



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Imane MERADJI et Riane MERRAKCHI
Le: mercredi 7 octobre 2020

Thème

**Activité anti-inflammatoire *in vitro* de
quelques espèces de la famille des
Lamiacées**

Jury:

Mr	Salem BELKASSA	MAA	Université de Biskra	Président
Mr	Ahmed SIMOZERAG	MCB	Université de Biskra	Examineur
Mlle. Fatima Zohra	BENABDALLAH	MAA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

*Tout d'abord, Nous remercions **Allah** le tout puissant, qui nous a donné la santé, la force, le courage et la volonté d'achever notre mémoire.*

*Nos remerciements vont en premier à notre encadreur **Melle Ben abdallah Fatima Zohra**, nous lui exprimons notre profonde gratitude et reconnaissance de nous avoir orienté et dirigé durant toute la période de conception et d'élaboration de notre mémoire malgré toutes les contraintes causées par la pandémie (covid-19).*

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury, le

Pour leur présence et pour le temps qu'ils ont bien voulu consacrer pour l'évaluation de notre travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à tous les professeurs intervenants, et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant notre travail.

*Un remerciement particulier à Mr **Hadjeb Ayoub**, et Mr **Khachai Salim** chef département d'agronomie, pour tous leurs aides, leurs conseils qui nous ont apportés pour situer le lieu où on peut trouver la plante.*

*Tous les ingénieurs de laboratoire de département SNV, et spécialement **Melle Alima**, **Meme Saliha** et Mr **Abd el kader** sont remerciés chaleureusement pour leurs orientations.*

Nous tenons aussi à remercier particulièrement tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cycle universitaire et les personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Enfin,

Et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, nous présenterons nos remerciements, notre respect et gratitude.



Riane & Imene.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents

Je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour, le soutien, les conseils et les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagnée tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, que mieux que des mots, ils traduisent tout l'amour que je ressens pour vous.

Que Dieu vous garde

A mes chères sœurs : *Nardjess, Imene, Lina*

A mes chers frères : Aymen et Mohamed El –Sadek.

A mes neveux et ma nièce : *Nadjib, Amar et Meriem*

A mes amies :

En souvenir de notre amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

A mon binôme : *Imene* tu as été toujours présente ; on s'est entraîné pour bien réussir.

Aux étudiants de la promotion 2019-2020 «Master II Biochimie appliquée» et aux amis et personnes que j'ai connues mais je n'ai pas pu citer.

Riane

Dédicace

A MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

A MON FRERE AMINE

Merci, pour l'encouragement et le soutien moral, merci de m'avoir aidé lorsque j'avais besoin. Tu es toujours un cadeau dans ma vie.

A MES GRANDS PERES ET GARNDS MERES

A MES CHERS ONCLES, TANTES, LEURS EPOUX ET EPOUSES

A MES CHERS COUSINS et COUSINES

Une dédicace particulière à ma tante Turkia je l'appelle Omi, à mes deux chers AHMED et NESRINE. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A MON FIANCÉ

Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance pour toute l'aide lorsqu'on avait besoin et qui ma beaucoup soutenu et encouragé

A MON BINOME RIANE

Pour sa présence, son soutien et son aide permanente

A TOUTES MES AMIES

En souvenir de notre amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

A toute la promotion 2020 du département des sciences de la nature et de la vie de Biskra. À toute personnes que j'ai connues mais je n'ai pas citées.

Imene

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction générale.....	1

Partie Bibliographique

Chapitre 1: Généralités sur les plantes étudiées

1.1. <i>Lavandula antineae</i>	4
1.1.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique	4
1.1.2. Composition chimique et utilisation.....	4
1.2. <i>Thymus algeriensis</i>	4
1.2.1. Lieu géographique et caractéristiques botaniques.....	4
1.2.2. Composés chimiques et utilisation	4
1.3. <i>Plectranthus amboinicus</i>	5
1.3.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique	5
1.3.2. Composition chimique et utilisation.....	5
1.4. <i>Rosmarinus eriocalyx</i>	5
1.4.1. Lieu géographique et caractéristiques botaniques.....	5
1.4.2. Composition chimique et utilisation.....	6
1.5. <i>Mentha piperita</i> L	6
1.5.1. Lieu géographique et caractéristique botanique.....	6
1.5.2. Composition chimique et utilisation.....	6
1.6. <i>Anisomeles Malabarica</i>	7
1.6.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique	7
1.6.2. Composition chimique et utilisation.....	7

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et le processus inflammatoire

2.1. Définition des métabolites secondaires	8
2.2. Classifications et fonctions des métabolites secondaires	8
2.2.1. Les composés phénoliques.....	8
2.2.2. Les alcaloïdes	9
2.2.3. Les terpenoïdes.....	9
2.3. L'inflammation	10

2.4. Les anti-inflammatoires.....	10
2.4.1. Anti-inflammatoire stéroïdiens	10
2.4.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	10
2.4.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale	11

Partie Expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

3.1. Matériel	12
3.1.1. Préparation du matériel végétal.....	12
3.1.2. Récolte et identification	12
3.2. Méthodes	13
3.2.1. Extraction	13
3.2.2. Expression du rendement d'extraction	19
3.2.3. <i>In vitro</i> , évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	20
3.2.4. Analyse statistique	25

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4.1. Le Rendement d'extraction	26
4.2.Évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	28
4.2.1. Inhibition de la dénaturation protéique	28
4.2.2. Résultats de l'Activité anti-hémolytique	31
Conclusion	37
Références.....	Erreur ! Signet non défini.
Bibliographique.....	Erreur ! Signet non défini.
Annexes	Erreur ! Signet non défini.
Les références des articles analysés	64

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification taxonomique des espèces étudiées de la famille des Lamiacées	3
Tableau 2. La couleur et l'aspect de chaque extrait des deux plantes.	26
Tableau 3. Pourcentage de l'effet des huiles essentielles de <i>M. Piperita</i> L. sur la protection de la membrane des érythrocytes contre l'hémolyse.....	34
Tableau 4. Pourcentage d'hémolyse induite par chaleur pour les deux parties feuilles et fleurs de l'espèce <i>A. malabarica</i> R. Br. Ex Sims.....	36

Liste des figures

Figure 1. Images des plantes étudiées de la famille des Lamiacées (a : <i>R. eriocalyx</i> Jord & Four (by Errol Vela 2008) ; b : <i>M. piperita</i> (Benayad, 2008).; c : <i>P. amboinicus</i> (source: Catalogue of life: <i>Plectranthus amboinicus.jpg</i> by Raphael Duran, 2011); d : <i>L. antineae</i> (Source : Jardin botanique de Nice (Alpes-Maritimes, 2012).; e : <i>T. algeriensis</i> (by Liliane Rouboudi, 2006) ; f : <i>A. malabarica</i> (by Rameshpradu Ramaraj, 2013).....	3
Figure 2. Structures des métabolites secondaires sités (a : acides phénoliques (Gonzalez <i>et al.</i> , 1997) ; b : flavonoïdes (Gonzalez <i>et al.</i> , 1997) ; c : tanin hydrolysable, et condensé (Lochab <i>et al.</i> , 2014) ; d : quelques exemples des alcaloïdes hétérocycliques ; e : base de l'isoprène (Khenaka, 2011)).....	10
Figure 3. Schéma du protocole de fractionnement de l'extrait hydroalcoolique de <i>T. algeriensis</i> et <i>L. antineae</i> (Falleh <i>et al.</i> , 2008).	15
Figure 4. Schéma récapitulatif des protocoles d'extraction de chaque espèce.....	19
Figure 5. Schéma du protocole de l'activité anti-dénaturante des protéines (Kandikattu <i>et al.</i> , 2013)	21
Figure 6. Schéma récapitulatif du protocole de préparation de suspension érythrocytaire (Gandidasaan <i>et al.</i> , 1991).....	22
Figure 7. Schéma récapitulatif du protocole de test anti hémolytique induit par hypotonicité.....	24
Figure 8. Schéma récapitulatif du protocole du test anti hémolytique induit par stress thermique.	25
Figure 9. Rendements des différents extraits des deux plantes <i>L. antineae</i> et <i>T. algeriensis</i>	27
Figure 10. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par les extraits de plante de <i>L. antineae</i> (E. éthanolique, E. acétate d'éthyle, E. n-butanol, Dic).....	29
Figure 11. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation par le BSA par les extraits de <i>T. algeriensis</i> (E. éthanolique, E. acétate d'éthyle, E. n-butanol, Dic).	30
Figure 12. Histogramme illustrant l'effet de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> de <i>P. amboinicus</i>	32
Figure 13. Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de l'extrait aqueux et méthanolique de la plante <i>R. eriocalyx</i>	33

Liste des abréviations

AAPH : 2,2'-azobis 2-amidinopropane dihydrochloride.

A. malabarica : *Anisomeles malabarica*.

AIS: Anti-inflammatoires stéroïdiens.

AINS: Anti-inflammatoires non-stéroïdiens.

Abs: Absorbance.

ANOVA: Analysis of variance.

BSA: Bovine Sérum Albumine.

CRSTRA : Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides.

Cox : Cyclooxygénase.

C : Carbone.

Dic : Diclofénac.

DO : densité optique.

DESC : Extrait de dichlorométhane de *salvia connivens*.

E: Extrait

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid.

GR: Globules rouges

HPLC: High-performance liquid chromatography.

L. antineae: *Lavandula antineae*.

L. angustifolia: *Lavandula angustifolia*.

LPS: Lipopolysaccharides.

M. piperita L : *Mentha piperita* L.

MS: matière sèche.

MPE : Extrait éthanolique de *M. piperita*.

NO : Oxyde nitrique.

NSAIDs : Non-steroidal anti-inflammatory drugs.

P. amboinicus : *Plectranthus amboinicus*.

PI3 kinase : Phosphatidylinositol trisphosphate.

PKC : Protein Kinase C.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

R% : Rendement en %.

R. eriocalyx : *Rosmarinus eriocalyx*.

T. algériensis : *Thymus algeriensis*.

T. linearis: *Thymus linearis*.

T. satureioides: *Thymus satureioides*.

TPA : 12-*O*-Tétradecanoylphorbol-13-acétate.

UV : Ultraviolet.

V : Volume.

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé les bienfaits des soins par les plantes afin de soigner toutes sortes de maladies (Boumediou et Addoun, 2017).

À ce jour, les plantes jouent toujours à travers le monde un rôle capital dans l'art de soigner et de guérir. Les pharmacopées régionales s'inspirent principalement de la médecine traditionnelle et de l'expérience locale des populations en matière de soins. Mais les règles de leur utilisation manquent souvent de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. 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. En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse...etc.

Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS et des glucocorticoïdes. Tous les AINS, quelles que soient leur voie d'administration, présentent des risques de toxicité gastro-intestinale et rénale. Dans la plupart des cas, la phytothérapie peut s'imposer comme une alternative avec des effets secondaires moindres (Kada, 2018).

Dans ce cadre notre étude est basée essentiellement sur la recherche des propriétés médicinales anti-inflammatoires *in vitro* des différents extraits que possèdent différentes plantes de la famille des Lamiacées, il s'agit de *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L. pour cela on va pratiquer les tests suivants :

- Le test anti dénaturant des protéines pour l'évaluation de la capacité des extraits de protéger le sérum albumine bovine (BSA) contre la dénaturation thermique : *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, qui a été réellement appliqué.

Le test anti-hémolytique qui a été étudié en exploitant et en analysant d'autres travaux réalisés sur les espèces : *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L.

Notre étude se divise en deux parties :

Première partie : étude bibliographique

C'est une mise au point bibliographique, traitant des généralités des plantes (*Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L), des métabolites secondaires (classification) et du processus inflammatoire.

Seconde partie : étude expérimentale

Préparation du matériel d'extraction, et protocoles in vitro de l'activité anti inflammatoire sur la base de ces deux tests on a obtenus les résultats concernant l'évaluation de l'activité anti dénaturantes in vitro des protéines (*Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae*) et l'effet anti hémolytique des plantes médicinales (*Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L) vis-à-vis les globules rouges.

Ces résultats ont fait l'objet d'une discussion et la fin de cette étude a été achevée d'une conclusion générale.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les plantes étudiées

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghibi *et al.*, 2000). Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, anti oxydant, anti-inflammatoire (Gherman *et al.*, 2000 ; Bouhdid *et al.*, 2006 ; Hilan *et al.*, 2006).

Tableau 1. Classification taxonomique des espèces étudiées de la famille des Lamiacées.

	Nom commun	Règne	Classe	Famille	Genre	Espèce
<i>Lavandula antineae</i>	Lavande	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Lavandula</i>	<i>Lavandula antineae</i> (Ozenda, 2004).
<i>Thymus algeriensis</i>	Thym	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Thymus</i>	<i>Thymus algeriensis</i> (Quezel et Santa, 1963).
<i>Plectranthus amboinicus</i>	Menthe mexicaine	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Plectranthus</i>	<i>Plectranthus amboinicus</i> (Pernet, 1957).
<i>Rosmarinus eriocalyx</i>	Romarin	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Rosmarinus</i>	<i>Rosmarinus eriocalyx</i> (Quezel et Santa, 1963).
<i>Mentha piperita</i> L.	Menthe	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Mentha</i>	<i>Mentha piperita</i> L. (Abadlia et Chebbou, 2014).
<i>Anisomeles Malabarica</i>	Malabar catmint	Plantae	Magnoliopsida	Lamiacée	<i>Anisomeles</i>	<i>Anisomeles Malabarica</i> (Arthur, 2009).

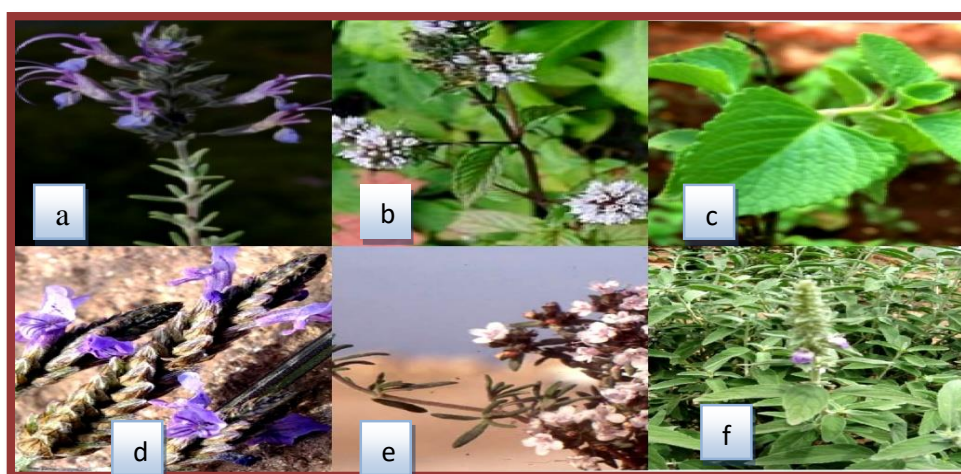


Figure 1. Images des plantes étudiées de la famille des Lamiacées (a : *R. eriocalyx* Jord & Four (by Errol Vela 2008) ; b : *M. piperita* L.(Benayad, 2008).; c : *P. amboinicus* (source: Catalogue of life: *Plectranthus amboinicus*.jpg by Raphael Duran, 2011); d : *L. antineae* (Source : Jardin botanique de Nice (Alpes-Maritimes,

2012).; **e** : *T. algeriensis*(by Liliane Rouboudi, 2006) ; **f** : *A. malabarica* (by Rameshpradu Ramaraj, 2013).

1.1. *Lavandula antineae*

1.1.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique

Lavandula antineae (fig. 1, d) est une plante qui pousse sur les montagnes sahariennes, sous arbrisseaux (Algérie) : Massif central saharien des monts du Hoggar (Quezel et Santa, 1963). Elle a une odeur forte, florale et des feuilles linéaires ou triangulaires en général identiques aux autres espèces. Les fleurs sont de 12-15 mm bractéolées, elles sont le plus souvent bleues foncé (Quezel et Santa, 1963).

1.1.2. Composition chimique et utilisation

Les huiles essentielles à base de linalol, cineole1-8, β -ocimene, terpinen-4-ol et le camphre linalyliques (Cavanagh et Wilkinson, 2002) flavonoïdes (apigénine 7-rutinoside, vitexine et lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide) (Upson *et al.*, 2004). La lavande est employée pour ses propriétés antispasmodiques, carminatives, antiseptiques, analgésiques et sédatives Propriétés. Il a été utilisé traditionnellement pour traiter les coliques, la dépression, le diabète, l'épilepsie, la migraine, les infections urinaires, les maladies cardiaques, eczéma et pour nettoyer les plaies (Costa *et al.*, 2001). En Algérie, la plante *Lavandula antineae* est utilisée pour traiter les frissons, les ecchymoses, les œdèmes et les rhumatismes (Krimat *et al.*, 2014).

1.2. *Thymus algeriensis*

1.2.1. Lieu géographique et caractéristiques botaniques

Le *Thymus algeriensis* (fig. 1, e) se trouve le plus souvent dans les pelouses et rocailles du Tell et rarement ailleurs au piémont de l'Aurès « Djamourah » (Beloued, 2005). Il pousse sous arbrisseaux pouvant atteindre plus de 25 cm de long, c'est une plante aromatisant très agréable (Quezel et Santa, 1962) ; ligneuse à rameaux serrés, plus ou moins dressés et velus recouverts de feuilles florales opposées un peu enroulées sur les bords avec un limbe ponctué très glanduleux, mesurant 1 à 2cm de long sur 2 à 3mm de large. Les fleurs sont rosacées avec un calice glanduleux ou légèrement velu, long de 5 à 6 mm (Beloued, 2005).

1.2.2. Composés chimiques et utilisation

Le thym contient des huiles essentielles dont les principales composantes son le thymol et le carvacrol, des principales amers, des saponines et des antiseptiques (Beloued, 2005). On utilise souvent le thym pour assaisonner les aliments et des boissons (Bazylo et Strzelecka, 2007) ; Il contribue dans le nettoyage et la cicatrisation

des plaies, et l'expulsion des gaz intestinaux (Hans, 2007). Il a également des effets antiseptiques et spasmolytiques bronchique dont il est Indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Il montre également des propriétés vermicide et des propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, et antibactériennes (Bazylo et Strzelecka, 2007).

1.3. *Plectranthus amboinicus*

1.3.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique

Plectranthus amboinicus (fig. 1, c) est une plante herbacée originaire d'Afrique orientale, comme elle est cultivée dans les zones tropicales du monde (Beuze, 1973). Cette plante herbacée présente des feuilles assez grandes charnues, à bordure festonnée jusqu'à 7 cm de long, elle peut mesurer jusqu'à 1 m de haut lorsqu'elle pousse en pleine terre. Leurs Fleurs sont en grappes de 10 à 30 cm ; présentent des calices tomenteux et une lèvre supérieure oblongue. (Pernet, 1957).

1.3.2. Composition chimique et utilisation

L'huile essentielle de cette plante s'est avérée contenir environ 76 constituants volatils. Ce dernier contenait une quantité abondante des deux principaux phénoliques composés, à savoir le carvacrol et le thymol, qui sont appréciés du point de vue pharmaceutique pour divers propriétés culinaires. Les feuilles de la menthe mexicaine sont utilisées en pharmacopée traditionnelle depuis longtemps. Elle favorise la digestion, soulage les affections respiratoires et permet de dormir. Aussi les feuilles sont utilisées comme antiseptiques et anti inflammatoires (Boiteau, 2019).

1.4. *Rosmarinus eriocalyx*

1.4.1. Lieu géographique et caractéristiques botaniques

L'espèce *Rosmarinus eriocalyx* (fig. 1, a) présente dans l'Afrique du Nord (nord-est du Maroc à travers le nord de l'Algérie, la Tunisie jusqu'au nord-ouest de la Libye), comme on peut le trouver également en l'Espagne (Beneddouch *et al.*, 2011). Le *R. eriocalyx* pousse largement dans les zones montagneuses de l'est de l'Algérie (Benbelaïd *et al.*, 2016 ; Arnold, 1997). Cette espèce de romarin est caractérisée par des feuilles plus courtes (jusqu'à 1.5 cm de longueur) et des calices et pédoncules floraux couverts de longs poils glandulaires. L'inflorescence et calice sont à pilosité double, l'une courte, l'autre constituée par de longs poils dressés glanduleux au sommet avec une Inflorescences longues à bractées amples cordiformes longues de 3-4 mm. Son

temps de floraison est dans la période de Printemps (de février à mai), et souvent en automne en septembre et octobre (Quezel et Santa, 1963).

1.4.2. Composition chimique et utilisation

Des études ont montré que l'acide vanillique, l'acide caféique, et l'acide p-coumarique constituent les principaux acides phénoliques du romarin. (Ibanez *et al.*, 2000 ; Ramirez *et al.*, 2004). Le romarin était souvent utilisé comme un remède sous le nom arabe Iklil el djebel (Arnold *et al.*, 1997). Dans la médecine traditionnelle elle est utilisée par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (Heinrich *et al.*, 2006). D'après Cheung et Tai (2007) ce genre a des activités anti-inflammatoires, et ont trouvé aussi qu'il possède des activités diurétiques, anti-antioxydante, hépato protectrices (Lemonica *et al.*, 1996).

1.5. *Mentha piperita* L.

1.5.1. Lieu géographique et caractéristique botanique

La majorité des menthes sont d'origines de l'Europe et de l'Asie. Elle est très aromatique, elle s'adapte à tous les climats hormis les plus extrêmes et elle aime les terrains frais, argileux et calcaires (Heyes *et al.*, 2006). Elle est caractérisée par : des tiges de 50 à 80 cm, dressées, se divisent en rameaux opposés. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, sa couleur verte. (Abadlia et Chebbou, 2014).

1.5.2. Composition chimique et utilisation

La composition chimique de l'huile essentielle extraite de *Mentha piperita* L. (fig. 1, b) est très complexe. D'après Chialva *et al.* (1993) plus de 200 constituants ont été identifiés. Les principaux constituants des huiles essentiels sont : Le menthol (monoterpénol), le menthone et d'autres composés sont minoritaires tels que la menthofuranne : les monoterpènes, sesquiterpènes, les esters : les oxydes (cinéole). (Abadlia et Chebbour, 2014). La menthe est riche en fer, vitamine C et en manganèse aussi en antioxydant. En thérapeutique est utilisée contre la fièvre, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, elle présente également des propriétés de la stimulation du système nerveux et analgésique (Abadalia et Chebbour, 2014).

1.6. *Anisomeles Malabarica*

1.6.1. Lieu géographique et caractéristiques botanique

Anisomeles Malabarica (fig. 1, f) est d'origine asiatique se trouve dans l'Inde du Sud, Sri Lanka et Australie (Aluri, 1992). *Anisomeles malabarica* fait partie des herbes pérennes (vivaces). Elle pousse dans les lieux ouverts, à basse altitude (Aluri, 1992). C'est une plante aromatique à forte densité de poils fins et courts, elle est persistante de 1.2 à 2 mètres de hauteur. Ses feuilles sont simples, opposées, très épaisses, les fleurs sont de couleur pourpre, denses à pics plus ou moins interrompus. Elle a des fruits (noix) portant des graines ellipsoïdes et comprimées. Sa floraison se fait durant toute l'année, elle apporte ses fruits en mois de : Novembre-décembre (Joshi, 2000).

1.6.2. Composition chimique et utilisation

Les études phytochimiques d'*A. malabarica* ont montré la présence d'acide anisomélique, d'anisomélolide, d'acide 2- acétoxymalabarique, d'anisoméline, d'acétate d'anisomélyle, d'acide bétulinique, de β sitostérol, citral, acide gérainique, acide malabarique, ovatodiolide et acide triterpenebétulinique (choudhary *et al.*, 2001).

Malabar catmint a été utilisée comme un médicament folklorique pour traiter l'amnésie, l'anorexie, la fièvre, le rhumatisme (Chopra, 1956). Elle a aussi des propriétés antiallergiques, antianaphylactiques, anti-bactériennes, anti-édémiques, anti-inflammatoire, antileucémique (Jeyachandran, 2007).

Chapitre 2
Les métabolites
secondaires et le
processus
inflammatoire

2.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophe (Abderrazak et Joel, 2007). Ils interviennent la régulation des symbioses, la défense contre les prédateurs et les pathogènes. Ces molécules constituent un groupe de produits naturels qui sont explorés pour des propriétés très divers : antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires. (Harborne, 1998 ; Bruneton, 2009).

2.2. Classifications et fonctions des métabolites secondaires

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes (Bruneton, 2009) :

- Les composés phénoliques
- Les composés azotés (les alcaloïdes)
- Les terpènes.

2.2.1. Les composés phénoliques

Comme leur nom l'indique, les polyphénols se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle (cheynier, 2005), libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 2009).

Les principaux sous classes des composés phénoliques sont :

2.2.1.1. Les acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (fig. 2, a). Ce sont des dérivés de l'acide hydroxy benzoïque (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique ou l'acide cinnamique (composé en C6-C3) comme l'acide caféique (Bruneton, 2009).

2.2.1.2. Les flavonoïdes

Ce sont des substances polyphénoliques (fig. 2, b) de faible poids moléculaire. Ils ont en commun une structure chimique de base en C15 (C6-C3-C6) et possèdent un squelette carboné constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi un hétérocycle (C). (Cook et Samman, 1996 ; Heim *et al.*, 2002). Ils protègent les plantes contre les radiations UV et sont impliqués

dans les processus de la défense de la plante, Ces molécules agissent sur la régulation de l'élongation des tiges et sur la maturité des fruits (Subramanian *et al.*, 2007).

2.2.1.3. Les tanins

Ce sont des produits naturels polyphénoliques (fig. 2, c) qui peuvent précipiter les protéines à partir de leur solution aqueuses (Silanikove *et al.*, 2001). Leur structure est formée par des unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (Ghestem *et al.*, 2001). Nous distinguons habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétiques, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 2009). Le rôle biologique des tanins est lié à sa propre protection contre les infections fongiques et bactériennes, les insectes et les animaux herbivores (Khanbabae et Ree, 2001). Ils sont utilisés en pharmacie surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes (Paris et Hurabielle, 1981).

2.2.2. Les alcaloïdes

Ce sont les principaux métabolites secondaires azotés (fig. 2, d), la plus part ont des propriétés basique. Environ 12000 composés sont synthétisés à partir des acides aminés constitués d'un hétérocycle (Meyer *et al.*, 2008). Ils existent plusieurs types d'alcaloïdes, certains ont de structures très simples, d'autres de structures beaucoup plus complexes (Mekkiou et benayache, 2005). Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques, ils représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales (Omulokoli *et al.*, 2000) et jouent à faible doses, le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'analgésiques (morphine), d'antibiotiques... (Bruneton, 2009).

2.2.3. Les terpenoïdes

Les terpènes sont des dérivés d'unité isopréniques IPP (iso-pentényl-pyrophosphate) (Richard *et al.*, 2010). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (Maleeky *et al.*, 2007). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Calsamiglia *et al.*, 2007 ; Benchaar *et al.*, 2008).

Les terpenoïdes (fig. 2, e) sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (Langenheim, 1994) et ont des propriétés biologiques et pharmacologiques variées : cytostatiques, antiviraux, anti-inflammatoires, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (Eder *et al.*, 2008 ; bruneton, 2009).

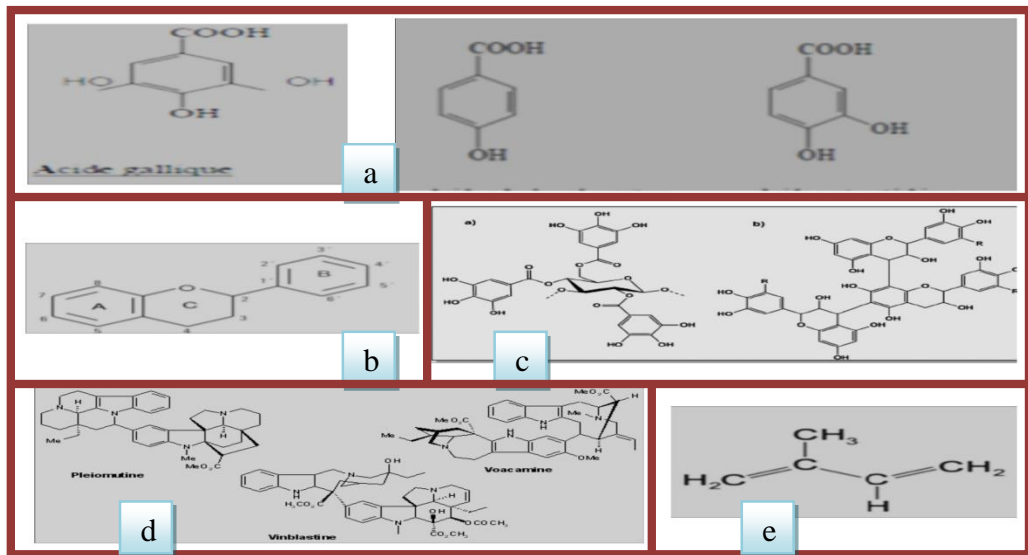


Figure 2. Structures des métabolites secondaires cités (**a** : acides phénoliques (Gonzalez *et al.*, 1997) ; **b** : flavonoïdes (Gonzalez *et al.*, 1997) ; **c** : tanin hydrolysable, et condensé (Lochab *et al.*, 2014) ; **d** : quelques exemples des alcaloïdes hétérocycliques ; **e** : base de l'isoprène (Khenaka, 2011)).

2.3. L'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection (bactéries, virus ou parasites), immunologiques, traumatismes physiques ou chimiques (intervention chirurgicale), et nécrose tissulaire (Regnault, 1992). L'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois dans les cas les plus graves pouvant causer le décès (Nathan, 2002 ; Barton, 2008).

2.4. Les anti-inflammatoires

2.4.1. Anti-inflammatoire stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes c'est une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol qui est synthétisé par les glandes surrénales (Baud et Gressens, 2009). Les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation (Muster, 2005).

2.4.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et antalgiques. Cependant, leur utilisation thérapeutique à long cours

est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale (Ouédraogo *et al.*, 2012).

2.4.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale

Les plantes médicinales sont très utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tels que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères, inflammation gastriques et duodénaux (Setty et Sigal, 2005 ; Wiart, 2006). L'activité anti-inflammatoire de ces plantes revient à leur contenue en métabolites secondaires doués d'activités biologiques : polyphénols, stérols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides...etc (Meziti, 2009).

2.4.3.1. Effet des polyphénols sur l'inflammation

➤ Effets des polyphénols

Plusieurs études démontrent que les polyphénols modulent l'inflammation intestinale par trois mécanismes anti-inflammatoires : en inhibant les enzymes pro inflammatoires telles que la cyclooxygénase (COX-2), et en activant des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (Yoon et Baek, 2005) en inhibant les cytokines/chemokines (Denis *et al.*, 2013) et en activant les mécanismes épigénétiques (méthylation de l'ADN/histones et activité des sirtuines) (Scarpa et Stylianou, 2012 ; Verma *et al.*, 2004).

➤ Effet des flavonoïdes

De nombreuses études ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2. (Manthey, 2000). Certaines kinases (PKC, la PI3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes (Middleton *et al.*, 2000). La présence de la double liaison C2=C3 dans le noyau des flavonoïdes semble être essentielle à leur activité anti-inflammatoire (Kim *et al.*, 1998).

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Préparation du matériel végétal

Les plantes utilisées dans cette étude sont le *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae* qui ont servi à obtenir des extraits que nous allons utiliser dans notre étude d'activité anti-inflammatoire *in vitro*.

3.1.2. Récolte et identification

Le *Thymus algeriensis* a été récolté à Djemourah et la *Lavandula antineae* à Choucha dans la commune d'El-Hadjeb après identification des deux plantes objet de notre étude selon la description botanique spécifique à chacune d'elles.

Nous avons récolté ces deux plantes après les avoir arrachées chacune avec sa partie aérienne (Racines, tige, feuilles, fleurs) ; la récolte de *Lavandula antineae* a été effectuée au mois d'octobre 2019 et celle de *Thymus algeriensis* au mois de mars 2020 par la suite et après confirmation de cette identification par le botaniste Mr SAIFI du Centre de recherche scientifique des zones arides C.R.S.T.R.A nous les avons placées dans un endroit aéré et sec, à l'abri de la lumière à une température ambiante, après séchage nous les avons stockés jusqu'à leur utilisation.

La plante *Rosmarinus eriocalyx* a été récoltée au début du printemps, mois mars 2017 dans le massif Boutaleb, c'est la partie aérienne qui a été arrachée, objet de l'étude et l'identification a été faite dans le laboratoire national Institut de recherche agronomique - Sétif – Algérie (Wafa et Sofiane, 2020).

Les feuilles de *Plectranthus amboinicus* sont récoltées au mois d'août 2007 dans la zone Erode district, Tamil Nadu, Inde (Devi et Periyanyagam, 2010).

Ces feuilles sont identifiées par l'étude botanique de l'Inde et ont été déposées dans l'herbier du département de la pharmacognosie, le Croix-Édoule de Pharmacie, Erode, Tamil Nadu.

La plante entière d'*Anisomeles malabarica* R.Br. Ex Sims a été recueillie dans la région du district de Dindigul au Tamil Nadu, Inde puis elle a été identifiée botaniquement par Botanical Survey of India (BSI). Les feuilles et les fleurs d'*Anisomeles malabarica* R.Br. ex Sims ont été lavées, séchées à l'air et à l'ombre puis après un stockage de 2 semaines à température ambiante (Sheikh *et al.*, 2016).

La partie aérienne de menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) a été collectée dans la région de Cherchell (Tipaza, Algérie) (kehili *et al.*, 2020).

3.2. Méthodes

3.2.1. Extraction

Les organes des plantes sélectionnées à étudier ont été broyés à l'aide d'un Moulin électrique, pour obtenir une poudre végétale prête à l'utilisation.

3.2.1.1. Préparation des extraits hydro-alcooliques

a. Préparation de l'extrait hydroalcoolique de *Thymus algeriensis* et de *Lavandula antineae*

Pour les deux espèces *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae* la méthode d'extraction consiste à préparer des extraits hydro-alcooliques de chaque plantes selon Falleh *et al.* (2008) par macération de 100 g de la poudre de matériel végétal de *L. antineae* et *T. algeriensis* dans 600 ml et 800 ml successivement de mélange Ethanol-Eau (70:30V/V) pendant 72 heures sous agitation à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite la récupération des extraits hydro-alcooliques est faite en utilisant le papier filtre Wattman N° 4, puis une évaporation a lieu pour la récupération des filtrats à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C, on obtient donc les extraits bruts secs ont été réduits en poudre par l'utilisation de l'étuve , puis gardés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation (fig. 4).

3.2.1.2. Préparation d'autres extraits

b. Extraits de *T. algeriensis* et de *L. antineae*

Les autres extraits des deux espèces *L. antineae* et *T. algeriensis*, il s'agit de l'extrait d'hexane et de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de n-butanol sont obtenus par le fractionnement de l'extrait aqueux est fait en utilisant d'une manière successive les quatre solvants organiques suivants : l'hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et le n-butanol pour en obtenir deux fractions, la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique.

La première étape du fractionnement consiste à ajouter à la phase aqueuse 600 ml d'hexane dans l'ampoule à décanter, ce mélange est laissé se décanter après avoir bien agiter et dénazifier le contenu et cela dans l'intention d'une bonne décantation et obtention de la phase organique; après cela la phase aqueuse est récupérer pour achever les autres opérations avec d'autres solvants .

La deuxième étape consiste d'ajouter 600 ml de chloroforme après agitation et dénazification on laisse se décanter le contenu, jusqu' à l'obtention des deux phases.

La troisième étape est effectuée par l'ajout de 600ml d'acétate d'éthyle à la phase aqueuse, ce mélange est agité et dénazifié comme dans les étapes précédente et laisser ensuite se décanter en vue d'obtenir la phase organique.

La quatrième et dernière étape qui est l'achèvement de fractionnement des extraits des deux plantes consiste elle aussi d'ajouter 600ml de n-butanol à la phase aqueuse pour avoir un mélange qu'on doit aussi agiter et dénazifier pour récupérer la phase organique (fig. 3).

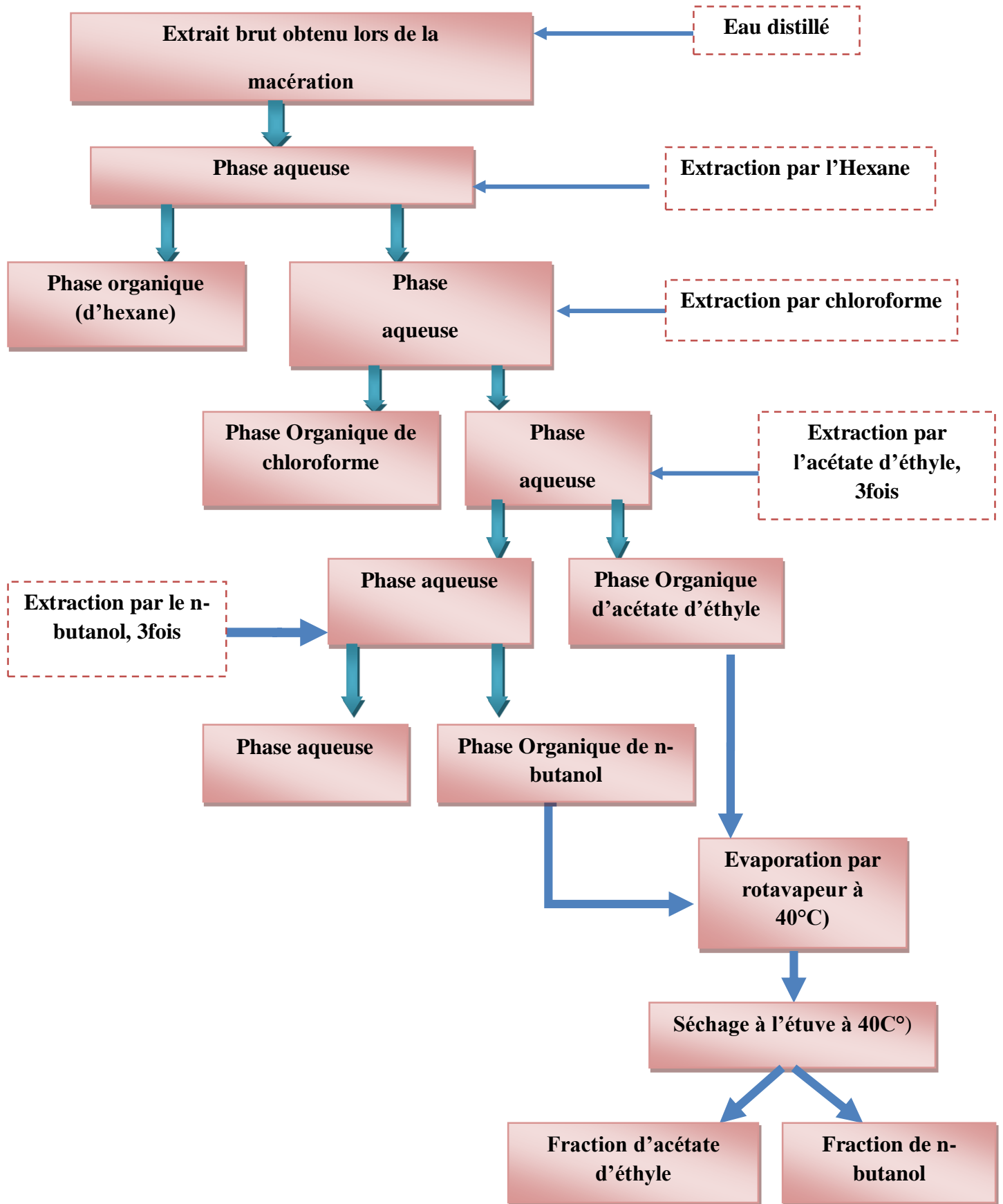


Figure 3. Schéma du protocole de fractionnement de l'extrait hydroalcoolique de *T. algeriensis* et *L. antineae* (Falleh et al., 2008).

c. Préparation de l'extrait de *P. amboinicus*

Ce qui concerne la plante *P. amboinicus* la poudre obtenue est soumise à une extraction avec l'eau distillée et de l'éthanol par l'extracteur soxhlet puis le solvant va être condensé par distillation ce qui différencie cette plante d'une autre et l'extrait est concentré au bain-marie jusqu'à l'obtention d'un résidu sec et conservé dans un dessiccateur (Devi et Periyamayagam, 2010) (fig. 4).

d. Préparation des extraits de *R. eriocalyx*

La méthode d'extraction méthanolique de la plante *R. eriocalyx* consiste tout d'abord de macérer 10 g de la poudre de la plante avec 10 ml du méthanol 80% pendant 24, 48, 72 à température ambiante, ensuite les extraits sont collectés, filtrés et évaporés à sec sous vide, à la fin ils vont être stockés à -18°C (Lakic *et al.*, 2010).

Concernant l'extrait aqueux de cette espèce, il est obtenu en mettant sous agitation 10 g de matériel végétal séché dans 100 ml d'eau distillée à 90 ° C pendant 15 minutes. Ensuite une filtration rapide est faite en utilisant quatre couches de gaze, suivie par filtration délicate par le papier filtre Wattman N°1.

Une évaporation à sec sous vide de filtrat obtenu a eu lieu. La poudre est ensuite stockée à température - 10 °C jusqu'à l'utilisation (Predrag *et al.*, 2005) (fig. 4).

e. Préparation d'huile essentielle de *M. piperita* L.

L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de la plante *Mentha piperita* L a été faite par distillation à la vapeur d'alambic par la suite ces dernières ont été conservées dans des bouteilles en verre à +4 ° C jusqu'à leurs utilisations (Kehili *et al.*, 2020) (fig. 4).

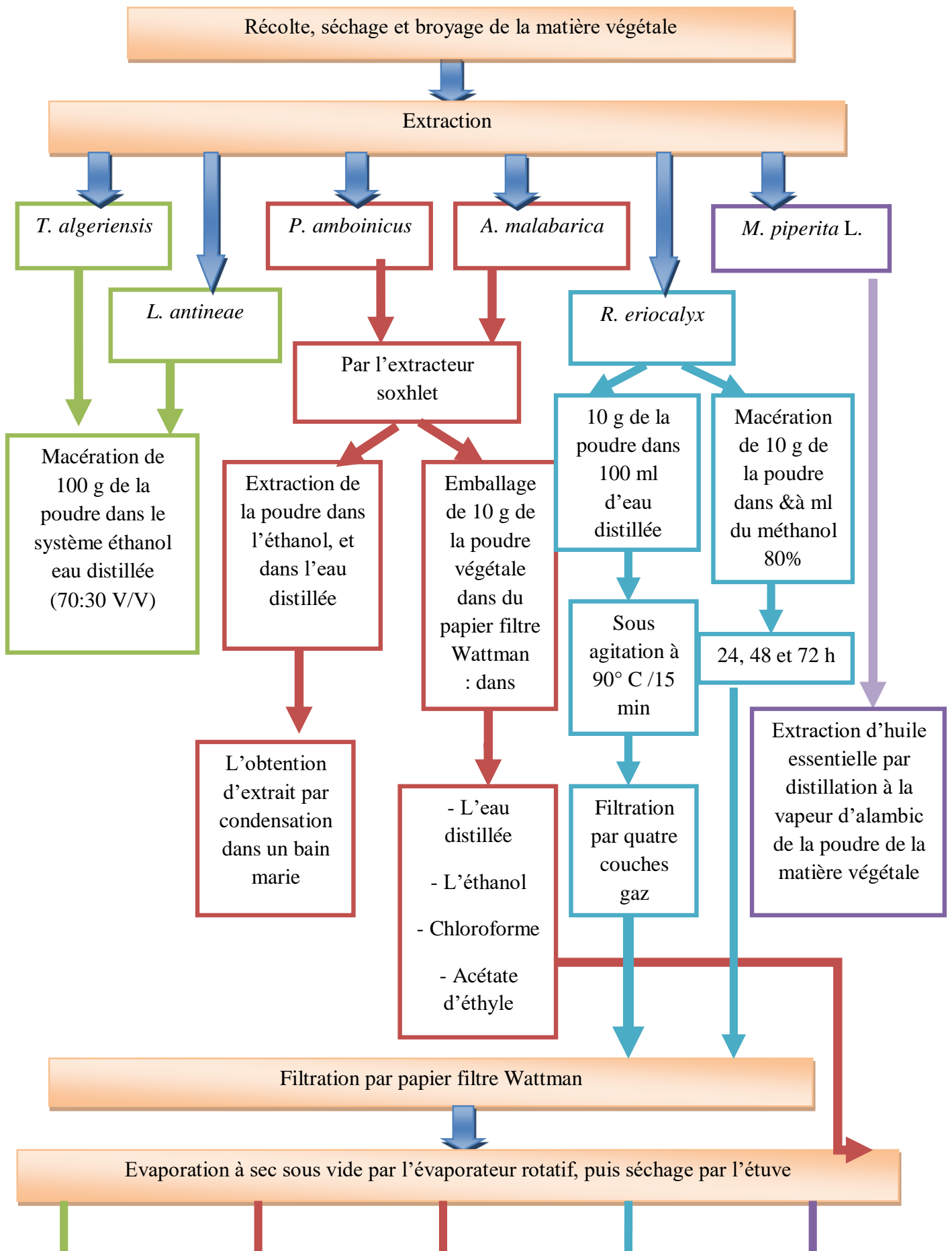
f. Préparation d'extraits de *A. malabarica*

Selon le protocole de Sheikh *et al.* (2016), l'extraction de l'espèce *Anisomeles malabarica* consiste d'emballer 10 grammes de MS de cette plante dans le papier filtre Whatman N°1, ensuite et par technique d'extraction soxhlet une extraction successive a eu lieu par l'utilisation de l'eau distillée et le solvant éthanol. Ensuite les extraits sont évaporés par évaporateur rotatif pour être utilisés dans le test anti-hémolytique.

Et ce qui concerne les extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole obtenus pour cette espèce, l'extraction est effectuée par la façon précédente de l'éthanol et l'eau distillée, ça veut dire 10 grammes de la poudre de cette plante a été emballée dans le papier filtre Whatman N°1, puis les solvants chloroforme, acétate

d'éthyle et l'éther de pétrole sont utilisés pour la réalisation de l'extraction successive par ces solvants en utilisant le soxhlet. Ensuite les extraits sont évaporés par l'évaporateur rotatif pour qu'ils soient ensuite utilisés dans le travail.

Pour cette espèce ils ont fait aussi une extraction des huiles essentielles de la matière végétale fraîche par la méthode hydro-distillation en utilisant un appareil Clevenger, pour qu'ils sont aussi utilisées dans le test anti-hémolytique (Sheikh *et al.*, 2016) (fig. 4).



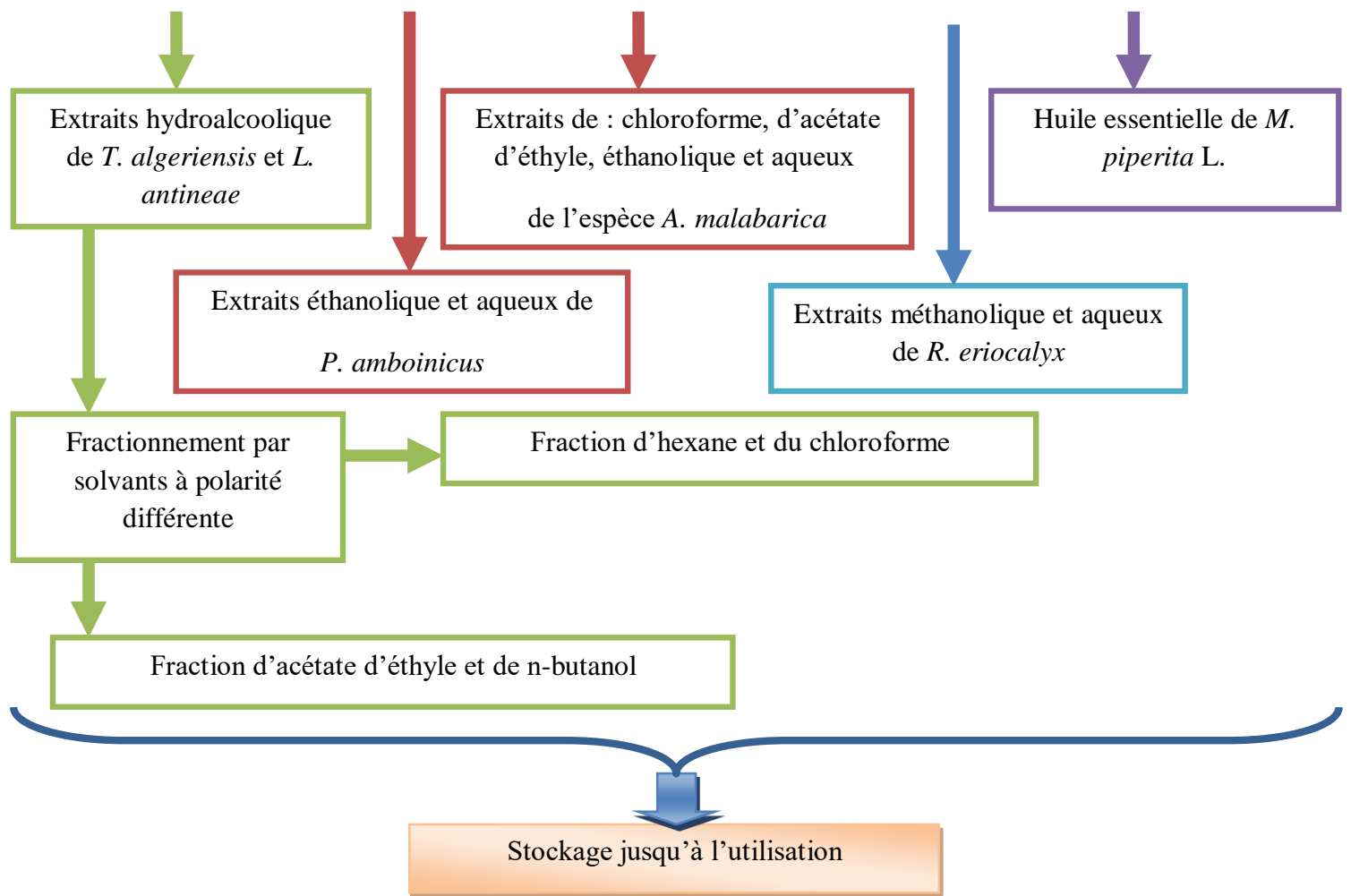


Figure 4. Schéma récapitulatif des protocoles d'extraction de chaque espèce.

3.2.2. Expression du rendement d'extraction

Le rendement d'extrait éthanolique exprimé en pourcentage a été calculé à partir au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre, mais les deux autres extraits (acétate d'éthyle et n-butanol) sont calculés par rapport de poids sec d'extrait éthanolique.

$$R (\%) = (ME / MP) \times 100$$

R(%): Rendement en %.

ME: Masse de l'extrait sec (en g).

MP : Masse de la poudre végétale utilisée pour l'extraction (en g).

3.2.3. *In vitro*, évaluation de l'activité anti-inflammatoire

3.2.3.1. Activité anti-dénaturante des protéines

Le principe de cette technique est basé sur la capacité de ces extraits à réduire la dénaturation thermique de la BSA (Bouhlali *et al.*, 2016).

La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires et arthritiques, aboutissant à la production d'auto-antigènes (Williams *et al.*, 2008).

➤ Mode opératoire

On a mélangé 1ml de chaque concentration des extraits des deux espèces *T. algeriensis* et *L. antineae* (éthanolique, d'acétate d'éthyle, et de n-butanol) ou du standard de différentes concentrations 400, 200, 100, 50,25 µg/ml, avec 1ml de BSA 0.2 % préparé dans le Tris HCL (pH 6.6) (voir annexe 4). Ensuite les tubes sont incubés à 37C° pendant 15 min puis sont mis en place dans un bain marie à 72C° pendant 5 min. Après le refroidissement de ces tubes la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve. Le standard utilisé est le diclofénac de sodium dans les mêmes conditions des extraits.

Le contrôle positif contient 1ml de BSA et 1ml de tampon Tris HCL (Kandikattu *et al.*, 2013) (fig. 5).

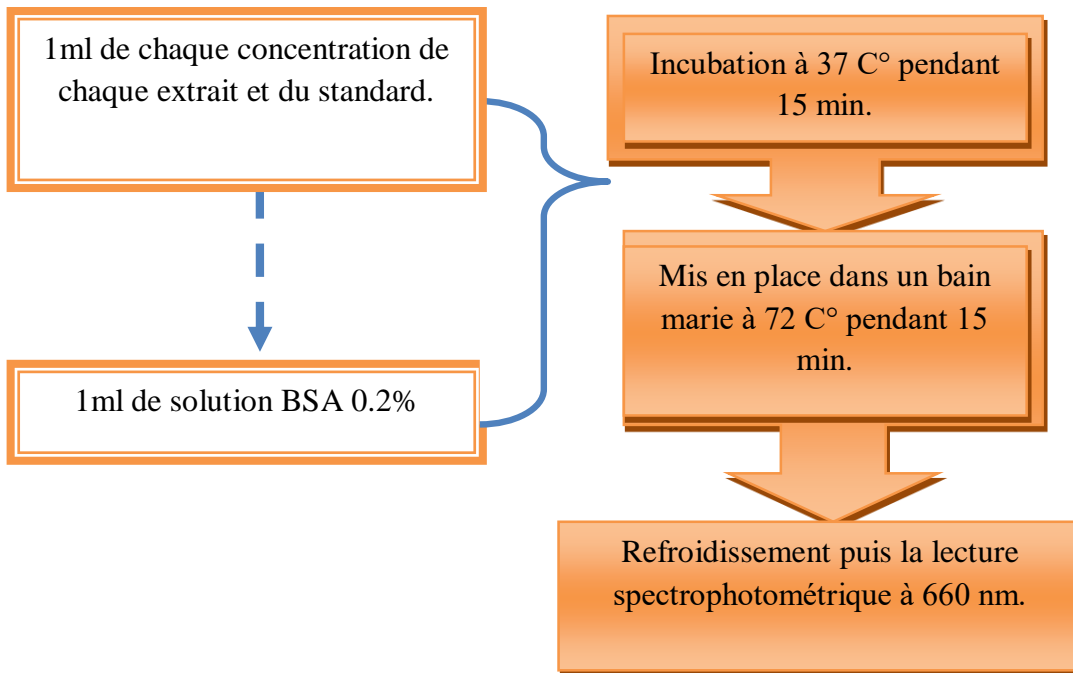


Figure 5. Schéma du protocole de l'activité anti-dénaturante des protéines (Kandikattu *et al.*, 2013).

3.2.3.2. Activité anti-hémolytique

La stabilisation de la membrane des érythrocytes et donc la membrane des lysosomes à cause de ses similitudes peut prévenir la décharge des composants lysosomaux permettant d'éviter les dommages tissulaires donc l'inflammation antioxydant...etc. (Parvin *et al.*, 2015). Le test qui suit apprécie l'effet inhibiteur d'hémolyse des globules rouges des différents extraits des plantes étudiées en estimant le taux d'hémoglobine délivré.

a. Préparation de suspension érythrocytaire

Selon Gandidasan *et al.* (1991), le sang est prélevé à partir des donneurs sains qui n'avaient pas pris de NSAIDs pendant 2 semaines avant l'expérience.

Ensuite le sang recueilli a été mélangé avec un volume égal de solution d'Alsevre stérilisée (voir annexe 6), (empêche la coagulation) (2% dextrose, 0.8% de citrate de sodium, 0.05% d'acide citrique et 0.42% de chlorure de sodium dans l'eau) ou solution EDTA. Cette solution est ensuite centrifugé à 2500 jusqu'à 3000 tours/10 min. Après la centrifugation, les cellules emballées sont séparées et les érythrocytes sont lavés avec une solution isosaline (solution saline normale) (0.85%, pH 7.2), puis la préparation d'une suspension érythrocytaire de 10% par la solution isosaline (fig. 6).

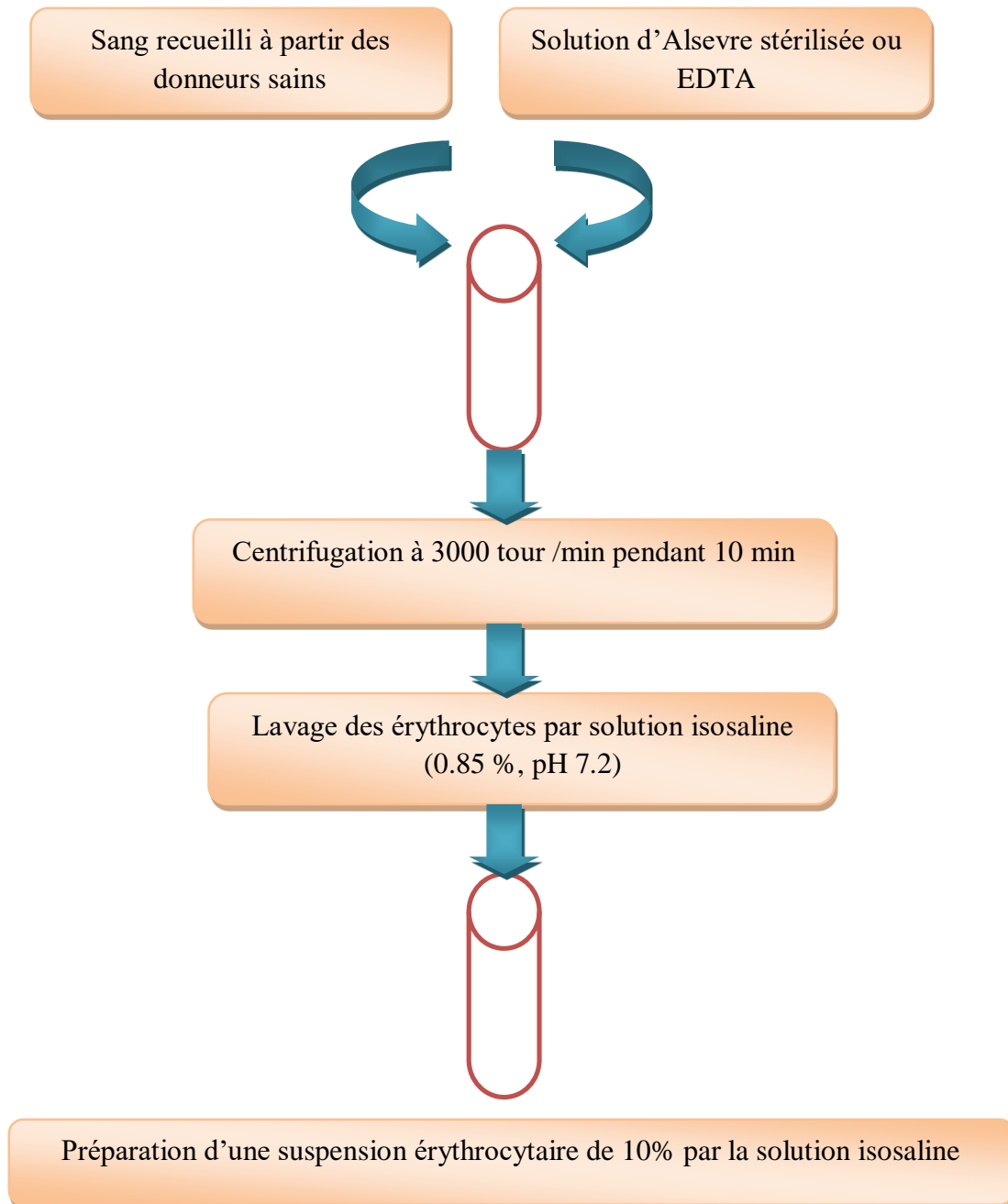


Figure 6. Schéma récapitulatif du protocole de préparation de suspension érythrocytaire (Gandidasaan *et al.*, 1991).

b. Hémolyse induite par solution hypotonique

Le principe de cette méthode consiste à l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique qui peut détruire la membrane de ces dernières, qui s'accompagne avec la libération d'hémoglobine avec les différents extraits des plantes étudiées afin de déterminer la capacité de ces extraits de protéger les érythrocytes contre l'hémolyse (Gandidasan *et al.*, 1991 ; kehili *et al.*, 2020).

Dans des tubes à hémolyse: 1 ml de tampon phosphate (pH 7.4 , 0.15m), 2 ml de solution hyposaline (voir annexe 7) (Na Cl 0.36%) , et 0.5 ml des différents extraits ; aqueux et méthanolique pour les deux espèces *P. amboinicus* et *R. eriocalyx* et l'huile essentiel de *M. piperita* L. avec des concentrations différentes (10, 50, 100, 250, 500 µg/ml) pour les deux premières espèces et de concentration (6-0.4mg /ml) pour la troisième espèce, ces tubes sont mélangés, par la suite 0.5 ml de suspension érythrocytaire 10% est rajouté.

Le standard est le diclofénac de sodium, et le contrôle contient l'eau distillée au lieu de solution hyposaline pour produire une hémolyse à 100%. Ensuite les tubes sont incubés à 37°C pendant 30 min puis centrifugés à 2500 tours/min pendant 5 min.

Pour estimer la teneur en hémoglobine dans le surnagent une lecture d'absorbance de surnagent est faite à 560 nm.

Le pourcentage d'hémolyse est calculé en supposant l'hémolyse produite dans la présence d'eau distillée (le contrôle) à 100% (fig. 7).

Le pourcentage d'hémolyse de la membrane des érythrocytes est calculé comme suit :

$$\text{Hémolyse (\%)} = (\text{DO Extrait} / \text{DO Contrôle}) \times 100$$

Cependant, le pourcentage de la stabilisation de la membrane des GR est calculé selon Seema *et al.* (2011) comme suit :

$$\text{Protection (\%)} = 100 - [(\text{DO Echantillon} / \text{DO Contrôle}) \times 100]$$

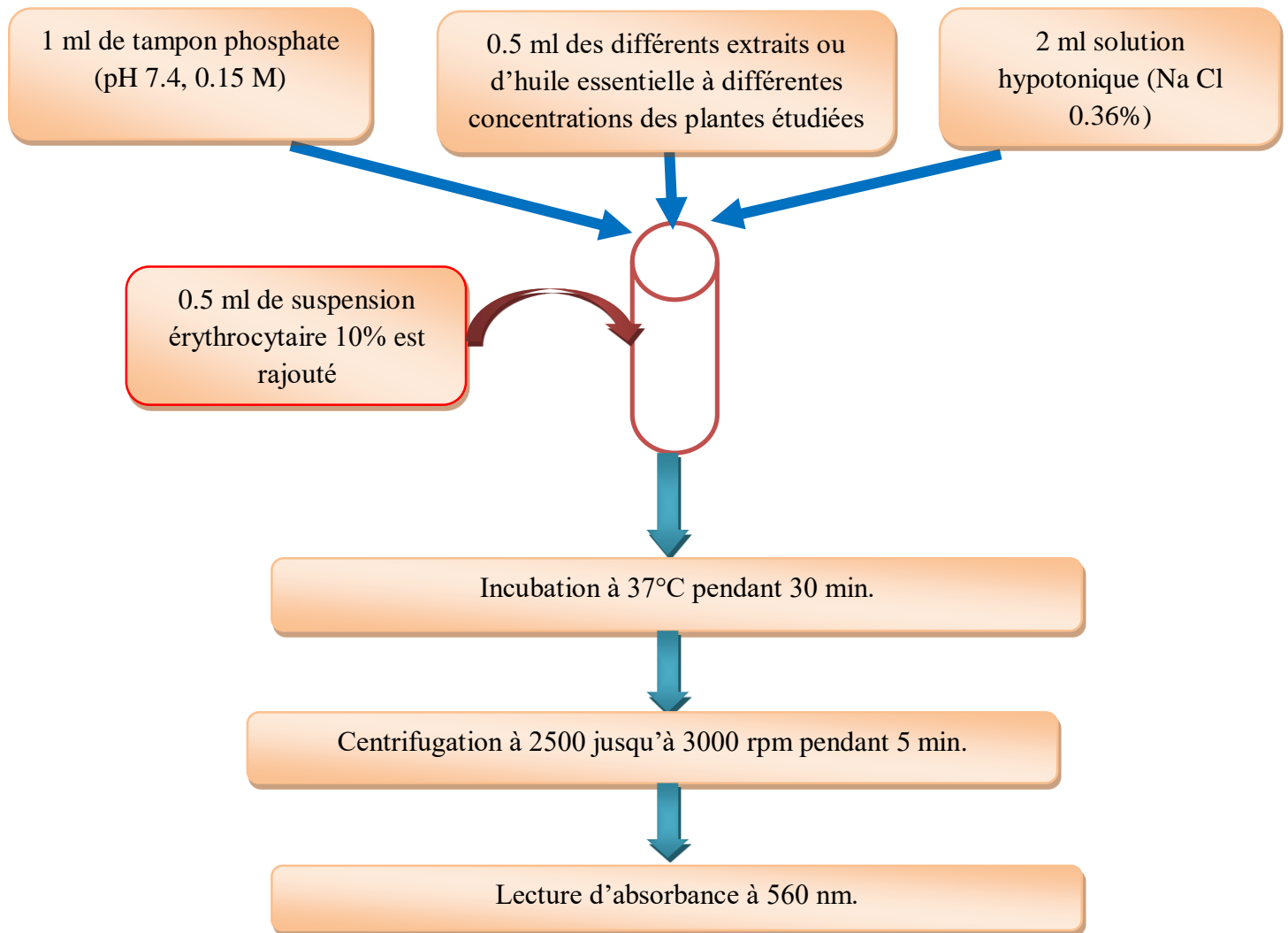


Figure 7. Schéma récapitulatif du protocole de test anti hémolytique induit par hypotonie.

c. Hémolyse induite par chaleur

Ce protocole est basé sur l'effet des différents extraits des plantes étudiées sur la stabilisation de la membrane des globules rouges, après un passage à l'hémolyse par l'utilisation de température élevée (Govindappa *et al.*, 2011).

Dans tubes à hémolyse : 2 ml de suspension érythrocytaire (10%) et 2 ml de chaque extrait de l'espèce d'*Anisomeles malabarica* ; puis cette solution est chauffée à 56 C° pendant 30 minutes, ensuite elle a été refroidie à température ambiante. Par la suite la solution obtenue est centrifugée 2500 rpm pendant 10 minutes. Par la suite la teneur en hémoglobine dans le surnageant est estimée par lecture d'absorbance à 560 nm. Pour le contrôle négatif 2 ml de suspension érythrocytaire et 2 ml de solution saline (0.7%). Le diclofénac est utilisé comme standard (contrôle positif) (fig. 8).

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon Shinde *et al.* (1999) et Saket et coll (2010) comme suit :

$$\text{Pourcentage de protection} = [100 - (\text{Abs du test} - \text{Abs de contrôle} / \text{Abs du standard}) \times 100]$$

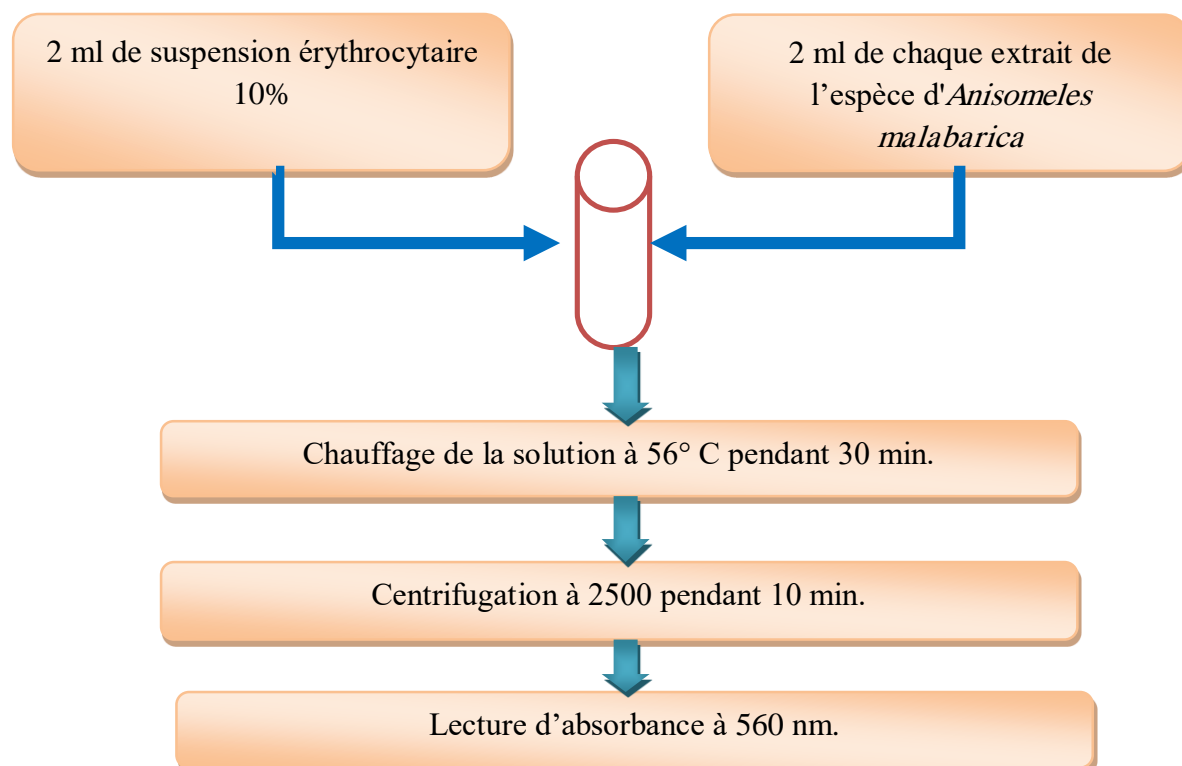


Figure 8. Schéma récapitulatif du protocole du test anti hémolytique induit par stress thermique.

3.2.4. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type et les données étaient statistiquement analysées par ANOVA à un facteur et la comparaison multiple Newman-Keuls à travers lesquels on peut déterminer s'il y a eu des significatifs avec le critère de valeurs $P < 0.05$ en utilisant Graphpad prism 5 Demo Logiciel (kehili *et al.*, 2020).

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Le Rendement d'extraction

L'extraction hydroalcoolique de la poudre des deux plantes *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis* qui est effectuée selon le protocole de Falleh *et al.* (2008), que ce soit la macération hydroalcoolique dans la première étape et qui nous donne de l'extrait brut éthanolique ou le fractionnement de ce dernier dans la deuxième étape qui nous donne les deux fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol et nous permet de séparer les différents composants des deux plantes selon leur degré de solubilité à cause de la polarité des différents solvants utilisés (Kholkhal, 2014).

Cette méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Après l'évaporation et le séchage de tous les extraits, nous avons les obtenus tous sous forme de poudre, chacun de ces extraits caractérisé par sa couleur, son aspect et son rendement. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2. La couleur et l'aspect de chaque extrait des deux plantes.

	Extraits	Couleur	Aspect
Les plantes			
<i>Lavandula antineae</i>	Ethanolique	Vert foncé	Visqueux
	Acétate d'éthyle	Vert foncé	Poudre
	N-butanol	Jaune Clair	Poudre
<i>Thymus algeriensis</i>	Ethanolique	Marron foncé	Visqueux
	Acétate d'éthyle	Vert foncé	Poudre
	N-butanol	Marron Claire	Poudre

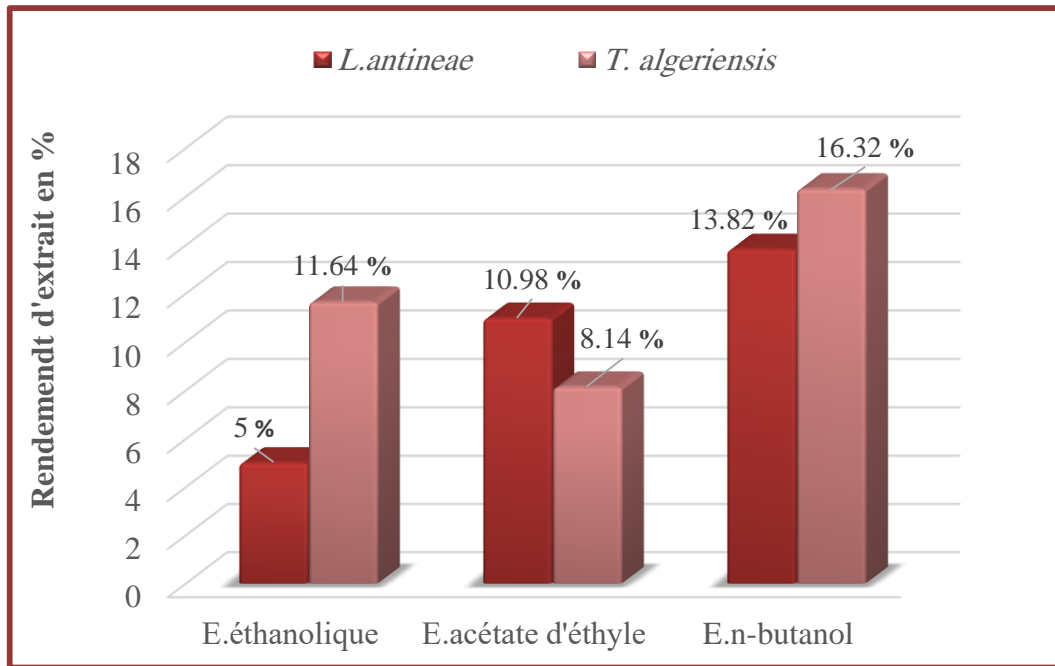


Figure 9. Rendements des différents extraits des deux plantes *L. antineae* et *T. algeriensis*

Selon les résultats obtenus et qui sont indiqués dans l'histogramme dans la figure 9. Nous trouvons que le rendement le plus élevé pour l'espèce de *T. algeriensis* est l'extrait butanolique (16.32%), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (8.14%). Ceci est également observé pour l'autre plante *L. antineae* où l'extrait butanolique était aussi supérieur (13.82%) à l'extrait d'acétate d'éthyle (10.98%).

Ainsi le rendement en extrait butanolique de l'espèce *T. algeriensis* est élevé de celui de l'espèce *L. antineae*. Par contre le rendement de l'extrait d'acétate d'éthyle de *L. antineae* était supérieur par rapport à celui qui le correspond de l'autre plante *T. algeriensis*.

Le rendement en extrait éthanolique de l'espèce *L. antineae* est inférieur (5%) par rapport à l'autre extrait (éthanolique) de l'autre espèce *T. algeriensis* (11.64%).

D'après la comparaison avec d'autres travaux nous constatons que le rendement d'extrait éthanolique de l'espèce *T. algeriensis* trouvé dans notre travail était supérieur par rapport au rendement en extrait méthanolique de la même plante trouvé dans les résultats de Kholkhal (2013) et qui est égale à 9.25%. Nous avons fait le même constat pour le rendement en extrait méthanolique de l'espèce *Thymus vulgaris* mentionné dans le travail de Yakhlef (2010), et qui égale à 6.24%.

Le rendement d'extrait éthanolique du *L. antineae* que nous avons trouvé dans notre travail était inférieur au celui méthanolique trouvé aux résultats de Krimat *et al.* (2014) qui égale à 15.1%, ceci est également observé pour l'extrait d'acétate d'éthyle notre extrait était plus faible par rapport à leur extrait (53.70%), par contre le rendement d'extrait butanolique obtenu dans notre travail était supérieur par rapport à celui qui le correspond dans les résultats de Krimat *et al.* (2014) qui est 13.31%.

Ainsi pour le rendement en extrait éthanolique du *L. antineae* trouvé dans notre travail été supérieur par rapport aux résultats de Bouharb *et al.* (2014), et qui a travaillé par l'éthanol aussi sur les espèces *Lavandula stoechas* et *Lavandula multifida*, qui sont respectivement égale à 2.78% et 1.06 %.

Toutes ces variations et différences trouvées dans les valeurs des rendements entre les extraits dues à différents facteurs qui sont : la méthode et les conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuée, les solvants utilisés, et tout ce qui concerne la plante que ce soit : le contenu en composés chimiques, l'origine géographique (climat et sol), la saison de la récolte, les conditions et la durée de stockage et les parties de la plante utilisées dans l'extraction.

4.2.Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

4.2.1. Inhibition de la dénaturation protéique

Selon Rathisre *et al.* (2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation *in vitro* de l'activité anti inflammatoire des extraits. Les résultats de l'inhibition de la dénaturation du sérumalbumine, par nos trois types d'extraits sont représentés dans les figures 10, 11 et le standard diclofénac.

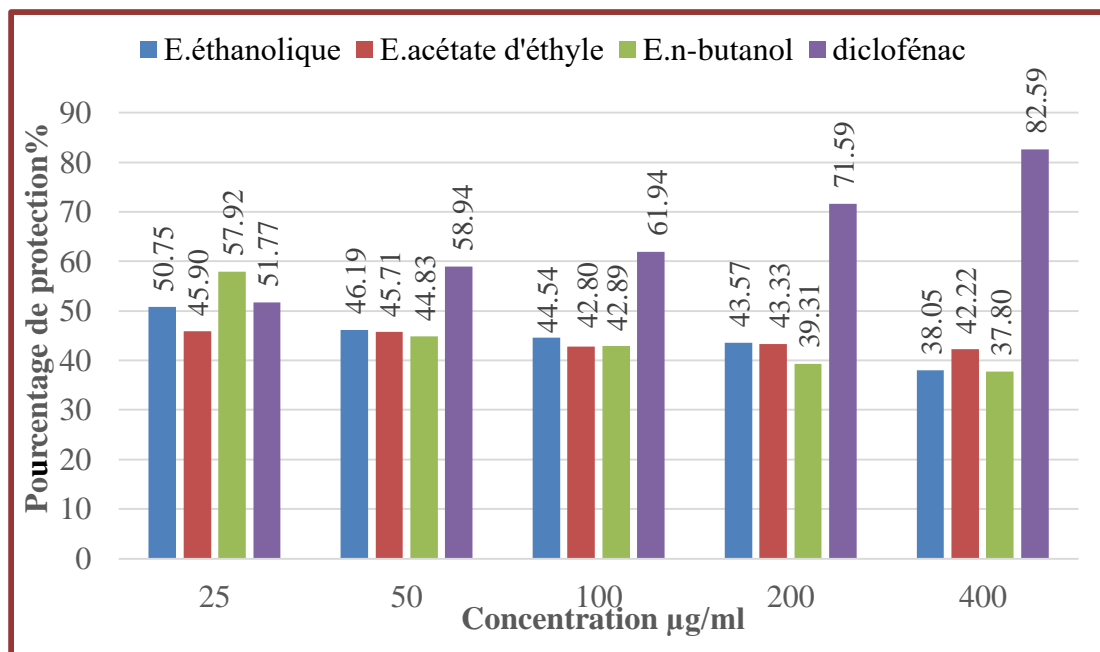


Figure 10. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par les extraits de plante de *L. antineae* (E. éthanolique, E. acétate d'éthyle, E. n-butanol, Dic).

Selon les résultats représentés dans la figure 10, on constate que l'effet anti dénaturant des extraits : éthanolique, acétate d'éthyle, n-butanol de l'espèce *L. antineae* est inversement proportionnel à la concentration.

Les pourcentages d'inhibition les plus élevés sont : 50.75% et 45.90% et 57.92 % des extraits éthanolique, acétate d'éthyle, n-butanol respectivement est obtenu avec la concentration la plus faible 25 µg/ml.

Tandis que avec le standard utilisé diclofénac, on remarque qu'il y a une relation proportionnelle avec la concentration, les pourcentages d'inhibition sont représentés dans la figure 10 d'environ 52% à la concentration 25µg/ml et 64% à des concentrations variant de 50 à 200 µg/ ml et un pourcentage maximal d'environ de 83 % à la concentration 400 µg/ ml.

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est obtenu avec la concentration la plus faible 25 µg/ml. Ces résultats sont aussi retrouvés par Williams *et al.* (2008) sur l'activité anti dénaturante des composés naturels isolés à partir des plantes qui montre qu'il y a une relation inversement proportionnelle entre la concentration d'extraits et le pourcentage d'inhibition qui est plus important lorsque la concentration est faible.

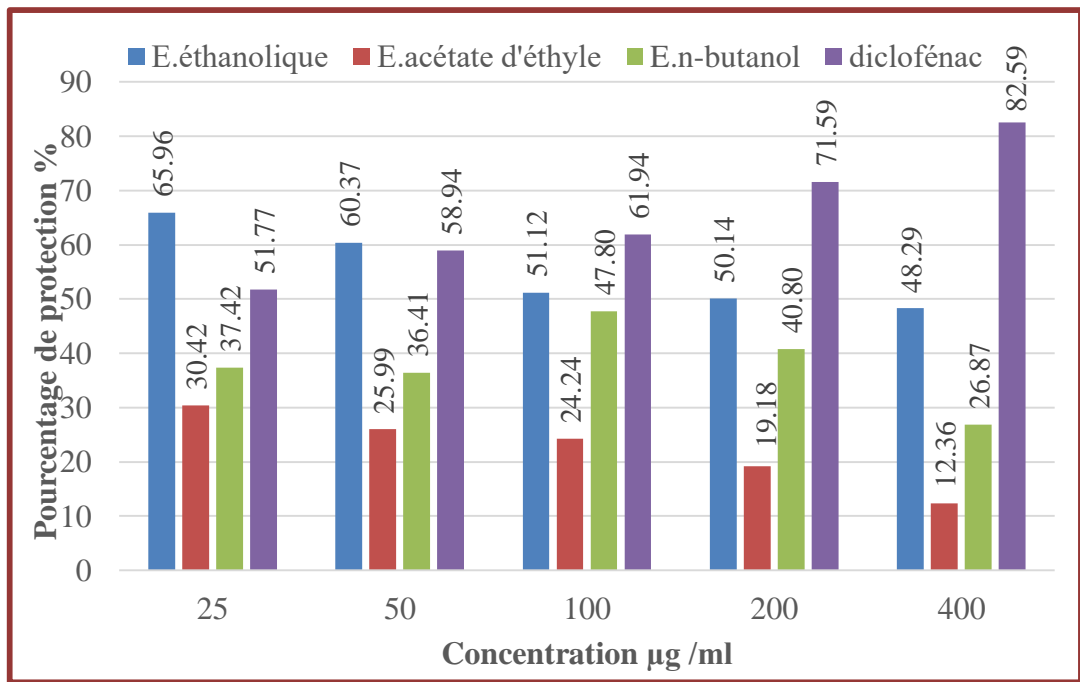


Figure 11. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation par le BSA par les extraits de *T. algeriensis* (E. éthanolique, E. acétate d'éthyle, E. n-butanol, Dic).

Concernant les résultats représentés dans la figure 11, on constate que l'effet anti dénaturant des extraits : éthanolique, acétate d'éthyle, n-butanol de l'espèce *T. algeriensis* est inversement proportionnel à la concentration.

Vu les résultats obtenus de l'histogramme, nous constatons que l'activité anti dénaturante des extraits : éthanolique, acétate d'éthyle, n-butanol avec les concentrations faibles ont un pourcentage de protection le plus élevée ceci s'explique par le fait que ces extraits ont une activité d'inhibition de la dénaturation par le BSA.

Les pourcentages d'inhibition les plus élevés sont : 65.96% et 30.42% des extraits éthanolique, acétate d'éthyle respectivement sont obtenus avec la concentration la plus faible 25 µg/ml mais le n-butanol est à 47.80 % avec la concentration de 100 µg/ml. Tandis que avec le standard utilisé diclofénac on remarque qu'il y a une relation proportionnel avec la concentration, les pourcentages d'inhibition sont représentés dans la figure 11 d'environ 52% à la concentration 25µg/ml et 64% a des concentrations variant de 50 à 200 µg/ ml et un pourcentage maximal d'environ de 83 % à la concentration 400 µg/ ml. L'activité anti dénaturante des extraits pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines exp : albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (Williams *et al.*, 2002 in Duganath *et al.*, 2010). Lu et ses collaborateurs (2008) ont rapportés que

les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques (Lu *et al.*, 2008 in Duganath *et al.*, 2010).

4.2.2. Résultats de l'Activité anti-hémolytique

Vu les similitudes existant entre la membrane érythrocytaire et la membrane lysosomale, l'effet de l'extrait sur la stabilisation des hématies pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosomale. Cette stabilisation est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux (Kumar *et al.*, 2011).

4.2.2.1. Résultats de l'activité anti hémolytique induite par solution hypotonique

Pour l'espèce *P. amboinicus* les résultats obtenus dans ce volet sont présentés dans la figure 12 et expriment le pourcentage de protection vis-à-vis de l'hémolyse induite par hypotonicité en fonction des concentrations en extrait. Nous notons une relation proportionnelle entre la concentration en extrait et le pourcentage de protection pour toutes les concentrations utilisées et pour les deux extraits éthanolique et aqueux et le standard.

On remarque que l'effet protecteur maximal est enregistré à une concentration de 500 µg/ml. L'extrait éthanolique montre une activité anti-hémolytique significative qui égale 68.20%, en le comparant au standard qui est de valeur 77.11%. L'extrait éthanolique de *P. amboinicus* a une activité anti hémolytique significative par rapport à l'extrait aqueux de la même plante, et qui égale à 60.60% à la même concentration 500 µg/ml. Ces données indiquent donc un effet protecteur relativement important de l'extrait vis-à-vis de l'hémolyse induite par les solutions hypotoniques.

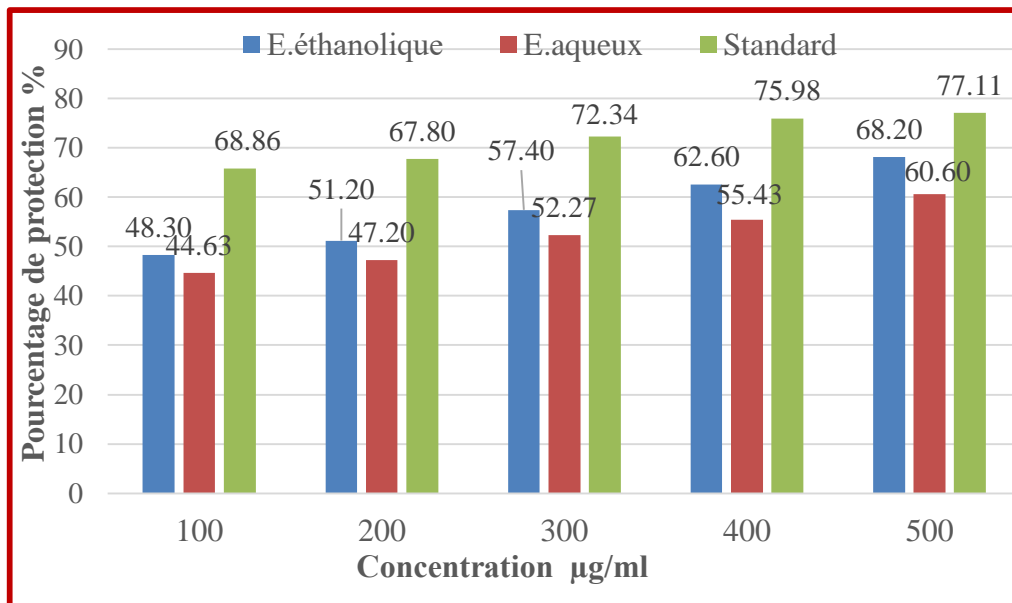


Figure 12. Histogramme illustrant l'effet de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de *P. amboinicus*.

Les résultats coïncident avec les résultats obtenus par Ramchoun *et al.* (2015) qui a été réalisée sur les différents extraits : polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux de la plante *Thymus satureioides*. L'activité anti-hémolytique a été induite par le AAPH et cela nous a montré qu'il y a une relation proportionnelle entre la concentration en extrait et le pourcentage de protection de l'hémolyse.

En les comparant avec les résultats obtenus de la plante *P. amboinicus* on trouve que les extraits de polyphénols et flavonoïdes totaux de la plante *Thymus satureioides* ont enregistré une protection contre l'hémolyse avec un taux de protection plus importante qui atteint $395.00 \pm 26.86\%$ et $225.00 \pm 13.26\%$ avec la concentration la plus élevée 10 mg/ml.

Selon une étude par le profil HPLC des extraits riches en polyphénols de *T. satureioides* il a été constaté que cette plante contient de l'acide rosmarinique qui est le principal composé phénolique qui peut être probablement impliqué dans les activités pharmacologiques.

Concernant la deuxième espèce *R. eriocalyx*, nous observons que les extraits méthanoliques et aqueux de cette espèce présentent un pourcentage de protections contre l'hémolyse significatif $p < 0.001$. Ceci est confirmé par le pourcentage élevé d'inhibition de l'hémolyse marqué pour les doses de 10 à 500 µg/ml, représenté dans

la courbe de la figure 13, qui est entre 90% à 100%, et qui atteint son maximum 100% dans la plus faible concentration (Wafa et Sofiane, 2020).

Cependant le standard diclofénac montre un pourcentage de protection contre l'hémolyse inférieur à celui des extraits testés et qui est environ de 90% à la concentration la plus élevée de 500 $\mu\text{g/ml}$. Ce standard présente une élévation dans le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse avec la concentration, donc une relation proportionnelle avec l'augmentation de la concentration.

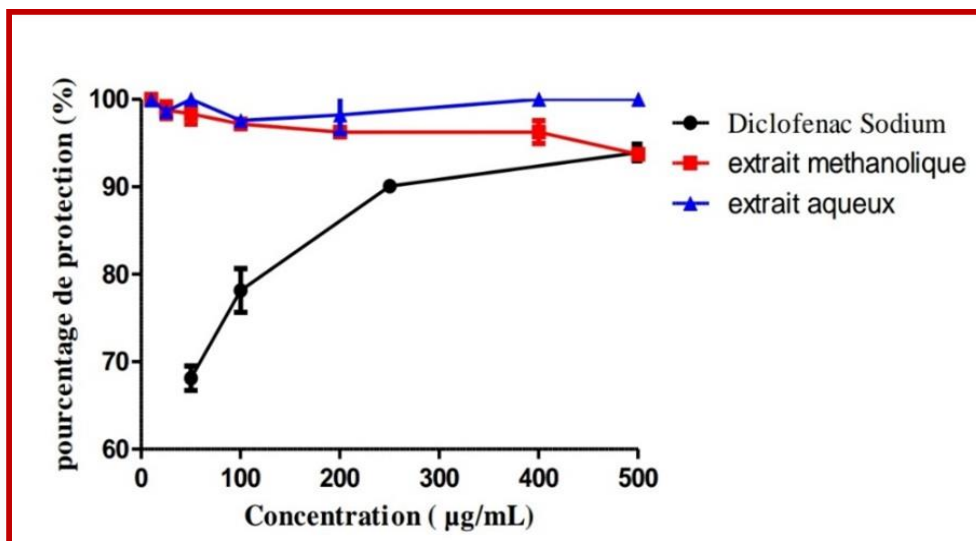


Figure 13. Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de l'extrait aqueux et méthanolique de la plante *R. eriocalyx*.

Les résultats obtenus coïncident avec les résultats d'autres travaux qui sont faites sur d'autres genres de plantes. Ainsi, Cardia *et al.* (2018) ont montré dans leur test anti-inflammatoire sur l'oreille de la souris en provoquant un œdème auriculaire par l'huile de croton, que le prétraitement par l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* a un effet anti-inflammatoire important qui atteint son maximum (59.60 %) à la concentration la plus faible (0.25 mg/oreille), ceci est également confirmé par leur évaluation de la production de NO dans les sections d'oreille après pénétration de l'huile de croton, nous trouvons que le prétraitement par l'huile essentielle de *L. angustifolia* a donné un taux d'effet anti-inflammatoire puissant qui varie de 80 à 80.30% à des concentrations de 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5 et 5.0 mg/oreille.

Pour la troisième espèce *M. piperita* L. et d'après les résultats obtenus et mentionnés dans le tableau 3, nous observons une relation inversement proportionnelle

entre la concentration d'huile essentielle de *M. piperita* L. et le diclofénac et le taux de protection de la membrane des érythrocytes où nous avons remarqué à la plus grande concentration d'huile essentielle (6 mg/ml) un taux d'inhibition d'hémolyse le plus faible qui égale à 35.38 ± 4.86 %.

Cependant nous avons trouvé qu'un taux d'inhibition de l'hémolyse significatif qui arrive à un pourcentage de 91.02 ± 1.03 % à la concentration 3 mg/ml, ce taux de protection contre l'hémolyse, continue d'augmenter à des faibles concentrations jusqu'à ce qu'il atteigne le pourcentage le plus élevé qui égale à 92.25 ± 0.20 % à la concentration 0.4 mg/ml. Ce qu'est comparable avec les résultats obtenus pour le standard diclofénac qui a montré un taux d'inhibition d'hémolyse le plus élevé (92.91 ± 0.22 %) à la plus faible concentration 0.003 mg/ml.

Tableau 3. Pourcentage de l'effet des huiles essentielles de *M. Piperita* L. sur la protection de la membrane des érythrocytes contre l'hémolyse.

Les échantillons	Concentration (mg/ml)	Absorbance (560 nm)	Pourcentage de protection de la membrane des érythrocytes	IC50 (mg/ml)
Control (PBS)		0.568	-	-
Test avec l'huile essentielle de <i>M. piperita</i> L.	6	0.367	35.38 ± 4.86	4.64 ± 2.21
	3	0.051	91.02 ± 1.03	
	1.5	0.044	92.25 ± 0.50	
	0.8	0.041	92.78 ± 0.10	
	0.4	0.044	92.25 ± 0.20	
Control positif (Dic)	30	0.460	19.01 ± 12.70	1.19 ± 0.73
	3	0.411	27.55 ± 3.35	
	0.3	0.045	92.16 ± 0.41	
	0.03	0.041	92.69 ± 0.22	
	0.003	0.040	92.91 ± 0.22	

Ces résultats se coïncident à ceux trouvés par Li *et al.* (2017), nous observons que leur extrait éthanolique MPE de *M. piperita* L. a montré le plus fort effet anti-

inflammatoire qui est évalué à partir de l'effet de MPE sur la production des médiateurs pro-inflammatoires par les lignées cellulaires de macrophage murins RAW 264.7 traitées par les lipopolysaccharides LPS dans les faibles concentrations 5µg/ml de l'extrait.

Il a été démontré que l'incorporation des composés phénoliques notamment les flavonoïdes dans la membrane des érythrocytes améliore la stabilité de ces dernières contre la lyse hypotonique. Cette propriété peut s'expliquer par l'augmentation du rapport volume/ surface des cellules qui pourrait être obtenu soit par l'expansion de la membrane ou le rétrécissement de la cellule. De plus, la déformabilité et le volume cellulaire des érythrocytes sont étroitement liés au contenu intracellulaire en calcium. Par conséquent, nous pouvons penser que l'effet protecteur de l'extrait serait dû à la capacité de ce dernier à modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes (Chopade *et al.*, 2012).

Ces extraits inhibent la lyse de la membrane des érythrocytes qui est similaire à la membrane des lysosomes, à cause de la présence des alcaloïdes, des polyphénols et des composés comme les tanins qui entrent dans la stabilisation de la membrane lysosomale par la formation des liaisons avec des cations divalents comme Ca⁺² et Mg⁺². (Oyedapo *et al.*, 2010 ; Chandra *et al.*, 2012).

4.2.2.2. Résultats d'activité anti hémolytique induite par chaleur

D'après Gershfeld et Murayama (1988), les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la perturbation de leurs membranes diminue leur capacité de résister à l'hémolyse. L'effet protecteur contre la lyse érythrocytaire induite par la chaleur peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation (Lepock *et al.*, 1989).

Concernant l'hémolyse induite par chaleur testée sur l'espèce *Anisomeles malabarica* R.Br.Ex Sims, et d'après les résultats obtenus qui sont montrés dans le tableau 4, nous observons que l'extrait méthanolique a donné le taux le plus élevé de protection contre l'hémolyse qui égale à 79.72% pour les feuilles et 94.87% pour les fleurs, et qui est supérieur même au taux de standard qui égale à 78.09% pour les deux parties feuilles et fleurs, suivi par l'extrait de chloroforme (70.51%) pour la partie feuille, ensuite de l'extrait d'acétate d'éthyle (64.33%) de la même partie.

La différence entre ces deux derniers extraits concerne la partie fleurs de la plante dont l'extrait d'acétate d'éthyle est supérieur (89.63%) par rapport à l'extrait de chloroforme qui égale à 75.52 %.

L'extrait aqueux a montré que le taux le plus faible de protection contre l'hémolyse est égal à 40.33 % et 51.52 % pour les deux parties de la plante feuilles et fleurs respectivement.

Tableau 4. Pourcentage d'hémolyse induite par chaleur pour les deux parties feuilles et fleurs de l'espèce *A. malabarica* R. Br. Ex Sims.

Les extraits de l'espèce <i>A. malabarica</i> R.Br.Ex Sims	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse	
	Feuilles	Fleurs
Extrait aqueux	40.33 %	51.52 %
Extrait méthanolique	79.72 %	94.87 %
Extrait de chloroforme	70.51 %	75.52 %
Extrait d'acétate d'éthyle	64.33 %	89.63 %

D'après ces résultats on peut révéler que l'extrait méthanolique de cette plante a donné un taux de protection contre l'inflammation plus efficace et élevé à celui de dichlorométhane de *salvia connivens* qui égale à $60.55 \pm 1.8\%$. Cela est montré dans les résultats du test anti-inflammatoire de DESC obtenus par Gonzalez-Chavez *et al.* (2017), par provocation d'œdèmes de l'oreille de la souris par TPA.

Conclusion

Le monde végétal reste toujours une source très importante des principes actifs dotés de diverses propriétés thérapeutiques, dont l'utilisation médicale des extraits aromatiques des plantes ou huiles essentielle occupe une place de plus en plus importante et cela pour leurs nombreuses propriétés médicinales.

L'objectif assigné de cette étude était l'estimation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae* et d'autres espèces qui sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies.

Dans ce travail, nous avons tout d'abord abordé les différentes connaissances bibliographiques sur six espèces lamiacées : *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha piperita* L. Par la suite nous allons procéder à des tests ; pour se faire les extraits de *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis* ont été mis en évidence par l'évaluation de leur effet protecteur contre la dénaturation thermique de l'albumine et les autres quatre plantes pour l'évaluation de leurs effets protecteurs contre l'hémolyse.

Dans un premier temps, les deux premières espèces étant pour l'inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine qui a été estimée aux pourcentages d'inhibition efficace les plus élevés des extraits de 57.92% butanolique et 65.96% éthanolique obtenu avec la concentration la plus faible 25 µg/ml des plantes *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae* respectivement.

Dans un second volet de notre étude, nous avons testé l'activité anti-hémolytique des extraits de quatre espèces : *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha piperita* L., avec le sang humain par deux méthodes (l'hémolyse induite par solution hypotonique et par la chaleur) et cela a été relevé à différentes concentrations en extraits. Cette étude a montré qu'il y a une relation proportionnelle avec l'augmentation de la concentration d'extrait de plantes, et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse pour les trois plantes : *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*.

Pour ce qui est de la plante *Mentha* les résultats montrent que l'extrait possède un effet protecteur inversement proportionnel vis-à-vis de l'hémolyse induite par un stress hypotonique ($92.25 \pm 0.20\%$) à la concentration la plus faible 0.4mg/ml.

Cette constatation nous démontre que les différents extraits expriment une inhibition efficace de la dénaturation thermique de l'albumine et provoque un effet stabilisateur de la membrane des globules rouges et pourrait avoir donc le même potentiel vis-à-vis de la membrane lysosomale dont le contenu est réputé pour être impliqué dans l'inflammation. A cet effet, ces résultats vont permettre d'ouvrir de larges perspectives pour d'autres études :

- Détermination de molécules bioactives responsables de l'activité anti-inflammatoire.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des molécules bioactives en étudiant la toxicité.
- Détermination de mécanisme des molécules bioactives et leur mode d'action.
- Evaluation d'autres activités biologiques antibactériennes, antioxydantes ...etc.

Références

Bibliographique

A

Abadlia M et Chebbour A.H (2014). Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de master, Université de Constantine 1. 33 pages.

Abderrazak M., Joel R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, p. 177.

Aluri R.J.S. (1992). The mint genus *Anisomeles* (Lamiaceae). Proc Indian Natn Sci Acad. B, 58:387-394.

Arnold N., Valentini M., Bellomaria B., Hocine, L. (1997). Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr . from Algeria and

R. officinalis L. from other countries. Journal of Essential Oil Research, 9:167-175.

Arnold N., Valentini G.,Bellomaria B.(1997). Journal of essential oil Research. vol.9, p.167-175.

Arthur O. (2009).The encyclopedie of herbs: a comprehension reference to herbe of flavor, 2éme édition p. 604.

B

Barton G.M. (2008). A calculated reponse:control of inflammation by the innate immune system.J Clin Invest,118:413-420.

Barton G.M. (2008). A calculated response: Control of inflammation by the innate immune system. Journal of Clinical Investigation, 118(2): 413–420.

Baud., Olivier., Gressens., Pierre. (2009). Voie de signalisation Sonic Hedgehog et impact des glucocorticoïdes sur le cerveau en développement. Medecine/sciences Vol. 25:8-9.

Bazylko A. et Strzelecka H. (2007). A HPTLC densitometry determination of lutéoline in *Thymus vulgaris* and its extracts. Fitoterapia., 78 : 391-395.

Benbelaïd F., Khadir A., Bendahou M., Zenati F., Bellahsene C., Muselli A., Costa J. (2016). Antimicrobial activity of *Rosmarinus eriocalyx* essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria. Journal of Coastal Life Medicine: 439–44.

- Bendeddouche M.S., Benhassaini H., Hazem Z., Romane A.** (2011). Essential oil analysis and antibacterial activity of *Rosmarinus tournefortii* from Algeria. *Natural Product Communications*, 6:1511–1514.
- Beloued A.** (2005). *Plantes médicinales d’Algérie*. Office des publications universitaires. Alger, 206 p.
- Beuze Renee,** *La sante par les plantes*, Ed.desomaux-1973.
- Benayad N,** (2008). Les huiles essentielles extraite par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées .Thèse de doctorat, université Mohammed V– Agdal de Rabat, 13-30 p.
- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A.** (2008). Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*.145:209-228.
- Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, Skali N.S And Abrini J,** 2006. *Thymus* essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities- Congrès International de Biochimie. Agadir; Vol.09. p.12.
- Boiteau.** (2019). *Dictionnaires des noms Malgaches des végétaux*.p.32.
- Boivin D; Blanchette M; Barrette S; Moghrabi A; Beliveau R.**(2007). Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NFkappaB by edible berry juice. *Anticancer Res* ,27:937-48.
- Bouharb J.** *Appl. Biosci.* (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du zerhoun pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of applied Bioscience*.78:6685- 6693.
- Bouhlali et al.** (2016). *In vitro* Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*,6 (05):156-162.
- Boumediou A et Addoun S.** (2017). Etude ethnobotanique sur l’usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d’études pour l’obtention du diplôme de docteur en pharmacie ,Université Abou Bakr Belkaid-Telemcen.64 p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition, lavoisier. Paris , p. 1504.

C

Cardia G. F. E., Silva-Filho S. E., Silva E. L., Uchida N. S., Cavalcante H. A. O., Cassarotti L. L., Salvadego V. E. C., Spironello R. A., Bersani-Amado C. A., et Cuman R. K. N. (2018). Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on Acute Inflammatory Response. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018:1-10.

Calsamiglia S.B.M. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 90: 2580-2595.

Cavero S., Jaime L., Martin-Alvarez P. J., Senorans F. J., Reglero G., Ibanez E. (2005). In vitro antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). European Food Research and Technology, n.221:478-486.

Cheung S., Tai J. (2007). Anti-proliferative and antioxidant properties of rosmariny *Rosmarinus officinalis*. Oncology reports. 17(6):1525-1531.

Cheynier V.(2005). polyphénols in foods are more complex than often thought.The American journal of clinical nutrition,81(1):223-229.

Chialva F., Ariozi A., Decastri D., Manitto P., Clementi S., Bonelli D.(1993). Chemometric investigation on Italian peppermint oils. J Agric Food Chem 41: 2028-2033.

Chialva F., Ariozi A., Decastri D., Manitto P., Clementi S., & Bonelli D. (1993). Chemometric Investigation on Italian Peppermint Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11):2028–2033.

Choudhary N, Bijjem K.R and Kalia A.N (2011) Anti-epileptic potential of flavonoids fraction from the leaves of *Anisomeles malabarica*. J Ethnopharmacol. 135(2):238-242.

Chopade A.R., Sontakke P.M., Sayyad F.J. (2012). Membrane stabilising activity and protein denaturation: A Possible Mechanism of Action for the Anti-inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus*. Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University, 1(1):67-72.

Chopra R.N., Nayar S.L and Chopra I.C. (1956). Glossary Indian Medicinal Plants of Scientific and Industrial Research, New Delhi. 19 p.

Cook N.C and Samman S. (1996). flavonoids, Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. The journal of Nutritional Biochemistry .7(2):66-76.

Costa P., Gonçalves S., Andrade PB., Valentão P., Romanoa A. (2011). Inhibitory effect of *Lavandula viridis* on Fe²⁺- induced lipid peroxidation, antioxidant and anti-cholinesterase properties. Food Chem;126:1779-1786.

D

Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T. (2005). Activité antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. mémoire de l'université de Burkina Faso.7-10 p.

Denis M.C., Furtos A., Dudonne S., Montoudis A., Garofalo C., Desjardins Y et al. (2013). Apple peel polyphenols and their beneficial actions on oxidative stress and inflammation.Plos One ;8:53-72.

Devi K.N., Periyannayagam K. (2010). *In Vitro* Anti Inflammatory Activity of *Plectranthus Amboinicus* (Lour) Spreng By Hrbc Membrane Stabilization. International Journal of Pharmaceutical Studies and Research E, I(I): 26-29.

E

Eder B., Walmir S.G., Lidilhone H., Caroline T., Fernanda R.G. (2008). Bioactive Pentacyclic triterpenes of the stems of *Combrertum laxum*.Molecules.13:2717-2728.

F

Falleh H et al. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies 331: 372-379.

François C., 2012. Les plantes et leurs noms. Histoire insolites. p. 152

Frantisek S., V. J. (1973). Plantes médicinales. Atlas illustré.p.53.

G

Gandhidasan R., Thamarachelvan A., Baburaj S. (1991). Anti inflammatory action of *Lannea coromandelica* by HRBC membrane stabilization. Fitoterapia;Voll LXII; No1:81-83.

Gershfeld N.L. et Murayama M. (1988). Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: Temperature dependance of hemolysis.Journal of Membrane Biology; 101(1):67-72.

Gherman C, Culea M, Cozar O, 2000. Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS- Talanta; Vol. 53:253-262.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2 éme Ed Techniques et documentation. Paris, p. 275.

Gonzalez-Trujano M. E., Pena E. I., Martinez A. L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M., & Lopez-Munoz F. J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L.using three different experimental models in rodents. Journal of Ethnopharmacology, 111(3) :476–482

Gonzalez A.G et Estevez-Brauna A. (1997). Coumarins, Natural Product Research. 14:465-475.

Gonzalez-Chavez M. M., Ramos-Velazquez C.S., Serrano-Vega R., Perez-Gonzalez C., Sanchez-Mendoza E., & Perez-Gutierrez S. (2017). Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. Pharmaceutical Biology, 55(1):1467–1472.

H

Hans W.K.(2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition,p. 54

Harborne J.B. (1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition Hayes, J. R., Stavanja, M. S. and Lawrence, B. M., 2006. *Mentha*: Biological and toxicological properties of mint oils and their major isolates: safety assessment. In B. M.vol.51:375-382.

Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13(10):572-584.

Heinrich M., Kufer J., Leonti M., & Pardo-de-Santayana M. (2006). Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(2) :157–160.

Hilan, C., Sfeir, R. (2006). Huiles Essentielles De Certaines Plantes Médicinales Libanaises De La Famille Des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal*, 7(2):13-22.

I

Ibanez E., Cifuentes A., Crego A. L., Senorans F. J., Cavero S., Reglero G., 2000. Combined use of supercritical fluid extraction: Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol.48 (9):4060-4065.

J

Jeyachandran R; Mahesh A., Cindrella L (2007). *Int J Can Res*: 3(4):174-179.

Jordan A., Fourreau J.P. (1866). *Breviarium Plantarum Novarum fasc. I*, p. 44.

Joshi S.G. (2000). *Medicinal Plants*. Mohan Pramlonefor Oxfordand IBH Publishing Co Pvt.Ltd. NewDelhi. India.222 p.

K

Kada S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués.Thèse de doctorat,université Ferhat Abbas Sétif 1,Algérie,01 p.

Kandikattu K et al. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by *in-vitro* method. 1(5):729-730.

Karthik K., Kumar B.R.P., Priya V.R., Kumar S.K. et Rathore R.S.B. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by *in vitro* method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* :2320-3471.

Kehili S., Boukhatem M.N., Belkadi A., Ferhat M.A. (2020). Peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil as a potent anti-inflammatory, wound healing and anti-nociceptive drug. *European Journal of Biological Research*, 10(2):132–149.

Khanbabae K., Ree T.R. (2001). Tannins: Classification and definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18:641-649.

Khenaka K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine, diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine, 81 pages.

Kholkhal F. (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse de doctorat, université abou Bekr Belkaid - Tlemcen, 73 p.

Kim H.P et al. (1996). Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci*, 2(1), p. 18.

Kim H.P et al. (1998). Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58(1) :17-24.

Kovar K. A., Gropper B., Friess D., Ammon H. P. T. (1987). *Planta Medical*, n.53, 315 p.

Kumar V., Bhat Z.A., Kumar D., Bohra P. et Sheela S. (2011). *In vitro* anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Basella alba* Linn. Var. Alba; *International Journal of Drug Development & Research*. 3(2):176-179.

L

Lakic N., Mimica-Dukic N., Isak J., Bozin B. (2010). Antioxidant properties of *Galium verum* L. (Rubiaceae) extracts. *Open Life Sciences*, 5(3):331-337.

Langenheim JH. (1994). Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*. 20:1223-1280.

Lepock J., Frey H.E., Bayne H.E. et Markus J. (1989). Relationship of hyperthermia-induced hemolysis of human erythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*; 980(2):191-201.

Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. (1996). Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). Brazilian journal of medical and biological research. 29(2): 223-227.

Li Y. X., Liu Y. B., Ma A. Q., Bao Y., Wang M., et Sun Z. L. (2017). *In vitro* antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. Food Science and Biotechnology, 26(6):1675–1683.

Lochab, B., Shukla, S., Varma, I. K. (2014). Naturally occurring phenolic sources: Monomers and polymers. RSC Advances, 4(42):21712–21752.

Louered Y., Haddi R., Harche M.K. (2016). Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scoparium* POMEL .Journal of Bioresources Valorization 1(1) :28-34.

Lu et al.(2008) in Duganath N., Rubesh Kumar S., Kumanan R et Jayaveera K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. International Journal of Pharma and Bio Sciences,1(2):1-7.

M

Maleeky M., Enjalbert F., Feinberg M. (2007). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris.

Manthey J.M. (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. microcirc 7:28-34.

Mekkiou R et benayache F. (2005). Recherche et détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de doctorat, université Mentouri- Constantine.09 p.

Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. (2008). Botanique : biologie et physiologie végétales. 2^{ème} Edition Maloine . Paris, p.14-15.

Meziti H. (2009). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Mémoire de Magister. Setif , Universite Farhat Abbas, 85.

Middleton E.J.R et al. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*, 52 :673-751.

Moualek I., Iranti Aiche G., Mestar Guechaoui N., Lahcene S.et Houali K. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11):937–944.

Muster D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1: 21–29.

N

Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A, 2000. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian. *Journal of Pharmaceutical Research*; Vol. 2. 63-79 p.

Nathan C. (2002). Point of control in inflammation. *Nature* 4(20):846-852.

O

Omulokoli E.K. B. (2000). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 56 :133-137.

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*, 10:286-292.

Ozenda P. (2004). Flore et végétation des Sahara. 3ème édition, CNRS, Paris, p. 662.

P

Paris M., Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicinale. *Pharmacognosie*. Tome 1. Masson paris. vol.56(8):1426-1430.

Predrag L, Hui S, Uri C, Hassan A, Arie B. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2):198-204.

Pernet M. (1957). *Pharmacopée de Madagascar, Tananarive-Tsimbazaza: Institut de recherche scientifique*, 86 p.

Q

Quezel P et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : C.N.R.S.p 786.

Quezel P et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed Centre National de la recherche scientifique.

R

Ramchoun M., Sellam K., Harnafi H., Alem C., Benlyas M., Khallouki F., et Amrani S. (2015). Investigation of antioxidant and anti-hemolytic properties of *Thymus satureioides* collected from Tafilalet Region, south-east of Morocco. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 5(2):93–100.

Ramirez P., Señoráns F. J., Ibanez E., Reglero G. (2004). Separation of Rosemary antioxidants compounds by supercritical fluid chromatography on coated packed capillary columns. Journal of Chromatography. n.1057:241-245.

Rathisre P. R., Mohan, R et Murugesan, K. (2013). *In-vitro* Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of Erythrina Indica Lam. International Journal of Research in Chemistry and Environment, 3(4):48-51.

Regnult JP. (1992). Immunologie générale. 5^{ème} édition Decarie.P 278-296.

Richard D., Giraud N, Pradere F, Soubaya T. (2010). Biologie : Les métabolites secondaires des végétaux. Duonod, Paris. p. 192-193.

S

Sakat S., Juvekar AR., Gambhire MN. I. J. Sakat S, Juvekar AR, Gambhire MN. I. J. (2010). Pharm. Sci, 2010, 2(1):146-155.

Scarpa M, Stylianou E. (2012). Epigenetics: Concepts and relevance to IBD pathogenesis. Inflamm Bowel Dis (18):1982-96.

Seema CC., Sharan SV., Srinivasa RB., Meena V. (2011). *In vitro* anti-inflammatory activity of Methanolic extract of Centella asiatica by HRBC Membrane. stabilization. Rasayan Journal of Journal of Chemistry, 4(2): 457-460.

Setty A., Sigal L. (2005). Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology : Mechanisme of action, Efficacy, and side effects. Seminars in arthritis and rheumatism, 34.pp. 773-78.

Sharma V et Manu S. (2013). *In vitro* anti-arthritic and hemolysis preventing membrane stabilising efficacy of ethanolic extract of *Operculina turpethum*. World Journal of pharmacy & Pharmaceutical Sciences; 2(1):102-112.

Sheikh M.V., Devadiga N., Hate M. (2016). An *in-vitro* anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Anisomeles malabarica*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 8(4):1062–1067.

Shinde U.A., Phadke A.S., Nari AM., Mungantiwar A.A., Dikshit V.J., Saraf M.N. (1999). Fitoterapia.70:251-257.

Silanikove N., Perevolotsky A., Provenza FD. (2001). Use of tannin- binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. animal feed Science and Technology.91(1):69-81.

Subramanian S., Stacey G., Yu O. (2007). Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. Trends plant science. 12(2):282-285.

U

Upson T., Andrews S. (2004). The genus *Lavandula*. Royal Botanic Gardens , p. 184-246.

V

Verma M., Maruvada P., Srivastava S. (2004). Epigenetics and cancer. Crit Rev Clin Lab Sci ;41:585-607.

W

Wafa N., Sofiane G. (2020). Antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of aqueous and methanolic extract of *Rosmarinus eriocalyx* Jord. & Fourr. 14(January):254–262.

Wiat C. (2006). Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific. Eds, Humana Press (Totowa).1-20 p.

Williams L.A.D et al, (2002) in Duganath N., Rubesh Kumar S., Kumanan R et

Williams L.A.D et al. (2008). The *in vitro* Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum

Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animal. The West Indian medical journal 57(4):327-31.

Y

Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L et *Laurus nobilis* L. Thèse de magister, Université el hadj lakhdar batna, 110 pages.

Yoon, J.H., Baek S.J. (2005). Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. Yonsei Medical Journal, 46(5) :585-596.

Annexes

Annexe 1 : L'extraction hydroalcoolique du matériel végétal



Figure 1. Protocole de préparation du matériel végétal (*T. algériensis* et *L. antineae*).

Annexe 2 : Fractionnement de l'extrait brut des deux plantes



Figure 2. Protocoles de fractionnement des deux extraits aqueux par les quatre solvants organiques : Hexane, Chloroforme, Acétate d'éthyle, N- butanol.

Annexe 3 : Résultat de séchage des quatre fractions : fraction d'Hexane, de Chloroforme, d'Acétate d'éthyle et de N-butanol



Figure 3. Grattage des quatre fractions obtenues après séchage par l'étuve

Annexe 4 : Préparation de tampon Tris-HCL à pH : 6.6

1.22 g de Tris-HCL dans 200 ml d'eau distillée + 0.6 g de Tris basique dans 100 ml d'eau distillée.



Figure 4. Protocole de préparation de tampon Tris-HCL.

Annexe 5 : Test de l'activité anti-dénaturante des protéines.



Figure 5. Protocole du test anti-dénaturant

Annexe 6 : Préparation de solution d'Alsevre

2g dextrose, 0.8g citrate de sodium, 0.05g d'acide citrique et 0.42g chlorure de sodium dissous dans l'eau distillée. Le volume finale est préparé jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

Annexe 7 : Préparation de solution saline hypotonique

0.36g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

Annexe 8 : Préparation de solution saline isotonique

0.85 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

Les références des articles analysés

- Cardia G. F. E., Silva-Filho S. E., Silva E. L., Uchida N. S., Cavalcante H. A. O., Cassarotti L. L., Salvadego V. E. C., Spironello R. A., Bersani-Amado C. A., & Cuman R. K. N. (2018). Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on Acute Inflammatory Response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018:1–10.
- Devi K.N., Periyannayagam K. (2010). *In Vitro* Anti Inflammatory Activity of *Plectranthus Amboinicus* (Lour) Spreng By Hrbc Membrane Stabilization. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research E*, I (I):26–29.
- Gonzalez-Chavez M. M., Ramos-Velazquez C.S., Serrano-Vega R., Perez-Gonzalez C., Sanchez-Mendoza E., & Perez-Gutierrez, S. (2017). Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. *Pharmaceutical Biology*, 55(1):1467–1472.
- Kehili S., Boukhatem M.N., Belkadi A., Ferhat M.A. (2020). Peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil as a potent anti-inflammatory, wound healing and anti-nociceptive drug. *European Journal of Biological Research*, 10(2):132–149.
- Li Y.X., Liu Y.B., Ma, A.Q., Bao Y., Wang M., & Sun Z.L. (2017). *In vitro* antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. *Food Science and Biotechnology*, 26(6):1675–1683.
- Ramchoun M., Sellam K., Harnafi H., Alem C., Benlyas M., Khallouki F., & Amrani S. (2015). Investigation of antioxidant and anti-hemolytic properties of *Thymus satureioides* collected from Tafilalet Region, south-east of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(2):93–100.
- Sheikh M.V., Devadiga N., Hate M. (2016). An *in-vitro* anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Anisomeles malabarica*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(4):1062–1067.
- Wafa N., Sofiane G. (2020). Antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of aqueous and methanolic extract of *Rosmarinus eriocalyx* Jord. & Fourr. 14(January) :254–262.

ملخص

من أجل تجنب الأدوية المضادة للالتهابات الاصطناعية واستبدالها بأخرى طبيعية، تم إجراء الكثير من الأبحاث في هذا السياق. يعتمد الهدف من هذه الرسالة على

تقييم الفعالية المضادة للالتهابات لمستخلصات نباتية مختلفة: *Rosmarinus* ، *Anisomeles malabarica* ، *Lavandula antineae* ، *Thymus algeriensis* عن طريق الاختبارات المعملية؛ تثبيط من خلال تقييم خصائصها الوقائية ضد التمسخ الحراري للألبومين BSA وضد انحلال الدم الناتج عن محلول ناقص التوتر وآخر عن طريق الحرارة. أظهرت حسابات محصول الاستخلاص لـ *L. antineae* و *T. algeriensis* أن: مستخلص البوتانول من *T. algeriensis* أعلى نسبة من جميع المستخلصات من كلا النوعين. ومع ذلك، فإن نتائج النشاط المضاد للتحويل الطبيعي لبروتينات هذين النوعين تكشف أن أعلى مستوى كان للجزء المائي من *T. algeriensis*. من ناحية أخرى، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أثناء اختبار الانحلال عن طريق نقص التوتر والحرارة للأصناف الأربعة الأخرى أن الزيت العطري لنوع *M. piperita* L. أعطى أعلى نسبة في اختبار مضاد الانحلال الناتج عن نقص التوتر، ومعدل مثير للاهتمام أظهره الجزء الميتانولي من جزء الورقة من *A. malabarica* فيما يتعلق بالاختبار المستحث بالحرارة.

الكلمات المفتاحية: *Plectranthus* ، *Rosmarinus eriocalyx* ، *Anisomeles malabarica* ، *Lavandula antineae* ، *Thymus algeriensis*

، *Mentha pipierita* L. ، *amboinicus* ، النشاط المضاد للالتهاب.

Résumé

Afin d'éviter les anti-inflammatoires synthétiques et de les remplacer par d'autres naturels plusieurs recherches ont été faits dans ce cadre. L'objectif de ce mémoire s'appuie sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de différents extraits de plantes *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L., par des tests *in vitro* ; d'inhibition par l'évaluation de leurs propriétés protectives contre la dénaturation thermique de l'albumine BSA et contre l'hémolyse induite par solution hypotonique et une autre par la chaleur. Les calculs de rendement d'extraction de *T. algeriensis* et *L. antineae* ont montré que : l'extrait butanolique de *T. algeriensis* présente le pourcentage le plus élevé par rapport à tous les extraits des deux espèces. Cependant les résultats de l'activité anti-dénaturante des protéines de ces deux espèces révèlent que le taux le plus élevé était celui de la fraction aqueuse de *T. algeriensis*. En revanche, les résultats obtenus lors du test anti hémolytique par hypotonicité et par chaleur des quatre autres espèces ont marqué que l'huile essentielle de l'espèce *M. piperita* L. a donné le plus fort pourcentage dans le test anti hémolytique induit par hypotonicité, et un taux intéressant présenté par la fraction méthanolique de la partie feuille de la plante *A. malabarica* concernant le test induit par chaleur.

Mots clés : *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus*

Amboinicus, *Mentha pipierita* L., activité anti-inflammatoire.

Abstract

In order to avoid synthetic anti-inflammatory drugs and to replace them by other natural ones, several researches have been made in this context. The objective of this thesis is based on the evaluation of the anti-inflammatory activity of different plant extracts: *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L., by *in vitro* tests; inhibition by evaluating their protective properties against thermal denaturation of albumin BSA and against hemolysis induced by hypotonic solution and another by heat. Calculations of the extraction yield of *T. algeriensis* and *L. antineae* showed that the butanolic extract of *T. algeriensis* has the highest percentage compared to all the extracts of the two species. However, the results of the anti-denaturing activity of the proteins of these two species revealed that the highest level was that of the aqueous fraction of *T. algeriensis*. On the other hand, the results obtained in the anti-hemolytic test by hypotonicity and by heat of the four other species showed that the essential oil of the *M. piperita* L. species gave the highest percentage in the anti-hemolytic test induced by hypotonicity, and an interesting rate presented by the methanolic fraction of the leaf part of *A. malabarica* concerning the test induced by heat.

Key words: *Thymus algeriensis*, *Lavandula antineae*, *Anisomeles malabarica*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Plectranthus amboinicus*, *Mentha pipierita* L., anti-inflammatory activity.