentation de l'épaisseur est de $78.333 \pm 4.77 \mu\text{m}$ seulement. L'inhibition est donc de 75%. Ce pourcentage d'inhibition est supérieur à celui obtenu avec l'indométacine utilisé comme anti-inflammatoire de référence. En effet, l'augmentation de l'épaisseur 30min après l'induction de l'inflammation par 50 mg/kg d'indométacine est de $110 \pm 7.07 \mu\text{m}$, ce qui correspond à une inhibition de 70% (**Figure 11**).

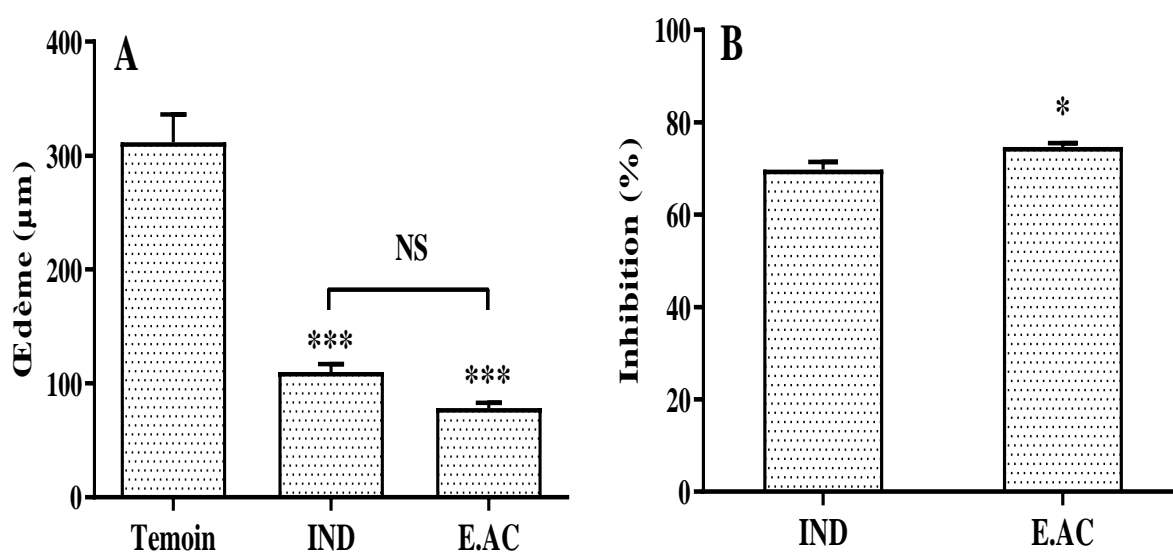


Figure 11: Effet d'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. Les groupes des souris sont prétraités oralement par l'indométacine (**IND**) à 50 mg /kg ou l'extrait acétonique (**E. AC**) à 200 mg /kg. Le groupe témoin reçoit du NaCl 0.9%. **A** : Différence d'épaisseur avant et 30 minutes après l'induction de l'œdème. Comparaison avec le groupe témoin. **B** : Pourcentage d'inhibition de l'œdème. La comparaison est faite par rapport à l'indométacine. Les valeurs représentent les moyennes \pm SEM (n=6). *** : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$, NS : non significatif.

II. Discussion

Le continent africain est richement doté de diverses plantes médicinales aux activités anti-inflammatoires qui se sont révélées efficaces dans le traitement des affections inflammatoires en médecine traditionnelle ([Oguntibeju, 2018](#)). Elles contiennent des molécules thérapeutiques comme les flavonoïdes et les polyphénols, dits métabolites secondaires. Cependant, les anti-inflammatoires synthétiques sont maintenant largement utilisés. Malheureusement, l'administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens entraîne de nombreux effets secondaires. En effet, ces anti-inflammatoires sont complexes quant à leurs risques pour la santé. Il existe cependant des plantes médicinales qui ont des effets thérapeutiques anti-inflammatoires avec peu ou pas d'effets secondaires. Cela nécessite des travaux de recherche et développement en phytothérapie.

II.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La composition chimique des produits végétaux a été déterminée par analyse chimique qualitative à l'aide de solvant d'extraction. Le choix de la méthode et du solvant d'extraction est une étape particulièrement importante pour obtenir la concentration optimale des composés naturels dans l'extrait, les solvants idéaux doivent avoir une faible toxicité, une faible inflammabilité, un faible risque d'explosion, et doivent également être économiques et respectueux de l'environnement ([William P Jones & A Douglas Kinghorn, 2012](#)). L'extraction a été réalisée avec de la poudre végétale séchée à l'ombre. En effet, si la matière végétale est fraîche ou non séchée, les flavonoïdes peuvent être dégradés par voie enzymatique, c'est pourquoi l'utilisation de matière séchée est recommandée. La fermentation microbienne causée par l'humidité peut également contribuer à cette détérioration ([Seidel, 2005](#)). Le séchage dans un endroit sombre empêche les modifications chimiques telles que l'isomérisation et la décomposition causées par les rayons ultraviolets du soleil ([William P. Jones & A. Douglas Kinghorn, 2012](#)). L'utilisation de poudres améliore l'extraction en augmentant la surface de contact entre l'échantillon et le solvant, ce qui facilite la pénétration des solvants dans les cellules intactes après broyage, les solvants alcooliques peuvent augmenter la perméabilité de la paroi cellulaire en facilitant l'extraction de nombreuses molécules polaires, modérément polaires et faiblement polaires. De plus, effectuer cette extraction à température ambiante et éliminer le solvant sous pression réduite maximise le rendement du composé et évite la dénaturation et la modification à haute température utilisées dans d'autres procédés d'extractions ([Seidel, 2005](#)). La solubilité des polyphénols dépend de plusieurs paramètres tels que le nombre de groupes hydroxyle, le poids moléculaire et la longueur de la chaîne carbonée du squelette de base ([Mahmoudi et al., 2013](#)). Il a été démontré que les différences de polarité des solvants d'extraction peuvent entraîner de grandes variations dans les

niveaux de composés bioactifs dans les extraits, ce qui suggère que l'efficacité de l'extraction favorise les solvants fortement polaires car le matériel végétal contient des niveaux élevés de composés polaires tels que les flavonoïdes glycosylés sont extraits avec de l'alcool ou un mélange alcool-eau, ils sont solubles dans des solvants hautement polaires tels que l'eau et le méthanol ([Truong et al., 2019](#)). Le rendement et l'activité anti-inflammatoire des extraits dépendent de plusieurs paramètres tels que le type d'extraction, la nature du solvant utilisé, la stabilité des composés dans l'extrait, la température et la durée du processus d'extraction ([Tanase et al., 2019](#)). En général, le rendement d'extraction dépend de l'espèce végétale, de l'organe utilisé pour l'extraction, des conditions de séchage et de l'abondance spécifique à l'espèce en métabolites secondaires. La zone de production et le moment de la récolte affectent également le rendement ([Zhang et al., 2018](#)).

Dans notre étude, nous avons constaté que l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* est riche en polyphénols et flavonoïdes et le rendement d'extraction que nous avons trouvé est 23,84%. Plusieurs études ont conclu que le solvant et la technique d'extraction utilisés affectent le rendement de l'extraction, en plus des différences de composition phénolique entre les espèces et les parties de la plante ([Oreopoulou et al., 2019](#)). En effet, l'étude de ([Larbi et al., 2017](#)) a montré que l'extrait méthanolique d'*Anacyclus valentinus* a présenté un rendement d'extraction de 17,82%. L'extrait éthanolique de la racine d'*Anacyclus pyrethrum* a donné un rendement de 3,56 % ([Zaidi et al., 2013](#)). Les extraits éthanoliques de différentes parties de deux espèces d'*Anacyclus pyrethrum* ont présenté des rendements allant de 6 à 16 % ([Jawhari et al., 2021](#)). Les études de ([Mahmoudi et al., 2013](#)) réalisés sur *Cynara scolymus*, une plante méditerranéenne de la famille des Asteraceae montrent que la macération par l'éthanol et l'acétone semble être meilleures pour extraire les polyphénols totaux et les flavonoïdes. Selon ([Erez et al., 2019](#)), les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits acétoniques des fleurs étaient meilleures que ceux des extraits des feuilles d'*Anacyclus anatolicus*.

II.2. Activités anti-inflammatoires

II.2.1. Effet des extraits sur la stabilité membranaire des érythrocytes humains

La méthode de stabilisation de la membrane érythrocytaire humaine a été utilisée pour étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus in vitro*. Les membranes érythrocytaires sont structurellement équivalentes aux membranes lysosomales, leur stabilité signifie que l'extrait peut ainsi stabiliser les membranes lysosomales ([Ghosh et al., 2015](#)). La stabilisation de la membrane lysosomale inhibe la réponse inflammatoire en empêchant la libération des composants lysosomiques des neutrophiles activés, tels que les enzymes bactéricides et les protéases qui, lorsqu'elles sont libérées de manière extracellulaire, provoquent une

inflammation des tissus et d'autres dommages importants à limiter ([Chandrasekar & Chandrasekar, 2017](#)). L'exposition des érythrocytes à des substances nocives telles que le milieu hypotonique provoque une lyse membranaire et s'accompagne d'une hémolyse et d'une oxydation de l'hémoglobine. L'effet hémolytique des solutions hypotoniques est associé à une accumulation excessive de liquide dans les cellules, entraînant la rupture des membranes cellulaires ([Mounnissamy et al., 2007](#)). L'action principale des anti-inflammatoires est d'inhiber l'enzyme cyclooxygénase responsable de la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (PG). Plus précisément, cette enzyme convertit la prostaglandine G2 (PGG2) en PGH2 par peroxydation, qui est associée à la formation de longs canaux dans la membrane. L'ouverture du canal se produit en raison de la libération de médiateurs chimiques, de sorte que l'acide arachidonique est libéré de la membrane et converti en prostaglandines ([Mounnissamy et al., 2007](#)). Des AINS similaires, tels que le diclofénac sodique, agissent en inhibant les enzymes lysosomales ou en tant que stabilisateurs des membranes lysosomales ([Kherbache et al., 2020](#)).

Le prétraitement des érythrocytes avec l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* prévient cette lyse. L'extrait acétonique a montré une activité très importante en comparaison avec le diclofénac de sodium utilisé comme référence, ce qui témoigne la présence des molécules anti-hémolytiques dans ce type d'extrait. Ces résultats indiquent que les propriétés anti-inflammatoires de notre plante sont liées à son abondance en composés phénoliques. En effet, les flavonoïdes ont un effet stabilisateur de la membrane en réduisant la vasodilatation, ce qui améliore la résistance et l'intégrité des parois des vaisseaux sanguins ([Jawhari et al., 2020](#); [Jawhari et al., 2021](#)).

II.2.2. Effet anti-œdémateux

L'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris a été utilisé pour évaluer l'effet anti-œdémateux d'un traitement topique avec d'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus*. Ce modèle expérimental reproductible offre une bonne valeur prédictive pour le dépistage des anti-inflammatoires ([Xu et al., 2014](#)). Le xylène est un hydrocarbure aromatique piquant qui provient d'un mélange de trois formes isométrique (ortho, méta, para), lorsque le xylène est appliqué sur l'oreille, le liquide intercellulaire s'accumule, formant un œdème caractéristique de l'inflammation aiguë ([Debnath et al., 2013](#)). Les neurones sensoriels contiennent des cyclooxygénases qui synthétisent des prostaglandines pro-inflammatoires, de puissants vasodilatateurs qui contribuent à la formation de l'œdème et aux impulsions nociceptives ([Richardson & Vasko, 2002](#)). Le mécanisme d'action de l'indométhacine sur l'inflammation repose sur l'inhibition de la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires ([Li et al., 2008](#)).

L'effet anti-inflammatoires de l'extrait d'*Anacyclus clavatus* est probablement dus à la présence de substances lipophiles qui traversent la barrière cutanée et ont des effets anti-inflammatoires (Manga *et al.*, 2004). Il a été démontré que les flavonoïdes ont des effets anti-inflammatoires pendant les phases proliférative et exsudative de l'inflammation et inhibent la libération d'histamine, de cytokines, de prostaglandines et de leucotriènes (Park *et al.*, 2008 ; Rathee *et al.*, 2009). De plus, les composés phénoliques sont des traitements très efficaces pour les maladies inflammatoires (González *et al.*, 2011). L'extrait acétonique inhibe l'œdème de l'oreille induit par le xylène. Cette inhibition était statistiquement mieux que celui de l'indométacine, qui est utilisée comme agent anti-inflammatoire standard, inhibant la cyclooxygénation 1 et 2 ainsi que la formation d'exsudat et la production de TNF α , IL-6 et PGE2 (Barreto *et al.*, 2016). L'effet anti-inflammatoire obtenu pourrait également s'expliquer par l'inhibition de la Protéine Kinase C (PKC) dont l'implication de la PKC dans le processus inflammatoire est très évidente dans ce modèle expérimental (Delaporte *et al.*, 2004).

Les études de (Elazzouzi *et al.*, 2022) ont montré un effet anti-inflammatoire de l'extrait acétonique d'*Anacyclus pyrethrum* dans le modèle d'œdème inflammatoire chez le rat. De plus, (Manouze *et al.*, 2017) ont étudié, *in vivo*, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux et méthanolique des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'œdème de l'oreille de rat induit par le xylène, ces auteurs ont constaté que les extraits testés réduisaient de manière significative l'œdème de l'oreille induit par le xylène. D'autres résultats de (Jawhari *et al.*, 2020) montrent que les extraits aqueux d'*Anacyclus pyrethrum* ont des activités anti-inflammatoires très puissantes sur l'œdème chez les rats.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Les plantes médicinales continuent d'être une source fiable d'ingrédients actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques. Les études sur les propriétés physico-chimiques et pharmacologiques ont porté sur des plantes appartenant à la famille des astéracées, utilisées en Algérie pour leurs propriétés thérapeutiques.

Cette étude a d'abord porté sur le dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*. Ensuite, nous avons évalués l'effet anti-inflammatoire d'extrait *in vitro* et *in vivo*

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par les méthodes de Folin-ciocalteu et $AlCl_3$, respectivement, a indiqué la présence des quantités importantes de ces composés dans l'extrait d'*Anacyclus clavatus*.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait acétonique d'*Anacyclus clavatus* a un effet anti-inflammatoire prononcé. L'extrait étudié a un effet protecteur significatif contre l'hémolyse hypotonique de la membrane érythrocytaire humaine, et a un bon effet inhibiteur sur l'œdème induit par le xylène chez la souris.

Bien que les résultats de cette étude sur l'effets anti-inflammatoire d'extrait acétonique de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* soient d'un grand intérêt, des études complémentaires détaillées sont nécessaires pour comprendre leurs mécanismes moléculaires et cellulaires. Ces études doivent se concentrer sur l'isolement de composés bioactifs à partir de l'extrait et sur l'évaluation des effets de ces composés sur les mécanismes inflammatoires cellulaires et moléculaires et les voies de signalisation.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4), 875-877.
- Aliboudhar, H., & Tigrine-Kordjani, N. (2014). Effect of extraction technique on the content and antioxidant activity of crude extract of *Anacyclus clavatus* flowers and their essential oil composition. *Natural product research*, 28(23), 2140-2149.
- Aliboudhar, H., Tigrine-Kordjani, N., Hanifi, N., & Meklati, B. Y. (2013). Volatiles profiling and antioxidant activity evaluation of different parts of a medicinal plant: *Anacyclus clavatus*. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 19(1), 33-47.
- Aliboudhar, H., Tigrine-Kordjani, N., & Youcef Meklati, B. (2015). Competition of microwave-assisted hydro-distillation in highlighting volatile phytochemicals of *Anacyclus clavatus* species. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4), 355-362.
- Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G. L., Metzler, K. D., & Zychlinsky, A. (2012). Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Annual Review of Immunology*, 30(1), 459-489. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074942>
- Antonelli, M., & Kushner, I. (2017). It's time to redefine inflammation. *The FASEB Journal*, 31(5), 1787-1791.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Bai, R., Yao, C., Zhong, Z., Ge, J., Bai, Z., Ye, X., Xie, T., & Xie, Y. (2021). Discovery of natural anti-inflammatory alkaloids: Potential leads for the drug discovery for the treatment of inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 213, 113165.
- Barata, A. M., Rocha, F., Lopes, V., & Carvalho, A. M. (2016). Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. *Industrial Crops and Products*, 88, 8-11.
- Barnes, P. J., & Adcock, I. M. (2009). Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *The Lancet*, 373(9678), 1905-1917.
- Beyaert, R., Beaugerie, L., Van Assche, G., Brochez, L., Renauld, J.-C., Viguier, M., Cocquyt, V., Jerusalem, G., Machiels, J.-P., & Prenen, H. (2013). Cancer risk in immune-mediated inflammatory diseases (IMID). *Molecular cancer*, 12(1), 1-12.
- Blaise, K. K., Affouet, K. M., Raphael, O. K., Constant, A. A. R., Claude, K. A. L., Kouamé, D. B., & Barthélemy, A. K. (2021). Phytochemical screening, determination of total polyphenols and flavonoids, and evaluation of the antibacterial activity of leaves of *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(5), 16-21.
- Boller, S., Soldi, C., Marques, M. C. A., Santos, E. P., Cabrini, D. A., Pizzolatti, M. G., Zampronio, A. R., & Otuki, M. F. (2010). Anti-inflammatory effect of crude extract and isolated compounds from *Baccharis illinita* DC in acute skin inflammation. *Journal of ethnopharmacology*, 130(2), 262-266. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.001>
- Bouden, I., Aimene, W., Elder, R., & Arrar, L. (2017). In vitro and in vivo anti-arthritic and anti-inflammatory activity of *Matricaria pubescens* (Desf.). *Advances in Environmental Biology*, 11(11), 11-20.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bouriche, H., Abdallah, K., Kada, S., Senator, A., & Demirtas, I. (2016). Phenolic content, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Anacyclus clavatus* extracts. *Environmental and Experimental Biology*, 14, 127-135. <https://doi.org/10.22364/eeb.14.18>
- Brune, K., & Patrignani, P. (2015). New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Pain Research*, 8, 105-118. <https://doi.org/10.2147/JPR.S75160>
- Chandrasekar, R., & Chandrasekar, S. (2017). Natural herbal treatment for rheumatoid arthritis-a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2), 368.
- Debnath, P. C., Das, A., Islam, A., Islam, M. A., Hassan, M. M., & Uddin, S. M. G. (2013). Membrane stabilization—A possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of a Bangladeshi medicinal plant: *Erioglossum rubiginosum* (Bara Harina). *Pharmacognosy Journal*, 5(3), 104-107.
- Delaporte, R., Sarragiotto, M., Takemura, O., Sanchez, G., & Nakamura, C. (2004). Evaluation of the antioedematogenic, free radical scavenging and antimicrobial activities of aerial parts of *Tillandsia streptocarpa* Baker—Bromeliaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 229-233.
- Delgado, A. M., Issaoui, M., & Chammem, N. (2019). Analysis of main and healthy phenolic compounds in foods. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1356-1364.
- Duwiejua, M., & Zeitlin, I. (1993). Plants as source of anti-inflammatory substances. *Drugs from Natural Products: Pharmaceuticals and Agrochemicals*. Harvey A L. Eds, Taylor & Francis (Royaume-Uni). Pp, 153.
- Elazzouzi, H., Fadili, K., Cherrat, A., Amalich, S., Zekri, N., Zerkani, H., Tagnaout, I., Hano, C., Lorenzo, J. M., & Zair, T. (2022). Phytochemistry, Biological and Pharmacological Activities of the *Anacyclus pyrethrum* (L.) Lag: A Systematic Review. *Plants*, 11(19), 2578.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Erez, M. E., Dalar, A., Fidan, M., & Pinar, S. M. (2019). Comprehensive appraisalment of antioxidant potential and phytochemical profile of native botanicals from Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 3230-3241.
- Fiebich, B., & Chrubasik, S. (2004). Effects of an ethanolic *Salix* extract on the release of selected inflammatory mediators in vitro. *Phytomedicine*, 11(2-3), 135-138.
- Fodil, H., Sarri, M., Hendel, N., Maggi, F., & Sarri, D. (2019). Essential oil composition of aerial parts from Algerian *Anacyclus monanthos* subsp. *cyrtolepidioides* (Pomel) Humphries. *Natural product research*, 33(2), 292-295.
- Galvão, I., Sugimoto, M. A., Vago, J. P., Machado, M. G., & Sousa, L. P. (2018). Mediators of Inflammation. In C. Riccardi, F. Levi-Schaffer, & E. Tiligada (Eds.), *Immunopharmacology and Inflammation* (pp. 3-32). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77658-3_1
- Ghosh, S., Saha, K., Dasgupta, S., & Gomes, A. (2015). In vitro and in vivo anti-arthritic and anti-inflammatory activity of *Bungarus fasciatus* venom. *J. Toxins*, 2(1), 5-8.
- González, R., Ballester, I., López-Posadas, R., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martínez-Augustin, O., & Medina, F. S. D. (2011). Effects of Flavonoids and other Polyphenols on Inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 331-362. <https://doi.org/10.1080/10408390903584094>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gudernatsch, V., Stefańczyk, S. A., & Mirakaj, V. (2020). Novel resolution mediators of severe systemic inflammation. *ImmunoTargets and Therapy*, 31-41.
- Guilpain, P., & Le Jeune, C. (2012). Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *La Presse Médicale*, 41(4), 378-383.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hammami, S., Bergaoui, A., Bouzidi, A., Ciavatta, M. L., Cimino, G., Abreu, P. M., & Mighri, Z. (2011). Isolation and structure elucidation of flavonol glycosides, methyl linoleate and fatty acids from *Anacyclus cyrtolopidioides* (Pomel) growing in Tunisia. *Analytical chemistry letters*, 1(5-6), 384-392.
- Howcroft, T. K., Campisi, J., Louis, G. B., Smith, M. T., Wise, B., Wyss-Coray, T., Augustine, A. D., McElhaney, J. E., Kohanski, R., & Sierra, F. (2013). The role of inflammation in age-related disease. *Aging*, 5(1), 84-93.
- Janeway, C. A., Murphy, K., Travers, P., & Walport, M. (2009). *Immunobiologie*. De Boeck Supérieur.
- Jawhari, F. Z., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Imtara, H., Mechchate, H., Es-Safi, I., Ullah, R., Ezzeldin, E., Mostafa, G. A., & Grafov, A. (2020). *Anacyclus pyrethrum* (L): Chemical composition, analgesic, anti-inflammatory, and wound healing properties. *Molecules*, 25(22), 5469.
- Jawhari, F. Z., Imtara, H., El Moussaoui, A., Khalis, H., Es-Safi, I., Al Kamaly, O., Saleh, A., Parvez, M. K., Guemmouh, R., & Bari, A. (2022). Reproductive Biology of the Two Varieties of *Anacyclus pyrethrum* L.—*Anacyclus pyrethrum* var. *pyrethrum* (L.) Link and *Anacyclus pyrethrum* var. *depressus* (Ball.) Maire—An Endemic Endangered Species. *Plants*, 11(17), 2299.
- Jawhari, F. Z., Moussaoui, A. E., Bourhia, M., Imtara, H., Saghrouchni, H., Ammor, K., Ouassou, H., Elamine, Y., Ullah, R., & Ezzeldin, E. (2021). *Anacyclus pyrethrum* var. *pyrethrum* (L.) and *Anacyclus pyrethrum* var. *depressus* (Ball) Maire: Correlation between total phenolic and flavonoid contents with antioxidant and antimicrobial activities of chemically characterized Extracts. *Plants*, 10(1), 149.
- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2012). Extraction of plant secondary metabolites. *Natural products isolation*, 341-366.
- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2012). Extraction of Plant Secondary Metabolites. In S. D. Sarker & L. Nahar (Eds.), *Natural products isolation* (pp. 341-366). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_13
- Kalam, M., Karim, M., Anzar, M., Sofi, G., Ahmad, G., & Shahzad, A. (2015). Aqer qerha (*Anacyclus pyrethrum* DC.) a nobel drug of Unani system of medicine—A review. *Int. J. Pharmacogn*, 2, 116-122.
- Kherbache, A., Senator, A., Laouicha, S., Al-Zoubi, R. M., & Bouriche, H. (2020). Phytochemical analysis, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench extracts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101826. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101826>
- Khumalo, G. P., Van Wyk, B. E., Feng, Y., & Cock, I. E. (2022). A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of inflammation and inflammatory pain. *Journal of ethnopharmacology*, 283, 114436. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114436>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kobayashi, H., Higashiura, Y., Shigetomi, H., & Kajihara, H. (2014). Pathogenesis of endometriosis: the role of initial infection and subsequent sterile inflammation. *Molecular medicine reports*, 9(1), 9-15.
- Koc, S., Isgor, B. S., Isgor, Y. G., Shomali Moghaddam, N., & Yildirim, O. (2015). The potential medicinal value of plants from Asteraceae family with antioxidant defense enzymes as biological targets. *Pharmaceutical biology*, 53(5), 746-751. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.942788>
- Kordali, S., Aslan, I., Çalmaşur, O., & Cakir, A. (2006). Toxicity of essential oils isolated from three Artemisia species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 23(2), 162-170.
- Kumar, D., Chandra, R., Sanghi, A., Arora, S., & Vidyarthi, S. Membrane Stabilizing Activity of *Xanthium strumarium* Leaves Extracts. *IJPCR 2016*; 8 (3): 176, 178.
- Kumar, S., Pandey, S., & Pandey, A. K. (2014). In vitro antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Parthenium hysterophorus* and characterization of extracts by LC-MS analysis. *BioMed Research International*, 2014.
- Larbi, K. S., Meddah, B., Belkhdja, H., Belmimoun, A., Slimani, K., & Sonnet, P. (2017). Chemical composition and anti-arthritis activity of *Anacyclus valentinus* extract on adjuvant-induced arthritis in rats. *Int. J. Environ. Agric. Biotechnol*, 2, 3025-3032.
- Lee, H.-N., & Surh, Y.-J. (2012). Therapeutic potential of resolvins in the prevention and treatment of inflammatory disorders. *Biochemical pharmacology*, 84(10), 1340-1350.
- Li, H., Lu, X., Zhang, S., Lu, M., & Liu, H. (2008). Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Pholiota nameko*. *Biochemistry (Moscow)*, 73, 669-675.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*(9), 35.
- Makuasa, D. A. A., & Ningsih, P. (2020). The analysis of total flavonoid levels in young leaves and old soursop leaves (*Annona muricata* L.) using uv-vis sepctrofotometry methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1), 11-17.
- Manga, H. M., Brkic, D., Marie, D. E. P., & Quetin-Leclercq, J. (2004). In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 92(2), 209-214. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.019>
- Manouze, H., Bouchatta, O., Gadhi, A. C., Bennis, M., Sokar, Z., & Ba-M'hamed, S. (2017). Anti-inflammatory, antinociceptive, and antioxidant activities of methanol and aqueous extracts of *Anacyclus pyrethrum* roots. *Frontiers in pharmacology*, 8, 598.
- Markiewski, M. M., & Lambris, J. D. (2007). The Role of Complement in Inflammatory Diseases From Behind the Scenes into the Spotlight. *The American Journal of Pathology*, 171(3), 715-727. <https://doi.org/https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.070166>
- Mechergui, K., Khaldi, S., & Jaouadi, W. (2017). Assessment of Phenology and Morphological Diversity of 3 Species of Asteraceae: *Anacyclus clavatus*, *Chamaemelum fuscum* and *Tanacetum parthenium*. *Asian J. Biol*, 3, 1-12.
- Michel, J., Abd Rani, N. Z., & Husain, K. (2020). A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. *Frontiers in pharmacology*, 11, 852.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mounnissamy, V. M., Kavimani, S., Balu, V., & Quine, S. D. (2007). Evaluation of anti-inflammatory and membrane stabilizing properties of ethanol extract of *Cansjera rheedii* J. Gmelin (Opiliaceae). *IJPT*, 6(2), 235-237.
- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.
- Nicolas, J.-F. (2001). Immunologie clinique *et* allergologie: Aspirine *et* AINS: intolérance *et* allergie.
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D. O., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 612-619.
- Nikolić, M., & Stevović, S. (2015). Family Asteraceae as a sustainable planning tool in phytoremediation and its relevance in urban areas. *Urban Forestry & Urban Greening*, 14(4), 782-789. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ufug.2015.08.002>
- Nunes, C. d. R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I. J. C., & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as sources of anti-inflammatory agents. *Molecules*, 25(16), 3726.
- Oguntibeju, O. O. (2018). Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. *Journal of Inflammation Research*, 11, 307-317. <https://doi.org/10.2147/JIR.S167789>
- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*, 243-259.
- Oschman, J. L., Chevalier, G., & Brown, R. (2015). The effects of grounding (earthing) on inflammation, the immune response, wound healing, and prevention and treatment of chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Journal of inflammation research*, 83-96.
- Park, H.-H., Lee, S., Son, H.-Y., Park, S.-B., Kim, M.-S., Choi, E.-J., Singh, T. S. K., Ha, J.-H., Lee, M.-G., Kim, J.-E., Hyun, M. C., Kwon, T. K., Kim, Y. H., & Kim, S.-H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of pharmacal research*, 31(10), 1303-1311. <https://doi.org/10.1007/s12272-001-2110-5>
- Park, M. H., Kim, D. H., Lee, E. K., Kim, N. D., Im, D. S., Lee, J., Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2014). Age-related inflammation and insulin resistance: a review of their intricate interdependency. *Archives of pharmacal research*, 37, 1507-1514.
- Pawelec, G., Goldeck, D., & Derhovanessian, E. (2014). Inflammation, ageing and chronic disease. *Current opinion in immunology*, 29, 23-28.
- Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., & Kohli, K. (2009). Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)(Discontinued)*, 8(3), 229-235.
- Ribaldone, D. G., Pellicano, R., & Actis, G. C. (2018). Inflammation: A highly conserved, Janus-like phenomenon—A gastroenterologist's perspective. *Journal of Molecular Medicine*, 96(9), 861-871.
- Richardson, J. D., & Vasko, M. R. (2002). Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(3), 839-845.
- Rimbau, V., Risco, E., Canigual, S., & Iglesias, J. (1996). Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North-African countries. *Phytotherapy Research*, 10(5), 421-423.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3009.
- Rolnik, A., Soluch, A., Kowalska, I., & Olas, B. (2021). Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition – Comparative studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 111982. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111982>
- Romero-Cerecero, O., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Alonso-Cortés, D., Jiménez-Ferrer, E., Nicasio-Torres, P., Aguilar-Santamaría, L., & Tortoriello, J. (2013). Pharmacological and chemical study to identify wound-healing active compounds in *Ageratina pichinchensis*. *Planta medica*, 79(08), 622-627.
- Sansbury, B. E., & Spite, M. (2016). Resolution of acute inflammation and the role of resolvins in immunity, thrombosis, and vascular biology. *Circulation research*, 119(1), 113-130.
- Seidel, V. (2005). Initial and bulk extraction. *Natural products isolation*, 27-46.
- Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (2010). *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press.
- Shinde, U., Phadke, A., Nair, A., Mungantiwar, A., Dikshit, V., & Saraf, M. (1999). Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70(3), 251-257.
- Singsai, K., Charoongchit, P., Chaikaew, W., Boonma, N., Fhanjaksai, P., & Chaisatan, K. (2020). Antilipoxygenase and Anti-Inflammatory Activities of *Streblus asper* Leaf Extract on Xylene-Induced Ear Edema in Mice. *Advances in pharmacological and pharmaceutical sciences*, 2020, 3176391. <https://doi.org/10.1155/2020/3176391>
- Sissi, S., Di Giacomo, S., Ferrante, C., Angelini, P., Macone, A., Giusti, A. M., Toniolo, C., Vitalone, A., Abdellah, A., & Larhsini, M. (2022). Characterization of the Phytochemical Composition and Bioactivities of *Anacyclus maroccanus* Ball. and *Anacyclus radiatus* Loisel Aerial Parts: Preliminary Evidence for the Possible Development of Moroccan Plants. *Molecules*, 27(3), 692.
- Straub, R. H., & Schradin, C. (2016). Chronic inflammatory systemic diseases: An evolutionary trade-off between acutely beneficial but chronically harmful programs. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2016(1), 37-51. <https://doi.org/10.1093/emph/eow001>
- Tanase, C., Coșarcă, S., & Muntean, D.-L. (2019). A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*, 24(6), 1182.
- Tréchet, P., & Jouzeau, J.-Y. (2014). Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Revue Française d'Allergologie*, 54(3), 212-217.
- Truong, D.-H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of food quality*, 2019.
- Wynn, T. A., & Ramalingam, T. R. (2012). Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature medicine*, 18(7), 1028-1040. <https://doi.org/10.1038/nm.2807>
- Xu, Q., Wang, Y., Guo, S., Shen, Z., Wang, Y., & Yang, L. (2014). Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of *Flos populi*. *Journal of ethnopharmacology*, 152(3), 540-545.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Zaidi, S. M. A., Pathan, S. A., Singh, S., Jamil, S., Ahmad, F. J., & Khar, R. K. (2013). Anticonvulsant, anxiolytic and neurotoxicity profile of Aqarqarha (*Anacyclus pyrethrum*) DC (Compositae) root ethanolic extract. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(07), 535.
- Zardi-Bergaoui, A., Harzallah-Skhiri, F., Hammami, S., Chreaif, I., Cheriaa-Issa, J., Jannet, H. B., & Mighri, Z. (2008). Composition and antibacterial activity of the essential oil from Flowerheads of *Anacyclus cyrtolepidioïdes* Pomel from Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(6), 577-585.
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Ziani, B. E., Calhelha, R. C., Barreira, J. C., Barros, L., Hazzit, M., & Ferreira, I. C. (2015). Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*, 77, 582-589.

Abstract

The objective of the present study is to evaluate the anti-inflammatory properties of the acetic extract of the aerial part of *Anacyclus clavatus*. The contents of total polyphenols and flavonoids of the extract were determined using the method of Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride, respectively. The results reveal that (AC. E) is rich in polyphenols and flavonoids with values of $79.85 \pm 7.995 \mu\text{g GAE/mg}$ of extract and $9.474 \pm 0.1 \mu\text{g QE/mg}$ of extract, respectively. Anti-inflammatory activity was assessed using human erythrocyte membrane stability (HRBC) assays and xylene-induced ear edema assay in mice, Compared with the synthetic anti-inflammatory diclofenac and indomethacin. The *in vitro* evaluation of anti-inflammatory activity shows that AC. E have a strong inhibitory activity with a percentage inhibition of 99.33% at the dose 2 mg/ml. The results of anti-inflammatory activity *in vivo* showed a remarkable reduction in the increase in edema volume with a percentage inhibition of 75% for AC. E, a relatively high reduction to that obtained with indomethacin, the reference anti-inflammatory (70%). In conclusion, the acetic extract of *Anacyclus clavatus* possess a significant anti-inflammatory activity due to the presence of phenolic compounds which can be exploited in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Anacyclus clavatus*, anti-inflammatory, polyphenols, flavonoids, plant extract.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للالتهابات للمستخلص الأستيني للجزء الهوائي لنبتة *Anacyclus clavatus*. تم التقدير الكمي لكل من متعدد الفينول والفلافونويدات باستخدام طريقة Folin Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج المتحصل عليها ان المستخلص الأستيني غني بمتعدد الفينول والفلافونويدات بقيمة 79.185 ± 7.995 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ مستخلص و 9.474 ± 0.1 ميكروغرام مكافئ كيرستين/مغ مستخلص، على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات بالاعتماد على اختبار استقرار غشاء كريات الدم الحمراء البشرية واختبار وذمة الأذن المحذب بـ Xylène عند الفئران، مقارنة مع ديكلوفيناك والانداميتاسين على الترتيب. حيث اعطى اختبار استقرار غشاء كريات الدم الحمراء نتائج تثبت ان المستخلص الاستيني له نشاط فعال في حماية غشاء هذه الكريات ضد الانحلال بنسبة 99.33% بجرعة 2مغ/مل. من جهة أخرى اعطي العلاج عبر الفم بجرعة 200 مع/كغ من المستخلص الاستيني تأثير مضاد لالتهاب الأذن المحذب بـ Xylène مع معدل تثبيط يقدر بـ 75% لوذمة الأذن. هذه النتائج أحسن من المتحصل عليها مع مضاد الالتهاب التجاري (70%). في الختام، المستخلص الاستيني لنبتة *A. clavatus* تمتلك نشاطية عالية ضد الالتهاب بسبب وجود المركبات الفينولية التي يمكن استغلالها في صناعة الأغذية والادوية.

كلمات مفتاحية: *Anacyclus clavatus*، مضادات الالتهاب، متعدد الفينول، فلافونويدات، مستخلص النبتة.

Résumé

Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire de l'extrait acétonique (E.AC) de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats révèlent que l'E.AC est riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de $79.185 \pm 7.995 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et $9.474 \pm 0.1 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en utilisant les tests de la stabilité membranaire des érythrocytes humains (HRBC) et le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. En comparaison avec les anti-inflammatoires de références (diclofénac et l'indométacine). L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire montre que l'E.AC a une activité inhibitrice forte avec un pourcentage d'inhibition maximale de 99.33% à la dose 2 mg/ml. Les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* montrent une réduction remarquable de l'augmentation de volume d'œdème avec un pourcentage d'inhibition de 75 % d'extrait acétonique, une réduction relativement élevée que celle obtenue avec l'indométacine, anti-inflammatoire de référence (70 %). En conclusion, l'extrait acétonique possèdent une activité anti-inflammatoire importante due à la présence des composés phénoliques qui peuvent être exploités dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés : *Anacyclus clavatus*, anti-inflammatoire, polyphénols, flavonoïdes, extrait de plante.