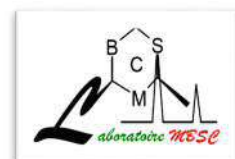




République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique.

UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologiques



## THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Ès Sciences  
Spécialité : Sciences Biologiques  
Option : Biochimie

N° d'enregistrement :  
...../...../...../...../.....

Présentée par

M<sup>lle</sup> SEDDIKI LAMIA SALIMA

**Etude des activités anti-inflammatoire et analgésique  
de deux plantes :**

***Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis***

Soutenue publiquement le : 07/12 /2021

Devant le jury composé de :

Président	Pr. KEMASSI ABDELLAH	Université de K.Merbah-Ouargla
Examineurs	Pr. BOUAL ZAKARIA	Université K.Merbah- Ouargla
Examineurs	Pr. BERROUKCHE ABDELKRIM	Université de T.Moulay-Saida
Examineurs	Pr. HASNAOUI OKACHA	Université de T.Moulay-Saida
Directeur de thèse	Pr. BELBOUKHARI NASSER	Université T.Mohamed-Béchar
Co-Directeur	Pr. AMINATA OULD EL HADJ- KHELIL	Université K.Merbah- Ouargla

Année universitaire : 2020/2021

## Dédicaces

*Ce travail est dédié à mes parents et toutes ma famille qui m'a  
soutenue lors de sa réalisation*

## Remerciements

Tous mes remerciements vont d'abord à notre DIEU le tout puissant, pour m'avoir donnée la patience et la force

فَاللّٰهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ كَمَا يَنْبَغِي لِجَلَالِ وَجْهِكَ وَعَظِيْمِ سُلْطٰنٰتِكَ

Je tiens à remercier profondément mon superviseur, **Professeur Belboukhari Nasser**, pour ses conseils enrichissants, son vif intérêt, ses encouragements et son soutien tout au long de mon travail doctoral.

Je tiens à remercier profondément mon Co-superviseur, **Professeure Aminata OuldEl-Hadj-Khelil** pour sa patience et son engagement, et son soutien.

Je voudrais également montrer ma gratitude pour les membres de jury le **Professeur Boual Zakaria**, **Professeur Berroukche Abdelkrim** et le **Professeur Hasnaoui Okacha** de leur volonté de lire ma thèse et de faire des critiques et des commentaires afin de l'améliorer.

Je dois mes sincères remerciements au **Professeur Chériti Abdelkerim** de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire « Phytochimie et Synthèse Organique » tout en mettant à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ma pratique, aussi pour ces conseils, son soutien, ses encouragements tout au long de mon travail doctoral.

Je tiens à remercier profondément **Professeur Mohd Ruslan Sulaiman**, directeur du laboratoire « Inflammation and Pain Group » à la faculté de Médecine et Science de Santé -Université de Putra Malaysia de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire tout en mettant à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ma pratique et de bénéficier de ses précieux conseils, de son sens critique, de sa rigueur dans le travail et de sa curiosité ce qui m'a permis d'accomplir ce travail.

Je suis également reconnaissante à tout le staff de son laboratoire « Inflammation and Pain Group » de leurs dévouement leur disponibilité.

Je ne remercierai jamais assez **Professeure Aminah Abdullah** – Faculté de Science et Technologie- de l'Université Nationale Malysienne de m'avoir accueillie dans son laboratoire et a mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour la recherche, Je la remercie pour sa confiance, son soutien et ses encouragements, Je suis également reconnaissante à tout le staff de son laboratoire.

Je ne remercierai jamais assez **Professeur Ahmed Elwathig**- Faculté de biotechnologie- de l'Université Islamique Internationale Malysienne de m'avoir accueillie dans son laboratoire et a mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour la recherche et sa disponibilité, mais surtout pour m'avoir facilité la réalisation de mon étude dans les bonnes conditions, Je le remercie pour sa confiance, son soutien et ses encouragements, et mes vifs remerciements à son staff de laboratoire.

Je tiens à remercier **Professeur Sekkoum** pour ces conseils et son aide.

Je tiens à remercier aussi tous les **membres des laboratoires ; de LPSO et MBSC** à l'université de Bechar pour leurs aides.

## المخلص

الالتهاب والألم ظاهرتان مرتبطتان بعدة أمراض؛ تستخدم النباتات كبديل لعلاجها. أظهرت نتائج الدراسة الاستقصائية الدوائي في منطقة بشار استخداماً عالياً للنباتات التابعة لعائلة نجميات في علاج مشاكل المعدة (34 %) يليها علاج أمراض الجهاز التنفسي (14.66%) على الأغلب.

أظهر استخدام كروماتوغرافيا الطور السائل إلى جانب التحليل الطيفي الكتلي (VionQToF) للكشف عن عائلة المستقلبات الثانوية في المستخلصات الميثانولية للنباتين للونيا أربوريسانس و للونيا نوديكاولس وجود: مركبات الفلافونويد والبوليفينول : كيرستين ، كامبوفول ، أبيجينين ، كاتشين ، - (-) أبيقلوكاتشين ، لوتيبول ، سيانيدين، كوكويول (كيتون) ، ، أرنيبتين (فلافون) ، جينستين (أزوفلافون) ،فيتكسين (أبيجينين فلافون) .

بينما ، أظهرت تحليلات المستقلبات الثانوية المتطايرة بواسطة GC-MS في مستخلص البوتانول من لونيا أربوريسانس وجود تربينات الأحادية و تربينات الثنائية: دليمونيل؛ حمض البالمتيك ؛ ميثيل حامض دهني ؛ حمض الأوليك ميثيل استر. أظهرت الأنشطة المضادة للالتهابات والمسكنات للمستخلصات المائية للنباتين تثبيط التواء البطن بنسبة 99% و 66% و 70% للجرعات 300 و 100 و 30 مغ للونيا نوديكاولس و 59% ، 95% ، 74% لنفس الجرعات الخاصة بـ للونيا أربوريسانس (p < 0.0001 مقارنةً بالمجموعة الشاهد

أظهر اختبار الفورمالين كفاءة متفاوتة للمستخلصات المائية للنباتين، بالنسبة للونيا نوديكاوليس تثبيط معنوي للألم بجرعة 100 مغ للمرحلة الأولى بنسبة 53%. بينما، للونيا أربوريسانس، كان انخفاض الألم ضئيلاً ب(35%). بالنسبة للمرحلة الثانية، لوحظ انخفاض التأثير الالتهابي للنباتين من 70% إلى 100% مقارنةً بالشاهد

كان عمل المستخلصات المائية على مستقبلات السيروتونين والهستامين يعتمد على الجرعة. بالنسبة للهستامين كانت الفعالية أفضل عند جرعة 300 مغ للنباتين: لونيا أربوريسانس (46%) و لونيا نوديكاوليس (45%) مقارنةً بالمجموعة الشاهد. بالنسبة للسيروتونين ، كانت الفعالية أفضل عند جرعة 30 مغ لكل من لونيا أربوريسانس (55%) لونيا نوديكاوليس (33%) مقارنةً بالمجموعة الشاهد.

فيما يتعلق باختبار الكابيسين ، أوضحت النتائج أن معدل التثبيط كان 70% للونيا أربوريسانس (100 مغ) و 51% للونيا نوديكاوليس (300 مغ) مقارنةً بالمجموعة الشاهد. من خلال هذه النتائج، أظهرت المستخلصات المائية للنباتين قدرة جيدة ضد الالتهاب والألم.

**الكلمات الأساسية:** *Launaea arborescens*؛ *Launaea nudicaulis*؛ مضاد التهاب؛ مسكن؛ السيروتونين. الهستامين، كابساييسين

## Résumé

L'inflammation et la douleur sont deux phénomènes liés à plusieurs pathologies, l'utilisation des plantes est une alternative pour en remédier.

Les résultats de l'enquête ethnopharmacologique dans la région de Bechar ont montré une forte utilisation des plantes appartenant à la famille des Asteraceae dans le traitement des problèmes gastriques (34%) et les maux respiratoires (14.66%) en générale.

L'utilisation de la chromatographie en phase liquide couplé à spectroscopie de masse (VionQToF) pour la révélation de la famille des métabolites secondaires dans les extraits méthanoliques des deux plantes (*Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*) ont montré la présence : des flavonoïdes et polyphénols : Quercétine, Kaempferol, Apéginin, Cathéchin, (-)-Epigallocatechin, Luteolin, Cyanidin, Kokuol (ketone) et Orientin (flavone), Genistin (isoflavone), Vitexin (apigénin flavone). Cependant, les analyses des métabolites secondaires volatils par GC-MS dans l'extrait butanolique de *Launaea arborescens* ont montré la présence des monoterpène et diterpène (d Limonène; acide palmitique; acide méthyl stearique; acide oléique méthyl ester .

Les activités anti-inflammatoires et analgésiques des extraits aqueux des deux plantes ont montré une inhibition de la torsion abdominale de 99%, 66%, 70% pour les doses 300, 100 et 30 mg pour *L. nudicaulis* et 59%, 95%, 74 % pour les mêmes doses respectives pour *L. arborescens* ( $p < 0,0001$ ) par rapport au témoin.

Le test de la formaline a montré aux extraits aqueux une efficacité variable pour les deux plantes, pour *L. nudicaulis* une inhibition significative de la douleur à la dose de 100 mg pour la première phase est de 53% ; Cependant, pour *L. arborescens*, une réduction de la douleur est faible (35%). Pour la deuxième phase, la réduction de l'effet inflammatoire a été constatée pour les deux plantes de 70% à 100% par rapport au témoin.

L'action d'extraits aqueux sur les récepteurs de la sérotonine et de l'histamine a été dose-dépendante. Pour l'histamine, l'efficacité était meilleure à la dose de 300 mg pour les deux plantes : *L. arborescens* (46%) et *L. nudicaulis* (45%) par rapport au témoin. Pour la sérotonine, l'efficacité était meilleure à la dose de 30 mg pour *L. arborescens* (55%) et *L. nudicaulis* (33%) par rapport au témoin.

Concernant le test de capsaïcine, les résultats ont montré que le taux d'inhibition a été de 70% pour *L. arborescens* (100 mg) et de 51% pour *L. nudicaulis* (300 mg) par rapport au témoin.

A travers ces résultats, les extraits aqueux des deux plantes ont montré un potentiel intéressant contre l'inflammation et la douleur.

**Mots clés :** *Launaea arborescens* ; *Launaea nudicaulis* ; Anti-inflammatoire ; Analgésique ; Sérotonine ; Histamine, Capsaïcine.

## Abstract

Inflammation and pain are two phenomena linked to several pathologies; the use of plants is an alternative to remedy them.

The results of the ethnopharmacological survey in the Bechar region showed a high use of plants belonging to the Asteraceae family in gastric problems (34%) followed by the treatment of respiratory ailments (14.66%) mostly.

The use of liquid chromatography coupled with mass spectroscopy for the revelation of the family of secondary metabolites "polyphenols and flavonoids" in the methanolic extracts of the two plants (*Launaea arborescens* and *Launaea nudicaulis*) had shown the presence of flavonoids: Quercetine, Kaempferol, Apegenin, Cathéchin, (-)-Epigallocatechin, Luteolin, Cyanidin, Kokuol (keton) and Orientin (flavon), Genistin (isoflavon), Vitexin (apigenin flavon). However, analyses of volatile secondary metabolites by GC-MS in butanolic extract of *L. arborescens* showed the presence of monoterpene and diterpene (d Limonene; palmitic acid; methyl stearic acid; oleic methyl ester acid.

The anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extracts of the two plants showed inhibition of abdominal writhing of 99%, 66%, 70% for doses 300, 100, and 30 mg for *L. nudicaulis* and 59%, 95%, 74% for the same respective doses for *L. arborescens*.

The formalin-induced paw licking tests showed the aqueous extracts a variable efficacy for the two plants, for *L. nudicaulis* a significant licking inhibition at the 100 mg dose for the first phase then *L. arborescens*, a reduction in licking without a significant clue. In the second phase, the reduction of the inflammatory effect was noticed for both plants. Licking is reduced without significant clue. In the second phase, reducing the inflammatory effect was observed for both plants.

The action of aqueous extracts on serotonin and histamine receptors was dose-dependent. For histamine, the efficiency was better at the 300 mg dose for the two plants: *L. arborescens* (46%) and *L. nudicaulis* (45%). For serotonin, efficiency was best at the 30 mg dose for *L. arborescens* (55%), and *L. nudicaulis* (33%).

Regarding the capsaicin test, the results showed that an inhibition rate was 70% for *L. arborescens* (100 mg) and 51% for *L. nudicaulis* (300 mg).

Through these results, the aqueous extracts of the two plants showed interesting potential against inflammation and pain.

**Key words:** *Launaea arborescens*; *Launaea nudicaulis*; Anti-inflammatory; Analgesic; Serotonin; Histamine, Capsaicin.

## Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux médiateurs de l'inflammation .....	13
Tableau 2: Différentes isoformes COX1 et COX 2 .....	23
Tableau 3: Présence des protanoïdes dans différents organes .....	25
Tableau 4: Classification des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et leurs principales actions.....	28
Tableau 5: Structure des squelettes des composés phénoliques et polyphénoliques (groupes hydroxyle non représentés).....	34
Tableau 6: Structure de base des anthocyanidines et ses substituants.....	40
Tableau 7: Classification des familles d'alcaloïde.....	46
Tableau 8: Récapitulatif des métabolites secondaires de <i>Launaea nudicaulis</i> .....	49
Tableau 9: Récapitulatif des métabolites secondaires de <i>Launaea arborescens</i> .....	51
Tableau 10: Liste de quelques astéracées médicinales de la région de Béchar et leurs noms vernaculaires et scientifique.....	60
Tableau 11: Paramètre du gradient de la préparation de la phase mobile.....	63
Tableau 12: Paramètre d'opération d'analyseur Vion IMS QToF .....	63
Tableau 13: Plantes astéracées les plus utilisées et leurs usages médicinaux local .....	75
Tableau 14: Rendements des extraits de <i>Launaea arborescens</i> et de <i>Launaea nudicaulis</i> ....	78
Tableau 15: Criblage phytochimique l'extrait aqueux des deux plantes .....	79
Tableau 16: Identification des phénols et des flavonoïdes en commun dans <i>L. arborescens</i> et <i>L. nudicaulis</i> via LC-MS-QTOF :.....	82
Tableau 17: Identification des phénols et des flavonoïdes spécifiques pour chaque plante .	84
Tableau 18: Analyse de chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse de l'extrait butanolique de <i>Launaea arborescens</i> .....	86



## Liste des figures

Figure 1: Représentation de la réaction inflammatoire .....	7
Figure 2: Voies de la transmission de la douleur .....	17
Figure 3: Différents types de la douleur.....	20
Figure 4: Schémas résume la synthèse des prostaglandines via les enzymes cyclooxygénases. .....	24
Figure 5: Squelette de base pour les flavonoïdes.....	36
Figure 6: Autres groupes de flavonoïdes, qui sont quantitativement des composants mineurs dans les plantes .....	37
Figure 7: Structures de quelques exemples de flavonols. ....	37
Figure 8: Structure de quelques exemples de Flavones. ....	38
Figure 9 : Structure de quelques exemples de flavan-3-ol.....	39
Figure 10: Exemple des structures d'anthocyanines : malvidin-3-O-glucoside conjugué....	40
Figure 11: Structure de quelques exemples des flavanones.....	41
Figure 12: Structure chimique de quelques exemples des isoflavones. ....	42
Figure 13: Structure chimique de quelques Exemples des hydroxycinnamates.....	43
Figure 14: Structure chimique de quelques exemples des stilbènes .....	44
Figure 15 : Structure chimique de quelques exemples terpènes.....	45
Figure 16: <i>Launaea arborescens</i> Batt Murb .....	57
Figure 17: <i>Launaea nudicaulis</i> (L). Hook. f.....	58
Figure 18: Position géographique la wilaya de Béchar en Algérie.....	59
Figure 19: Etapes de la réalisation du test d'acide acétique.....	66
Figure 20: Etapes de la réalisation du test de formaline.....	67
Figure 21: Etapes de la réalisation du test de l'histamine et de la sérotonine.....	68
Figure 22: Etapes de la réalisation du test de capsaïcine.....	69
Figure 23: Répartition des utilisateurs des plantes médicinales (Asteraceae) selon le sexe (A), l'âge (B), le niveau académique (C) et type de médecine préférée (D).....	71
Figure 24: Fréquence de l'utilisation des plantes des Asteraceae selon la partie utilisée.....	72
Figure 25: Fréquence de l'utilisation des plantes selon le mode de préparation .....	73

<b>Figure 26: Fréquence des modes d'administration (A) et des utilisateurs des plantes médicinales selon la dose (B).....</b>	<b>74</b>
<b>Figure 27: Fréquence de l'utilisation des plantes selon les affections traitées. ....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 28: Fréquence de l'utilisation de chaque plante comme traitement.....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 29: Niveau de fidélité (NF) des plantes selon l'utilisation de chaque affection .....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 30: Chromatogramme LC- MS -QTOF- en mode ion positif pour le graphique BPI (a) et les composés attribués provisoirement.....</b>	<b>81</b>
<b>Figure 31: Test acide acétique des extraits aqueux de <i>L. arborescens</i> et <i>L. nudicaulis</i> ; a) extrait aqueux de <i>L. arborescens</i> ; b) extrait aqueux de <i>L. nudicaulis</i>. ....</b>	<b>88</b>
<b>Figure 32: Test de formaline des extraits aqueux de <i>L. arborescens</i> et <i>L. nudicaulis</i> .....</b>	<b>90</b>
<b>Figure 33: Représentation de la cinétique de l'inhibition de sérotonine par les extraits aqueux de <i>L. arborescens</i> (L.arb aq) et <i>L. nudicaulis</i> (L.n.aq).....</b>	<b>91</b>
<b>Figure 34: Représentation de la cinétique de l'inhibition d'histamine par les extraits aqueux de <i>L. arborescens</i> (Larb.aq) et <i>L. nudicaulis</i> (L.n aq).....</b>	<b>92</b>
<b>Figure 35: Test de capsaïcine sur les extraits aqueux de plantes ; a) Extrait aqueux de <i>L. arborescens</i>. b) Extrait aqueux de <i>L. nudicaulis</i> .....</b>	<b>94</b>

## Liste des abréviations

**L.nud** : *Launaea nudicaulis* (L) Hook F.

**L.arb** : *Launaea arborescens* Batt Murb

**PDGF** : Facteur de croissance dérivé des plaquettes

**NO** : Monoxyde d'azote

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**HCl** : Acide chlorhydrique

**MDGF** : Facteur de croissance dérivé des macrophages

**IgG**: Immunoglobine G

**TNF  $\alpha$** : Tumor necrosis factor

**MEC** : Matrice Extracellulaire

**PGE** prostaglandine

**PGI** : Prostaglandine

**COX** : Cyclooxygénase

**PGHS** : Prostaglandine H2 synthétase

**TXA2** : Thromboxane A2

**PLA** : Phospholipase

**PGI2** : Prostacycline

**PG2** : Prostaglandine D2

**PGF2a** : Prostaglandine 2a

**IL** : Interleukine

**NFkB**: Nuclear factor-kappa B

**IASP**: International Association for the study of pain

**SIDA** : Syndrome d'immunodéficience

**OMS** : Organisation de santé mondiale

**AINS** : Anti-inflammatoire non-stéroïdien

**5HT** : 5-hydroxytryptamine

**TRPV** : Transient receptor potential vanilloïd

**CE<sub>50</sub>** : La demi concentration effective

**LC-MS- QTOF : Chromatographie en Phase Liquide couplé à la Spectrométrie de Masse en Tandem Quadripôle-Temps de Vol (QTOF)**

**GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse**

**NIST: National Institute of Standards and Technology**

**RT : Temps de rétention**

**CAS : Chemical Abstracts Service**

Dédicaces	
Remerciements	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

## Table des Matières

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Inflammation et la Douleur</b> .....	<b>3</b>
<b>I.1. Inflammation</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1.1. Étiologie de l'inflammation</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1.2. Inflammation et la réparation des tissus</b> .....	<b>5</b>
<b>I.1.3.1. Rôle et conséquences de l'œdème</b> .....	<b>6</b>
<b>I.1.3.2. Diapédèse leucocytaire</b> .....	<b>6</b>
<b>I.1.3.3. Détersion</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1.3.4. Réparation et cicatrisation</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1.3.5. Rôle biologique des cellules inflammatoires</b> .....	<b>8</b>
<i>a) Cellules endothéliales</i> .....	<b>8</b>
<i>b) Thrombocytes</i> .....	<b>9</b>
<i>c) Neutrophiles</i> ,.....	<b>9</b>
<i>d) Macrophages</i> .....	<b>9</b>
<i>f) Mastocytes et basophiles</i> .....	<b>10</b>
<i>g) Lymphocytes et les plasmocytes</i> .....	<b>10</b>

<b>I.1.4. Médiateurs et effecteurs de l'inflammation .....</b>	<b>10</b>
<b>I.1.4.1. Amines vasoactives.....</b>	<b>10</b>
<b>I.1.4.5. Cytokines.....</b>	<b>12</b>
<b>I.1.4.6. Chimiokines .....</b>	<b>12</b>
<b>I.1.4.7. Enzymes protéolytiques .....</b>	<b>12</b>
<b>I.1.5. Formes cliniques de l'inflammation .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.5.1. Inflammation aiguë.....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.5.2. Inflammation chronique .....</b>	<b>14</b>
<b>I.2. Douleur.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.1. Voies de la douleur .....</b>	<b>16</b>
<b>I.2.2. Catégories de la douleur.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.2.1. Douleur aiguë.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.2.2. Douleur subaiguë .....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.2.3. Douleur chronique .....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3. Classification de la douleur.....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.1. Douleur nociceptive.....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.2. Douleur inflammatoire .....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.3. Douleur neuropathique.....</b>	<b>19</b>
<b>I.2.3.4. Douleur fonctionnelle .....</b>	<b>19</b>
<b>I.2.4. Évaluation clinique de la douleur .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.5. Concepts généraux du traitement de la douleur.....</b>	<b>21</b>
<b>I.2.5.1. Traitement pharmacologique .....</b>	<b>21</b>

<b>I.3. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.1. Cyclooxygenase Enzyme (COX-1 et COX 2) .....</b>	<b>22</b>
<b>I.3.2. Prostaglandines.....</b>	<b>23</b>
<b>I.3.3. Mécanisme d'action .....</b>	<b>25</b>
<b>I.3.4. Classification des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens.....</b>	<b>27</b>
<b>I.3.5. Toxicité et effets indésirables .....</b>	<b>31</b>
<b>Chapitre II : Métabolites Secondaires .....</b>	<b>32</b>
<b>II. 1. Métabolites secondaires chez les Astéracées .....</b>	<b>33</b>
<b>II.1.1 Classification des composés phénoliques .....</b>	<b>34</b>
<b>II.1.1.1 Flavonoïdes.....</b>	<b>35</b>
<b>II.1.1.2. Flavonols .....</b>	<b>37</b>
<b>II.1.1.3. Flavones .....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.1.4. Flavan-3-ols .....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.1.5. Anthocyanidines.....</b>	<b>39</b>
<b>II.1.1.6. Flavanones.....</b>	<b>40</b>
<b>II.1.1.7. Isoflavones .....</b>	<b>41</b>
<b>II.1.1.8.1. Acides phénoliques .....</b>	<b>42</b>
<b>II.1.2. Terpènes .....</b>	<b>44</b>
<b>II.1.3. Alcaloïdes.....</b>	<b>45</b>
<b>II.2. Description phytochimique .....</b>	<b>47</b>
<b>II.2. 1. <i>Launaea nudicaulis</i> .....</b>	<b>48</b>
<b>II.2.2. <i>Launaea arborescens</i>.....</b>	<b>51</b>

<b>Chapitre III : Matériel et Méthodes .....</b>	<b>55</b>
<b>III.1. Introduction .....</b>	<b>56</b>
<b>III.2. Présentation des Plantes.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2.1. <i>Launaea arborescens</i> .....</b>	<b>56</b>
<b>III. 2.1.1. Position systématique.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2.2. <i>Launaea nudicaulis</i> .....</b>	<b>57</b>
<b>III.2.2.1. Position systématique.....</b>	<b>58</b>
<b>III.3. Etude Ethnopharmacologique.....</b>	<b>58</b>
<b>III.3.1. Présentation des régions d'études .....</b>	<b>58</b>
<b>III.3.2. Méthode d'étude.....</b>	<b>59</b>
<b>III.3.3. Diversité des plantes médicinales utilisées dans la région d'étude.....</b>	<b>60</b>
<b>III.3.4 Traitement des données .....</b>	<b>60</b>
<b>III.4. Détermination des métabolites secondaires.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4.1. Préparation des extraits aqueux.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4.2. Screening phytochimique.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4.2.1. Mise en évidence des flavonoïdes .....</b>	<b>62</b>
<b>III .4.2.2. Mise en évidence des tanins.....</b>	<b>62</b>
<b>III .4.2.3. Alcaloïdes sels .....</b>	<b>62</b>
<b>III. 4.2.4. Composés réducteurs .....</b>	<b>62</b>
<b>III .4.2.5. Amidon .....</b>	<b>62</b>
<b>III.5. Screening des phénols et des flavonoïdes par la chromatographie liquide couplé à la spectrométrie de masse type Vion IMS QTof .....</b>	<b>63</b>



<b>III. 6. Analyse de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse.</b>	<b>64</b>
<b>III .6.1. Préparation d'extrait butanolique de <i>Launaea arborescens</i> .....</b>	<b>64</b>
<b>III.6.2. Analyse chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse ...</b>	<b>64</b>
<b>III.7. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....</b>	<b>65</b>
<b>III.7.1. Préparation des extraits.....</b>	<b>65</b>
<b>III.7.2. Matériel animal .....</b>	<b>65</b>
<b>III.7.3. Test d'acide acétique .....</b>	<b>65</b>
<b>III.7.4. Test de formaline .....</b>	<b>66</b>
<b>III.7.5. Test de sérotonine et d'histamine .....</b>	<b>67</b>
<b>III.7.6 Test de la capsaïcine.....</b>	<b>68</b>
<b>III.8. Analyse statistique.....</b>	<b>69</b>
<b>Chapitre IV: Résultats et Discussion .....</b>	<b>70</b>
<b>IV.1. Introduction.....</b>	<b>71</b>
<b>IV.2. Etude ethnopharmacologie .....</b>	<b>71</b>
<b>IV.2.1. Utilisation des plantes selon le sexe, l'âge et le niveau d'étude .....</b>	<b>71</b>
<b>IV.2.2. Utilisation thérapeutique des plantes médicinales selon la partie utilisée .....</b>	<b>72</b>
<b>IV.2.3. Mode de préparation .....</b>	<b>73</b>
<b>IV.2.4. Mode d'administration .....</b>	<b>73</b>
<b>IV.2.5. Affections traitées .....</b>	<b>74</b>
<b>IV.3. Phytochimie de <i>Launaea arborescens</i> et <i>Launaea nudicaulis</i>.....</b>	<b>78</b>
<b>IV.3.1. Rendement des extraits.....</b>	<b>78</b>
<b>IV.3.2. Screening phytochimique .....</b>	<b>79</b>

<b>IV.3.3 Analyse de La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS-QToF).....</b>	<b>80</b>
<b>IV.3.4. Analyse de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de <i>Launaea arborescens</i> .....</b>	<b>85</b>
<b>IV.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....</b>	<b>87</b>
<b>IV.4.1. Test des torsions abdominales.....</b>	<b>87</b>
<b>IV.4.2. Test Formaline .....</b>	<b>89</b>
<b>IV.4.3. Test de sérotonine .....</b>	<b>91</b>
<b>IV.4.4. Test d'histamine .....</b>	<b>92</b>
<b>IV.4.5. Test de capsaïcine .....</b>	<b>93</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>95</b>
<b>Références .....</b>	<b>97</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>111</b>

## Introduction

Les plantes étaient pour l'homme une source de nourriture puis une source de soulagement de ses propres maux et les maux de leurs animaux. Au cours des civilisations humaine les efforts continus à être déployés pour explorer de nouvelles et anciennes plantes médicinales à la recherche de nouvelles molécules bioactives ou pour produire ces molécules en grande quantité grâce aux technologies modernes (**Patel et al.,2011**)

Ces dernières années, une attention croissante a été accordée à l'importance des plantes médicinales et des systèmes de santé traditionnels dans la résolution des problèmes de santé dans le monde (**Enebeli-Ekwutoziam et al., 2021**). Les plantes médicinales regorgent de nutriments tels que les vitamines, les minéraux, les antioxydants, etc, qui sont essentiels à l'humanité pour une vie saine. Outre leur teneur en nutriments importants, les plantes synthétisent également des métabolites secondaires, par exemple des alcaloïdes et des molécules volatiles, qui ont des propriétés de prévention des maladies (**zulak et al.,2006**).

La découverte de médicaments à partir de plantes médicinales implique la botanique, techniques phytochimiques, biologiques et moléculaires dans une approche multidimensionnelle. Environ 200 000 produits naturels d'origine végétale sont connus et beaucoup d'autres sont identifiés à partir de plantes supérieures et de micro-organismes. Certains médicaments à base de plantes sont utilisés depuis des siècles et il n'y a pas beaucoup d'alternatives à certains médicaments naturels comme les glycosides cardiaques ou la morphine (**Ambrose, 2016**). Diverses facettes de molécules bioactives se sont développées très rapidement au cours des deux dernières décennies, notamment grâce à de nouveaux outils d'isolement et d'identification ainsi que les techniques moléculaires raffinées pour établir les propriétés biologiques des molécules isolées (**Kishan et Jean-Michel, 2013**).

En Algérie l'utilisation des plantes médicinales était omni présente dans la vie de la population. En outre, les plantes médicinales et leurs divers produits peuvent être considérés comme des produits de base, importants pour le développement économique durable d'un pays. L'inflammation et la douleur sont deux phénomènes qui se côtoient et font un indicateur d'un malaise dans le corps soit une infection bactérienne ou une ulcération d'un tissu ; de ce faite la

population de la région du sud-ouest Algérien avec ses traditions dans l'utilisation des plantes locales telle que *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis* pour traiter ces maux.

Dans ce contexte, il était important de faire une enquête ethnopharmacologique dans la région afin d'évaluer l'utilisation des plantes médicinales appartenant à la famille des Astéraceae. Des tests d'activité anti-inflammatoire et analgésique des extraits aqueux des deux plantes *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*, ont été faites, et en parallèle de ces tests biologiques des analyses de criblage phytochimique et des analyses plus pointues en utilisant la chromatographie en phase liquide quadripôle couplé à la spectroscopie de masse-QTOF (LC-MS-QTOF) et des analyses de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse (GC-MS)

Afin d'atteindre les objectifs fixés, nous avons suivi les étapes suivantes :

- ✓ Etude ethnopharmacologique de 7 plantes de la famille des asteraceae à large consommation dans la région de Bechar.
- ✓ Des analyses pointues pour la mise en évidence des métabolites secondaires des extraits méthanoliques des deux plantes *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis* par la chromatographie en phase liquide quadripôle couplé à la spectroscopie de masse-QTOF (LC-MS-QTOF) et la mise en évidence de nouveaux terpènes par la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse (GC-MS) de l'extrait butanolique de *Launaea arborescens*
- ✓ Evaluation *in-vivo* des propriétés anti-inflammatoire et analgésique des extraits aqueux des deux plantes : *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis* en utilisant les souris comme modèle animal.

Le manuscrit est structuré en deux parties et 4 chapitres ; la première partie est une étude bibliographique, elle comprend deux chapitres : le premier chapitre résume des phénomènes de l'inflammation et la douleur, ainsi que les médicaments anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) ; le deuxième chapitre résume les métabolites secondaires existants dans les plantes de la famille des Asteraceae.

La deuxième partie est la partie expérimentale, nous détaillerons les outils méthodologiques utilisés avant d'exposer l'ensemble des résultats obtenus et les discussions qui en découlent. Pour finir, une conclusion qui propose quelques perspectives de recherche sont présentées.

# **Chapitre I**

# **Inflammation**

# **et la**

# **Douleur**

## I.1. Inflammation

L'inflammation, comme la douleur, l'hémostase ou l'immunité, fait partie des processus réactionnels de défense dont dispose l'organisme pour répondre aux agressions, et donc pour assurer le maintien de l'intégrité du « soi ». Si son existence a été reconnue depuis l'Antiquité – Celse (Aulus Cornelius Celsus), au temps de l'empereur Auguste, en décrivait déjà les signes cardinaux : savoir « rubor et tumor cum calor et dolor» (**Cavaillon, 2021**) – c'est-à-dire rougeur et gonflement associés à chaleur et douleur (Il faut en tous cas souligner l'ubiquité de l'inflammation, la pluralité des cellules qui participent au processus, la liste qui s'allonge sans cesse des médiateurs qui interviennent dans son mécanisme, l'importance en particulier des cytokines et de l'immunité innée (ou immunité naturelle) dans sa pathogénie, l'étroitesse de ses relations avec les autres processus réactionnels et enfin la place grandissante des biothérapies dans son traitement (**Cavaillon, 2021**).

### I.1.1. Étiologie de l'inflammation

L'inflammation peut être déclenchée par plusieurs mécanismes. Ceux-ci comprennent : (**Medzhitov, 2008**) :

- Agents pathogènes nocifs : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) ;
- Agents chimiques nocifs : caustiques, toxines, venins.
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations ;
- Produits accumulés du métabolisme : acide urique,
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes ;
- Lésion tissulaire immunologique : anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité
- Lésion tissulaire due à une infection
- Tissue en nécrose : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie

### I.1.2. Inflammation et la réparation des tissus

La réponse inflammatoire est coordonnée par un large éventail de médiateurs formant des réseaux de régulation complexes. Pour disséquer ces réseaux complexes, il est utile de placer ces signaux dans des catégories fonctionnelles et de distinguer les inducteurs et les médiateurs de l'inflammation (**Medzhitov, 2008**).

Les inducteurs sont les signaux qui déclenchent la réponse inflammatoire. Ils activent des capteurs spécialisés qui déclenchent ensuite la production d'ensembles spécifiques de médiateurs. Les médiateurs, à leur tour, modifient les états fonctionnels des tissus et des organes (qui sont les effecteurs de l'inflammation) d'une manière qui leur permet de s'adapter aux conditions indiquées par l'inducteur particulier de l'inflammation. Ainsi, la voie inflammatoire générique comprend des inducteurs, des capteurs, des médiateurs et des effecteurs, chaque composant déterminant le type de réponse inflammatoire (**Medzhitov, 2008**).

### I-1.3. Etapes de la réaction inflammatoire

Le processus d'inflammation délivre des leucocytes et les protéines aux envahisseurs étrangers, tels que les microbes, et aux tissus endommagés ou nécrotiques, et il active les cellules et les molécules recrutées, qui fonctionnent alors pour éliminer les substances nocives ou indésirables (**Kuby et al, 2000**).

La réaction inflammatoire typique se développe à travers une série d'étapes séquentielles (**Kuby et al, 2000**) :

- L'agent incriminé, qui se trouve dans les tissus extravasculaires, est reconnu par les cellules hôtes et les molécules.
- Les leucocytes et les protéines plasmatiques sont recrutés de la circulation vers le site où l'agent fautif est localisé.
- Les leucocytes et les protéines sont activés et travaillent ensemble pour détruire et éliminer la substance en cause.
- La réaction est contrôlée et terminée.
- Le tissu endommagé est réparé.

L'inflammation est induite par des médiateurs chimiques produits par les cellules hôtes en réponse à des stimuli nuisibles. Lorsqu'un microbe pénètre dans un tissu ou que le tissu est

endommagé, la présence de l'infection ou des dommages est détectée par les cellules résidentes, notamment les macrophages, les cellules dendritiques, les mastocytes et d'autres types de cellules. Ces cellules sécrètent des molécules (cytokines et autres médiateurs) qui induisent et régulent la réponse inflammatoire ultérieure (Abbas *et al*, 2015). Les médiateurs inflammatoires sont également produits à partir des protéines plasmatiques qui réagissent aux microbes ou aux produits des cellules nécrotiques (Abbas *et al*, 2015).

Certains de ces médiateurs favorisent l'efflux de plasma et le recrutement de leucocytes circulants sur le site où l'agent incriminé est situé. Les médiateurs activent également les leucocytes recrutés, améliorant ainsi leur capacité à détruire et à éliminer l'agent en cause (Barton, 2008).

La réponse initiale rapide aux infections et les lésions tissulaires sont appelées inflammation aiguë. Il typiquement se développe en quelques minutes ou heures et est de courte durée, durer plusieurs heures ou quelques jours. Ses principales caractéristiques sont l'exsudation des protéines liquides et plasmatiques (œdème) et l'émigration des leucocytes, principalement des neutrophiles (également appelés leucocytes polynucléaires) (figure 1) (Barton, 2008 ; Kumar *et al*, 2018).

#### **I.1.3.1. Rôle et conséquences de l'œdème**

L'œdème a un rôle important dans le processus inflammatoire :

- Apport local de médiateurs chimiques et de moyens de défense (immunoglobulines, facteurs de la coagulation, facteurs du complément) ;
- Dilution des toxines accumulées dans la lésion ;
- Limitation du foyer inflammatoire par une barrière de fibrine (provenant du fibrinogène plasmatique), ce qui évite la diffusion de micro-organismes infectieux ;
- Ralentissement du courant circulatoire par hémococoncentration, ce qui favorise le phénomène la diapédèse leucocytaire (Collège Français des Pathologistes, 2011).

#### **I.1.3.2. Diapédèse leucocytaire**

La diapédèse leucocytaire correspond à la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel, elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes (Kumar *et al*, 2018).



Lorsque l'inflammation aiguë atteint son objectif d'éliminer l'agent pathogène, la réaction disparaît et les lésions résiduelles sont réparées. Mais si la réponse initiale ne parvient pas à éliminer le stimulus, la réaction évolue vers un type d'inflammation prolongé appelé inflammation chronique. L'inflammation chronique peut suivre une inflammation aiguë ou se manifester de nouveau. Il est de plus longue durée et est associé à davantage de destruction tissulaire, à la présence de lymphocytes et de macrophages, à la prolifération des vaisseaux sanguins et à la fibrose (Kumar *et al.*, 2018).

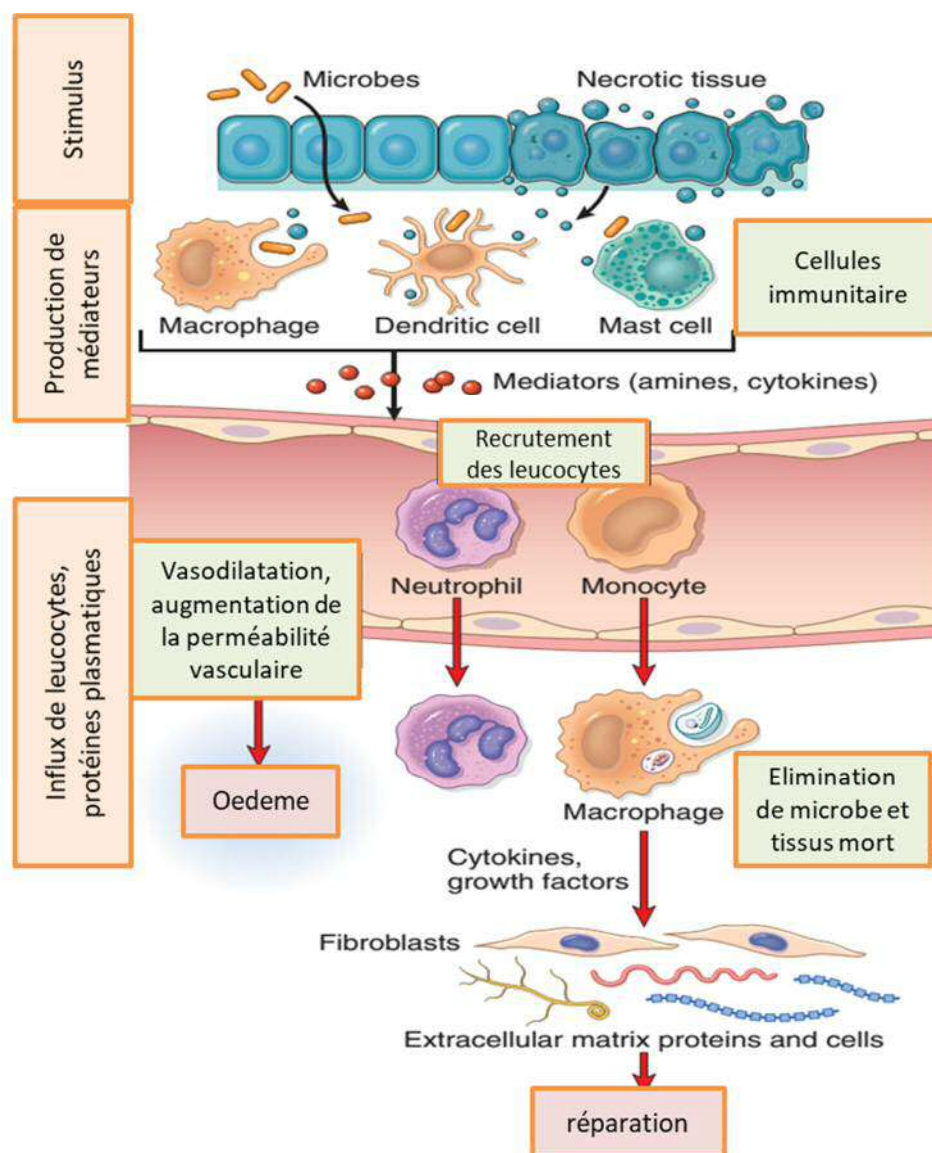


Figure 1: Représentation de la réaction inflammatoire (Kumar *et al.*, 2018).

### **I.1.3.3. Détersion**

Elle succède progressivement à la phase vasculo-exsudative, et est contemporaine de la phase cellulaire (Riede *et al*, 2018).

La détersion peut être comparée à un nettoyage du foyer lésionnel : c'est l'élimination des tissus nécrosés (issus de l'agression initiale ou du processus inflammatoire lui-même), des agents pathogènes et de l'exsudat. La détersion prépare obligatoirement la phase terminale de réparation-cicatrisation. Si la détersion est incomplète, l'inflammation aiguë va évoluer en inflammation chronique. La détersion s'effectue selon 2 mécanismes : détersion interne et externe (Riede *et al*, 2018).

### **I.1.3.4. Réparation et cicatrisation**

La réparation tissulaire suit une détersion complète. Elle aboutit à une cicatrice si le tissu lésé ne peut régénérer (ex : neurones ou cellules musculaires myocardiques) ou lorsque la destruction tissulaire a été très importante et/ou prolongée (Barton, 2008).

Le processus de réparation implique de nombreux facteurs de croissance et des interactions complexes entre les cellules et la matrice extracellulaire pour réguler les proliférations et biosynthèses cellulaires (Collège Français des Pathologistes (CoPath), 2011) ; Riede *et al*, 2018).

### **I.1.3.5. Rôle biologique des cellules inflammatoires**

Le niveau basique une réponse inflammatoire impliquera un ensemble de cellules sanguines citées ci-dessous (Abbas *et al*, 2015 ; Kumar *et al*, 2018):

#### **a) Cellules endothéliales**

Peuvent être considérées comme des « gardes-frontières », sont des cellules pro-inflammatoires qui génèrent des sélectines, qui provoquent l'adhésion des lymphocytes et des granulocytes, et un activateur du facteur VIII, qui active le complément et kinine en cascade qui augmente la perméabilité (Punt *et al*, 2018).

**b) Thrombocytes**

Peuvent être considérés comme des « constructeurs de digues », conduisant à des thrombi-plaquettaires ; ce sont des cellules pro-inflammatoires qui génèrent des médiateurs de l'inflammation (voir ci-dessous) et le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), qui stimule les fibroblastes, les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales (**Punt et al., 2018**).

**c) Neutrophiles,**

Que l'on peut considérer comme des "micro-macrophages", génèrent plusieurs substances

- Lysozyme, germicide non spécifique ;
- Des enzymes de métabolisation tissulaire pour "waste removal" ;
- NO synthase, qui retourne l'oxyde nitreux et peroxytrile, un bactéricide;
- Le système NADPH oxydase, qui utilise la myéloperoxydase pour produire des métabolites de l'oxygène, produisant à son tour du HCl, un bactéricide (**Punt et al., 2018**).

**d) Macrophages**

Ils ont le long de la vie et peuvent proliférer dans la région enflammée. Ils peuvent être considérés comme de grandes cellules dévotionnelles et des diffuseurs d'antigènes pour les lymphocytes. Ils génèrent plusieurs substances :

- Des enzymes de catabolisation tissulaire pour "waste removal";
- Facteur de croissance dérivé des macrophages (MDGF) pour les fibroblastes ;
- Les facteurs chimiotactiques, qui attirent les neutrophiles ;
- Activation des cytokines des lymphocytes et granulocytes ;
- Les dérivés de l'arachidonate qui provoque l'inflammation (**Condeelis et al., 2006**).

**e) Eosinophiles**

Peuvent être considérés comme les "pré-hommes" des mastocytes et les tueurs de parasites, ils s'accumulent dans les muqueuses infestées de bactéries. Ils réagissent aux IgG, aux IgA, aux facteurs du complément et au facteur d'activation plaquettaire (PAF). Ils génèrent cytotoxique et anti-microbienne métabolites de l'oxygène. Le contenu de leurs granules détruit les parasites (**Punt et al., 2018**).

#### ***f) Mastocytes et basophiles***

Peuvent être considérés comme des « canons d'eau ». Ils contiennent des granules contenant de l'héparine, de l'histamine (qui augmente la perméabilité), des substances qui attirent les éosinophiles et les neutrophiles, et les substances qui provoquent l'agrégation plaquettaire (Abbas *et al.*, 2015).

#### ***g) Lymphocytes et les plasmocytes***

Maintiennent le système immunitaire cellulaire et humoral dans la zone enflammée (Riede *et al.*, 2004 ; Collège Français des Pathologistes (CoPath) 2011).

### **I.1.4. Médiateurs et effecteurs de l'inflammation**

Les inducteurs d'inflammation déclenchent la production de nombreux médiateurs inflammatoires, qui à leur tour modifient la fonctionnalité de nombreux tissus et organes - les effecteurs en aval de la voie inflammatoire (Tableau1) (Kumar *et al.*, 2018).

Beaucoup de ces médiateurs inflammatoires ont des effets communs sur le système vasculaire et sur le recrutement des leucocytes. Ces médiateurs peuvent être dérivés de protéines plasmatiques ou sécrétés par des cellules (Majno et Joris, 2004; Kumar *et al.*, 2018).

Les médiateurs cellulaires peuvent être produits par des leucocytes spécialisés (en particulier des macrophages et des mastocytes résidant dans les tissus) ou par des cellules présentes dans les tissus locaux. Certains médiateurs (tels que l'histamine et la sérotonine) sont préformés et stockés dans les granules des mastocytes, des basophiles et des plaquettes, d'autres sont préformés et circulent comme précurseurs inactifs dans le plasma.

Les médiateurs inflammatoires peuvent être classés en sept groupes en fonction de leurs propriétés biochimiques amines vasoactives, peptides vasoactifs, fragments de composants du complément, médiateurs lipidiques, cytokines, chimiokines et enzymes protéolytiques (Majno *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2018).

#### **I.1.4.1. Amines vasoactives**

Les amines vasoactives (histamine et sérotonine) sont produites de manière totale ou partiellement lorsque les mastocytes et les plaquettes se dégranulent. Ils ont des effets complexes

sur le système vasculaire, provoquant une augmentation de la perméabilité vasculaire et de la vasodilatation, ou une vasoconstriction (Poher *et al.*, 2007).

#### I.1.4.2. Peptides vasoactifs

Les peptides vasoactifs peuvent être stockés sous une forme active dans des vésicules sécrétoires (par exemple, substance P) ou générés par traitement protéolytique de précurseurs inactifs dans le liquide extracellulaire (par exemple, kinines, fibrinopeptide A, fibrinopeptide B et produits de dégradation) (Steinhoff *et al.*, 2000 ).

#### I.1.4.3. Compléments

Les fragments de compléments C3a, C4a et C5a (également appelés anaphylatoxines) sont produits par plusieurs voies d'activation du complément (Biesma *et al.*, 2001). C5a (et dans une moindre mesure C3a et C4a) favorisent le recrutement des granulocytes et des monocytes et induisent une dégranulation des mastocytes, affectant ainsi le système vasculaire. Les conséquences immédiates de leur libération par les mastocytes peuvent être la fièvre (Biesma *et al.*, 2001).

#### I.1.4.4. Médiateurs lipidiques

Les médiateurs lipidiques (eicosanoïdes et facteurs activant les plaquettes) dérivent de phospholipides, tels que la phosphatidylcholine, présents dans le feuillet interne des membranes cellulaires (Kumar, *et al.*, 2018). Les prostaglandines (PGE2- PGI2), à leur tour, provoquent une vasodilatation et sont également hyperalgésique et inducteurs de la fièvre (Turnbull *et Rivier*, 1999). Les lipoxines (et les résolvines et protectines dérivées des acides gras  $\omega$ 3) inhibent l'inflammation et favorisent la résolution de l'inflammation et la réparation des tissus (Higgs *et al.*, 1984).

La deuxième classe de médiateur lipidique, les facteurs d'activation des plaquettes sont générés par l'acétylation de l'acide lysophosphatidique et activent plusieurs processus qui se produisent pendant la réponse inflammatoire, notamment le recrutement des leucocytes, la vasodilatation et la vasoconstriction, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'activation des plaquettes (Serhan *et al.*, 2010; Serhan.,2007).

#### **I.1.4.5. Cytokines**

Les cytokines d'inflammation tel que le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1, IL-6 et bien d'autres sont produits par de nombreux types de cellules, les macrophages et les mastocytes (Turnbull et Rivier.,1999). Ils jouent plusieurs rôles dans la réponse inflammatoire, notamment l'activation de l'endothélium et des leucocytes et l'induction de la réponse en phase aiguë (Turnbull et Rivier.,1999).

#### **I.1.4.6. Chimiokines**

Les chimiokines sont produites par de nombreux types de cellules en réponse aux inducteurs d'inflammation. Ils contrôlent l'extravasation des leucocytes et la chimiotaxie vers les tissus affectés (Turnbull, et Rivier.,1999).

#### **I.1.4.7. Enzymes protéolytiques**

Plusieurs enzymes protéolytiques (y compris l'élastine, les cathepsines et métalloprotéinases matricielles) ont des rôles divers dans l'inflammation, en partie par la dégradation de la MEC et des protéines de la membrane basale.

Ces protéases jouent un rôle important dans de nombreux processus, notamment la défense de l'hôte, le remodelage tissulaire et la migration des leucocytes (Turnbull et Rivier.,1999 ; Kumar *et al.*, 2018).

Comprendre le rôle des médiateurs chimiques est important car la plupart des médicaments anti-inflammatoires ciblent des médiateurs spécifiques.

Tableau 1: Principaux médiateurs de l'inflammation (Kumar *et al.*, 2018)

<i>Médiateurs</i>	<b>Origine</b>	<b>Action</b>
<i>Histamine</i>	Mastocyte, basophile, plaquettes	Vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, activation des cellules endothéliales
<i>Prostaglandine</i>	Mastocyte, leucocytes	Vasodilatation, douleur, fièvre
<i>Leucotriènes</i>	Mastocytes, leucocytes	augmente la perméabilité vasculaire, chimotaxie, activation et adhésion des leucocytes.
<i>Cytokine (TNF, IL-1, IL-6, IL-8)</i>	Macrophage, cellules endothéliales, mastocytes, monocytes	Local : activation endothelial Systemic : fièvre, méthanolique anormal, hypotension
<i>Chémokines</i>	Leucocyte, macrophage active	Chemotaxie, activation de leucocytes
<i>Facteur d'activation des plaquettes (PAF)</i>	Leucocyte, mastocyte	Vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, adhésion de leucocyte, chimotaxie, dégranulation, éclatement oxydatif.
<i>Complements (C3a, C5a)</i>	Plasma (produit par le foie)	Activation et chimotaxie des leucocytes, vasodilatation.
<i>Kalicréine</i>	Plasma	Transforme et active le système kinine
<i>Kinines (Bradykinine)</i>	Plasma (produit par le foie)	augmente la perméabilité vasculaire, contraction du muscle lisse, vasodilatation, douleur.
<i>Plasmine</i>	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour généré C3a et C3b
<i>Facteur de Hagman (XII)</i>	Plasma	Impliqué dans la cascade de coagulation
<i>Thrombine</i>	Plasma	Catalyse la transformation de la fibrinogène en fibrine.

### **I.1.5. Formes cliniques de l'inflammation**

L'inflammation peut être de deux types, aiguë et chronique

#### **I.1.5.1. Inflammation aiguë**

La réponse inflammatoire aiguë fournit rapidement les leucocytes et les protéines plasmatiques aux sites de lésion. Une fois-là, les leucocytes effacent les envahisseurs et entament le processus de digestion et d'élimination des tissus nécrotique. L'inflammation aiguë dont les principales découvertes histologiques incluent l'exsudation du sérum sanguin et de l'extravasation des cellules sanguines dans la zone enflammée (**Riede et al., 2004**).

Les inflammations aiguës peuvent être classées comme suit en fonction des principaux composants de l'exsudat (**Serhan et al., 2005**) :

- Inflammation séreuse ;
- Inflammation séromuqueuse ;
- Inflammation fibrineuse ;
- Inflammation fibrineuse purulente ou fibrineuse purulente ;
- Inflammation suppurée ou purulente ;
- Inflammation hémorragique.

#### **I.1.5.2. Inflammation chronique**

L'inflammation chronique est définie non pas comme la persistance d'une inflammation aiguë mais est définie morphologiquement par la présence de lymphocytes, de macrophages et de plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (mois à quelques années) (**Medzhitov, 2008**). Il est considéré comme être provoqué par l'engagement persistant de réponses immunitaires innées et acquises, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, dans le rejet chronique d'allogreffe, dans la béryllose et dans l'inflammation granulomateuse (**Ward., 2010**).



## I.2.Douleur

Selon la définition de l'IASP (International Association for the Study of Pain), société savante internationale qui rassemble tous les chercheurs et personnels soignants qui interviennent pour l'étude et la prise en charge de la douleur), la douleur est « une sensation désagréable et une expérience émotionnelle en réponse à une atteinte tissulaire réelle ou potentielle ou décrite en ces termes » (Cohen *et al.*, 2018). La douleur est donc une expérience s'articulant autour de quatre composantes fondamentales (Cohen *et al.*, 2018) :

- (1) sensori-discriminative ;
- (2) affective et émotionnelle ;
- (3) cognitive ;
- (4) comportementale.

En s'intéressant à la première composante sensoridiscriminative de la douleur, Sherrington neurophysiologiste anglais de la fin du XIX e Siècle (1906), a créé le terme de « nociception » qui caractérisait des stimulations sensorielles de haute intensité', celles qui étaient « susceptibles de remettre en cause l'intégrité physique de l'organisme » (Calvino, 2007).

Ainsi, une stimulation périphériques nociceptive de forte intensité déclenche une cascade d'événements physiologiques conduisant à l'intégration des informations codant pour les différents aspects de la douleur (Calvino, 2007). Des perturbations peuvent être à l'origine du prolongement dans le temps du processus à l'origine de la douleur conduisant au développement d'une douleur chronique parfois sans cause organique, qui laisse le plus souvent le thérapeute désarmé et pour laquelle l'apport de la recherche n'en est encore qu'à ses balbutiements. La douleur perd alors sa signification de signal d'alarme pour évoluer vers un véritable syndrome chronique dont les effets délétères sont le plus souvent handicapants (Woolf *et al.*, 1999).

Les douleurs chroniques peuvent être en rapport avec deux principales causes. On distingue principalement les douleurs par excès de nociception (inflammation, sensibilisation des nocicepteurs...) et les douleurs neuropathiques (neuropathies périphériques consécutives à des lésions de nerfs sensoriels périphériques ou neuropathies centrales consécutives à des lésions de structures relais du système nerveux central) (Calvino, 2007).

Un pli cutané ou une rotation excessive d'une articulation. La corrélation prévisible entre le stimulus nocif et la sensation de douleur nous oblige à éviter les comportements et les situations évoquant la douleur. Les types de douleur ont été classés en fonction de leur pathogenèse et la recherche sur la douleur vise à définir leurs mécanismes neuronaux.

Selon **Cervero et Laird (1991)** distinguent trois types de douleur ; l'application d'un stimulus nocif aigu sur un tissu normal provoque une douleur nociceptive physiologique aiguë. Il protège les tissus contre les dommages (ultérieurs) car les réflexes de sevrage sont généralement provoqués. Des douleurs nociceptives physiopathologiques lorsque les tissus sont enflammés ou blessés. Elle peut apparaître sous forme de douleur spontanée (douleur en l'absence de toute stimulation intentionnelle) ou d'hyperalgésie et / ou d'allodynie.

Habituellement, la douleur chez les patients est appelée « chronique », lorsque la durée de la douleur dépasse les 6 mois (**Russo et al., 1998**). La douleur chronique peut résulter d'une maladie chronique et peut alors résulter de processus nociceptifs persistants. Comme elle peut être accompagnée de dysrégulation neuroendocrine, de fatigue, de dysphorie et d'altération des performances physiques et mentales (**Woolf et al., 1999**).

### **I.2.1. Voies de la douleur**

Les processus physiologiques impliqués dans la sensation de douleur comprennent (figure 2) (<http://recap-ide.blogspot.com/2014/11/la-douleur-physiologie.html>)

1. ) La transduction de stimuli nocifs (thermiques, mécaniques et chimiques)
2. ) Activité électrique à la borne périphérique des fibres sensorielles de nocicepteur
3. ) Conduction de l'entrée sensorielle résultante à la borne centrale des nocicepteurs
4. ) La transmission et la modulation de l'entrée sensorielle d'un neurone à un autre
5. ) Projection sur le tronc cérébral, le thalamus et le cortex
6. ) Perception de l'entrée sensorielle au niveau du cortex somatosensoriel

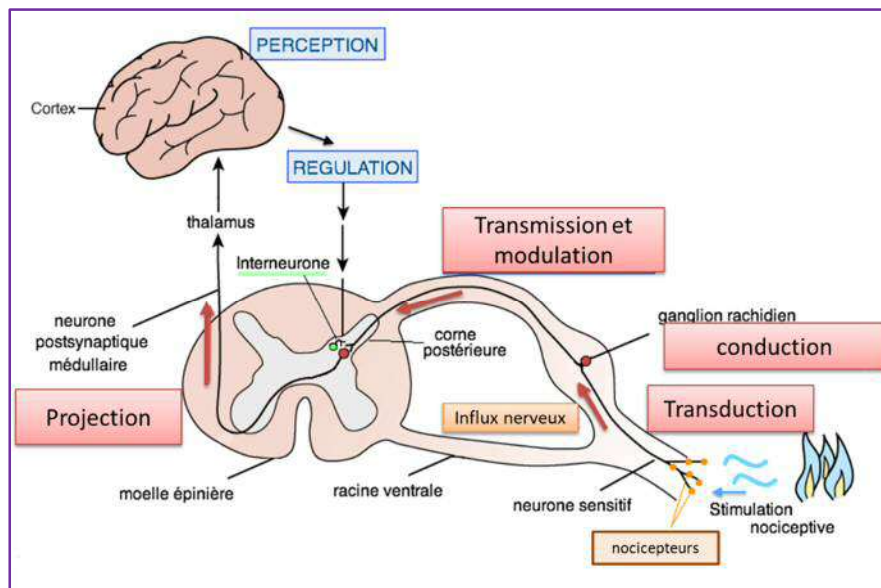


Figure 2: Voies de la transmission de la douleur

(<http://recap-ide.blogspot.com/2014/11/la-douleur-physiologie.html>)

## I.2.2. Catégories de la douleur

D'un point de vue de la durée la douleur peut être différenciée comme suit :

- Douleur aiguë (<4 semaines)
- Douleur subaiguë (4 semaines à 3 mois)
- Douleur chronique (> 3-6 mois)

### I.2.2.1. Douleur aiguë

Est causée par une stimulation adéquate des neurones nociceptifs. Cette douleur résulte généralement d'une lésion ou d'une inflammation des tissus mous et joue un rôle protecteur en permettant la cicatrisation et la réparation tissulaire (Woolf, 1995).

### I.2.2.2. Douleur subaiguë

Est souvent moins intense et suit la phase aiguë. Il est considéré comme une douleur organique due à la guérison et au remodelage des tissus. Il dure généralement jusqu'à 12 semaines, mais généralement pas plus longtemps (Woolf, 1995).

### **I.2.2.3. Douleur chronique**

La douleur chronique a perdu son rôle protecteur. Rétrospectivement, il est souvent difficile d'identifier le stimulus nocif ou les lésions tissulaires chez les patients présentant une douleur chronique qui est la cause d'origine la douleur (**Woolf, 1995**). La douleur chronique induit des changements biochimiques et phénotypiques dans le système nerveux qui augmentent et altèrent les apports sensoriels, entraînant des altérations physiologiques, métaboliques et immunologiques qui menacent l'homéostasie et contribuent à la maladie et à la mort (**Muir et Woolf, 2001**).

### **I.2.3. Classification de la douleur**

Une distinction opportune de la douleur est donnée par qui suggère une différenciation (Figure 3) (**Scholz et Woolf, 2002**) :

- a. Douleur nociceptive
- b. Douleur inflammatoire
- c. Douleur neuropathique
- d. Douleur fonctionnelle

#### **I.2.3.1. Douleur nociceptive**

La douleur nociceptive est une sensation physiologique vitale qui se produit dans des situations comme un traumatisme ou une chirurgie. La douleur nociceptive aiguë est provoquée par une stimulation nocive du tissu normal suffisamment intense pour endommager le tissu. Il a pour fonction importante de protéger le tissu contre d'autres dommages, par exemple : par susciter des réflexes de sevrage (**Woolf & Max, 2001**) ( **Figure 3.a**).

#### **I.2.3.2. Douleur inflammatoire**

Dans le cas d'une lésion tissulaire qui se produit malgré un système défensif nociceptif intact, le rôle du système nociceptif passe de la prévention de la stimulation nuisible à la promotion de la guérison du tissu lésé (**Kehlet et al., 2006**). La douleur inflammatoire est caractérisée par une sensibilité accrue aux stimuli, qui ne provoque pas de douleur dans des conditions normales. Cela protège l'individu contre d'autres dommages à la partie blessée jusqu'à

ce que le processus de guérison et de réparation soit terminé. La douleur inflammatoire diminue normalement pendant le processus de guérison (**Kehlet et al., 2006**) (**Figure 3.b**).

### **I.2.3.3. Douleur neuropathique**

La douleur neuropathique est le résultat d'une lésion directe ou d'une maladie des neurones dans la périphérie ou le système nerveux central. Par conséquent, les syndromes de douleur neuropathique périphérique sont différenciés de la douleur centrale. La douleur neuropathique se produit souvent spontanément sous une forme continue ou épisodique et est associé à d'autres anomalies sensorielles (**Figure 3.c**).

Selon **Dworkin et al (2003)**, la douleur neuropathique peut avoir diverses causes, par ex.

Lésion de la racine nerveuse (traumatique, syndrome de compression) :

- a. Lésion de la moelle épinière
- b. Lésions cérébrales
- c. Polyneuropathie diabétique
- d. Polyneuropathie du SIDA
- e. Post-herpétique

### **I.2.3.4. Douleur fonctionnelle**

Aucun corrélat morphologique ne peut être trouvé dans la douleur fonctionnelle, cette forme de douleur se produit en raison d'une réponse anormale ou d'une fonction du système nerveux (**Scholz et Woolf, 2002**). Dans l'examen clinique, aucune anomalie neurologique ou périphérique ne peut être trouvée. La base physiologique de la douleur fonctionnelle est une sensibilité accrue ou hyperréactivité du système sensoriel qui amplifie les symptômes. **Scholz et Woolf (2002)** résumant les syndromes qui appartiennent à cette classe de douleur (**Figure 3.d**).

- a. Fibromyalgie
- b. Syndrome de l'intestin irritable
- c. Douleur thoracique non cardiaque
- d. Maux de tête de tension

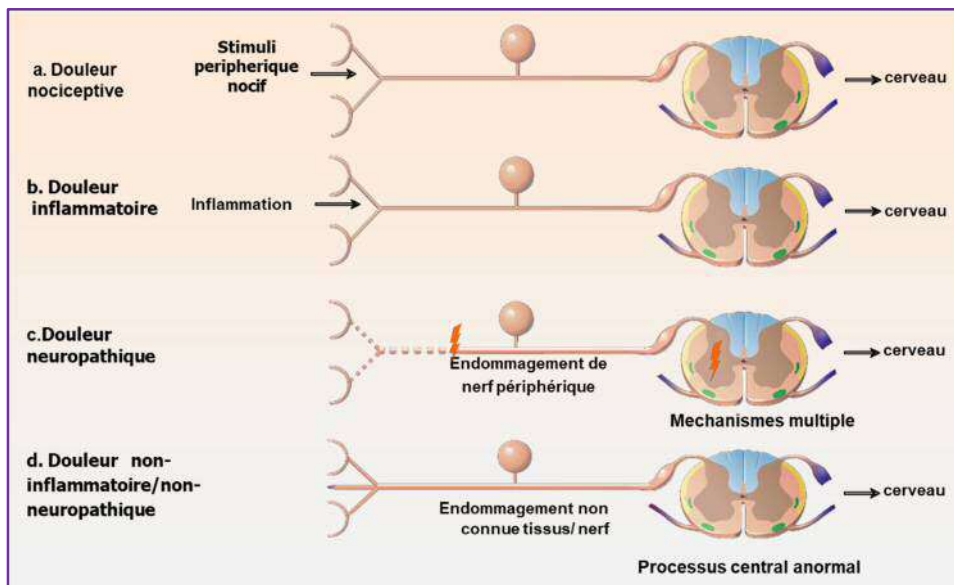


Figure 3: Différents types de la douleur (Scholz et Woolf, 2002).

### I.2.4. Évaluation clinique de la douleur

La douleur nociceptive est un signe avant-coureur important pour éviter toute blessure à la personne ; alors que la douleur neuropathique a perdu ce rôle et se présente comme une maladie à part entière. La douleur vertébrale nociceptive se produit en raison de lésions tissulaires circonscrites ou imminentes (Scholz et Woolf, 2002). Les patients souffrant de douleur vertébrale nociceptive présentent des signes cliniques spécifiques correspondant au tissu touché (Kim *et al.*, 2020).

Contrairement à la douleur vertébrale nociceptive, la douleur vertébrale neuropathique survient à la suite d'une blessure directe ou d'une atteinte du système nerveux. Les lésions graves des racines nerveuses et de la moelle épinière sont les causes les plus courantes de douleur neuropathique (Kim *et al.*, 2020).

L'expérience clinique et les recherches plutôt décourageantes concernant principalement le traitement de la douleur chronique ont démontré qu'une stratégie visant à examiner, classifier et traiter la douleur sur la base de l'anatomie ou d'une maladie sous-jacente avait une aide limitée (Woolf et Max, 2001)

## I.2.5. Concepts généraux du traitement de la douleur

### I.2.5.1. Traitement pharmacologique

Le traitement pharmacologique de la douleur aiguë doit être agressif, multimodal et préventif afin de réduire le risque de persistance de la douleur (Steinmeyer, 2000 ; Katzung *et al.*, 2012). L'échelle de soulagement de la douleur en trois étapes de l'OMS indique qu'il faut commencer par un analgésique faible et augmenter progressivement l'efficacité du médicament jusqu'à ce que le soulagement de la douleur soit ressenti. Les analgésiques peuvent être différenciés en analgésiques non opioïdes (par exemple, le paracétamol, le tramadol, la kétamine), les AINS et les opioïdes (Katzung *et al.*, 2012)

Les opioïdes comprennent tous les composés endogènes et exogènes possédant des propriétés analgésiques analogues à la morphine (Katzung *et al.*, 2012). Les médicaments adjuvants (par exemple, antidépresseurs, anticonvulsivants, anxiolytiques) sont des médicaments complémentaires utiles, car ils renforcent l'effet central des analgésiques et ciblent la dépression, la peur ou l'anxiété associée (Heike et Norbert, 2008).

La compréhension croissante de la neurobiologie de la douleur a conduit à une approche préventive agressive, multimodale et préventive du traitement de la douleur aiguë afin de prévenir la persistance de la douleur (Ekman et Koman, 2005).

## I.3. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (communément appelés AINS) sont les médicaments antalgiques les plus utilisés au monde en raison de leur capacité à réduire la douleur et l'inflammation (De Ledinghen *et al.*, 1999; Laine, 2001). Les AINS sont structurellement divers, mais tous ont des propriétés antipyrétiques, anti-inflammatoires et analgésiques.

Les médicaments de plusieurs classes structurelles diverses partagent l'activité analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire ; L'utilisation de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) continue de croître à un rythme remarquable en raison du large spectre d'applications cliniques de ces médicaments (Laine, 2001). L'utilisation des AINS est particulièrement répandue chez les patients souffrants de diverses affections du squelette et

de lésions musculaires (**Thienhaus et Cole, 2002**). Toutefois les AINS ont des effets indésirables importants, y compris des saignements gastro-intestinaux, ulcère peptique, hypertension, œdème et maladie rénale. Plus récemment, certains AINS ont également été associés à un risque accru d'infarctus du myocarde (**Landry et Gies, 2009**).

Les AINS réduisent la douleur et l'inflammation en bloquant les cyclo-oxygénases (COX), enzymes nécessaires à la production de prostaglandines (**Landry et Gies, 2009**). La plupart des AINS bloquent deux cyclo-oxygénases différentes, appelé COX-1 et COX2 (**Landry et Gies, 2009**).

Aujourd'hui, les AINS sont une classe de médicaments couramment utilisés dans de nombreux médicaments sur ordonnance et en vente libre. Dans de nombreux pays, ils sont l'un des types de médicaments les plus fréquemment utilisés, en particulier pour les symptômes associés à l'arthrose et autres affections musculo-squelettiques chroniques ; leurs indications sont loin, cependant, dépassant le simple os et la douleur musculaire (**Buxeraud, 2007**). Ces indications incluent diverses conditions médicales telles que le syndrome de douleur myofaciale, la goutte, la fièvre, la dysménorrhée, les migraines (**Buxeraud, 2007**). La gestion de la douleur préopératoire et de l'infarctus du myocarde. Avec ce large spectre d'applications cliniques. L'utilisation d'AINS continue de croître à un rythme remarquable (**Buxeraud, 2007**).

### **I.3.1. Cyclooxygenase Enzyme (COX-1 et COX 2)**

Les deux isoformes de la cyclooxygénase, COX-1 et COX-2, sont des cibles de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Ces médicaments sont des inhibiteurs compétitifs du site actif des deux COX.

La COX ou prostaglandine H2 synthétase (PGHS), purifiée pour la première fois en 1976 et clonée en 1988, est une membrane d'enzyme intracellulaire liée, "qui joue un rôle clé dans la synthèse de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (**Fiorucci et al., 2001**). Les prostaglandines sont des médiateurs importants de nombreux processus physiologiques ; ils régulent l'homéostasie vasculaire, la fonction rénale, l'ovulation et la parturition. Ceux-ci sont également responsables de la douleur et de la fièvre, qui accompagnent l'inflammation et les réponses associées (**Fiorucci et al., 2001**).



La COX-1 est constitutive c'est-à-dire qu'elle est présente de façon permanente dans une grande majorité des cellules ; elle permet un maintien de l'homéostasie de l'organisme (**Jouzeau, et al., 2004**)

A l'inverse la COX-2 est inductible, et n'est activée que par les facteurs d'inflammation que sont les cytokines et les polysaccharides, en réponse à une réaction inflammatoire (**Kirkiacharian, 2010**). Une nouvelle tournure a été ajoutée à l'histoire de COX en 2002 avec la découverte d'une troisième isoforme COX-3, leur étude chez les chiens a montré que la COX-3 était présente comme alternative variante d'épissage de la COX-1 (**Chandrasekharan, et al., 2002**) (Tableau 2).

**Tableau 2: Différentes isoformes COX1 et COX 2 (Jouzeau, et al., 2004)**

Type d'enzyme	COX-1	COX -2
	Constitutive	Inductible
Rôle	Maintien de l'homéostasie de l'organisme	Réponse à une réaction inflammatoire
	Présente dans l'estomac, Reins, Plaquette et la plupart des tissus	Activé par des stimuli comme les cytokines, présente dans les cellules chondrocytes, les monocytes, macrophage, Polynucléaire

### I.3.2. Prostaglandines

Les prostaglandines et le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), appelés collectivement prostanoides, se forment lorsque l'acide arachidonique (AA), un acide gras insaturé à 20 atomes de carbone, est libéré de la membrane plasmique par les phospholipases (PLA) et métabolisé par les actions séquentielles de la prostaglandine G / H synthase, ou les deux isoformes cyclooxygénase 1 et 2 (COX1 et COX2), et des synthases respectives (Figure 4) (**Praveen et Edward, 2008**).

Il existe quatre principales prostaglandines bioactives générées in vivo : la prostaglandine (PG) E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), la prostacycline (PGI<sub>2</sub>), la prostaglandine D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) et la prostaglandine F<sub>2a</sub>

(PGF<sub>2</sub>a) (Praveen et Edward, 2008). Ils sont généralement produits de manière omniprésente, chaque type de cellule génère un ou deux produits dominants et agit comme médiateurs lipidiques autocrines et paracrines pour maintenir l'homéostasie locale dans le corps (Jouzeau, et al., 2004).

Au cours d'une réponse inflammatoire, le niveau et le profil de la production de prostaglandines changent considérablement. La production de prostaglandine est généralement très faible dans les tissus non enflammés, mais augmente immédiatement dans l'inflammation aiguë avant le recrutement des leucocytes et l'infiltration des cellules immunitaires (Jouzeau, et al., 2004).

La présence des protanoïdes dans plusieurs organes tel que le tractus gastro-intestinal en grandes quantités et a été suggéré a pour but de maintenir l'intégrité de la muqueuse (Tableau 3) (Jouzeau, et al., 2004).

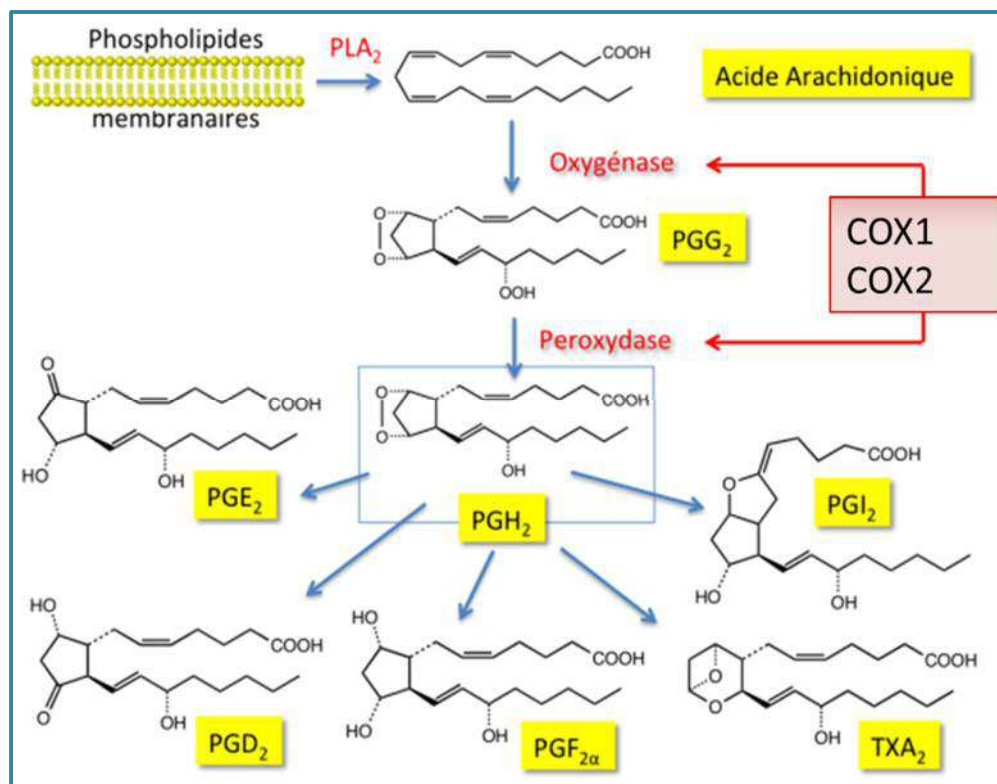


Figure 4: Schémas résume la synthèse des prostaglandines via les enzymes cyclooxygénases (Praveen et Edward, 2008).

**Tableau 3: Présence des prostanoïdes dans différents organes (Jouzeau, *et al.*, 2004)**

Prostanoïdes	Tissus/ types cellulaire
<b>PGI2</b>	Endothélium, Reins, Cerveau, Plaquettes
<b>PGE2</b>	Cerveau, Rein, Muscles lisse périvasculaires.
<b>PGD 2<math>\alpha</math></b>	Voies Aériennes, Utérus, Œil, Muscles lisse périvasculaires.
<b>PGD2</b>	Mastocytes, Cerveau, Voies Aériennes.
<b>TXA2</b>	Plaquettes, Muscles lisses périvasculaire, macrophages, Reins

### I.3.3. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action des AINS est l'inhibition de la production de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique par acétylation réversible ou irréversible de la cyclo-oxygénase. La cyclooxygénase (COX) est présente dans au moins deux isoformes (COX-1 et COX-2) et est dispersée le corps. L'isoforme COX-1 est constitutive, provoquant l'hémostase, l'agrégation plaquettaire et la production de prostacycline, qui protège la muqueuse gastrique. L'inhibition de l'isoforme COX-1 peut être responsable des effets indésirables liés aux AINS non sélectifs (**Burke et Garret , 2011**).

L'isoforme COX-2 est inductible par des stimuli pro-inflammatoires et des cytokines provoquant de la fièvre, de l'inflammation et de la douleur et donc la cible d'antipyrétique, d'anti-inflammatoire et d'analgésie par les AINS (**Lynch et Brogden , 1986**). COX-1, comme l'isoforme constitutive, est nécessaire pour les fonctions normales et se trouve dans la plupart des types de cellules. La COX-1 intervient dans la production de prostaglandines essentielles dans les processus homéostatiques de l'estomac (protection gastrique), des reins et de l'agrégation plaquettaire. La COX-2 est généralement considérée comme une enzyme inductible, induite par des processus pathologiques tels que la fièvre, la douleur et l'inflammation (**Seibert *et al.*, 1994**). La COX-2, bien qu'étant l'isoforme inductible, est exprimée dans des conditions normales dans

un certain nombre de tissus, qui comprennent probablement le cerveau, les testicules et les reins. Dans les états inflammatoires, la COX-2 s'exprime dans les macrophages et autres cellules propageant le processus inflammatoire **(Seibert *et al.*, 1994)**.

La douleur associée à l'inflammation et à la production de prostaglandines résulte de la production de prostanoïdes dans les tissus corporels enflammés qui sensibilisent la terminaison nerveuse et conduisent à la sensation de douleur **(Gordon *et al.*, 2002)**.

Des recherches plus récentes indiquent que les AINS ont des mécanismes d'action périphériques et centraux **(Cashman, 1996)**.

En Périphérie, les prostaglandines contribuent à l'hyperalgésie en sensibilisant les terminaisons nerveuses sensorielles nociceptives à d'autres médiateurs (tels que l'histamine et la bradykinine) et en sensibilisant les nocicepteurs pour répondre aux stimuli non nociceptifs (par exemple : le toucher) **(Bjorkman , 1995)**.

L'inflammation périphérique induit une augmentation substantielle de l'expression de la COX-2 et de la prostaglandine synthase dans le système nerveux central. Au niveau central, les prostaglandines sont reconnues pour avoir des actions directes au niveau de la moelle épinière favorisant la nociception, notamment les terminaisons des neurones sensoriels dans la corne dorsale **(Kroin *et al.*, 2002)**. La COX-1 et la COX-2 sont exprimées constitutivement dans les ganglions de la racine dorsale et dans la matière dorsale et ventrale grise, mais l'inhibition de la COX-2 et non de la COX-1 réduit l'hyperalgésie **(Svensson et Yaksh, 2002)**.

De plus, la cytokine pro-inflammatoire interleukine-1bêta (IL-1b) joue un rôle majeur dans l'induction de la COX-2 dans les cellules inflammatoires locales en activant le facteur de transcription NF-kB **(Svensson et Yaksh, 2002)**. Dans le système nerveux central (SNC), IL-1b provoque une augmentation de la production de COX-2 et de PGE<sub>2</sub>, produisant une hyperalgésie, mais ce n'est pas le résultat de l'activité neurale des fibres sensorielles innervant le tissu enflammé ou de l'IL-1b systémique dans le plasma **(Samad *et al.*, 2002)**.

L'inflammation périphérique produit probablement d'autres molécules signales qui entrent dans la circulation, traversant la barrière hémato-encéphalique et agissent pour augmenter le taux du IL-1b, conduisant à l'expression de la COX-2 dans les neurones et les cellules non neuronales de nombreuses régions de la moelle épinière **(Svensson et Yaksh , 2002 ; Samad *et al.*, 2002)**.

À l'heure actuelle, les preuves suggèrent que l'interleukine-6 (IL-6) déclenche la formation d'IL-1 b dans le système nerveux central, ce qui entraîne à son tour une production accrue de COX-2 et PGE 2 (Svensson et Yaksh, 2002).

#### **I.3.4. Classification des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens**

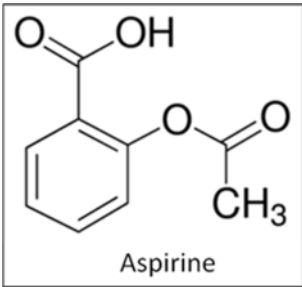
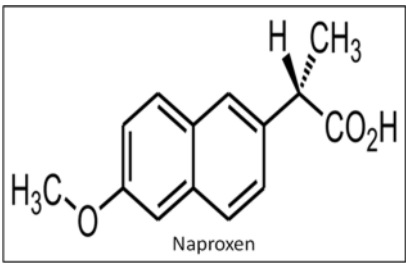
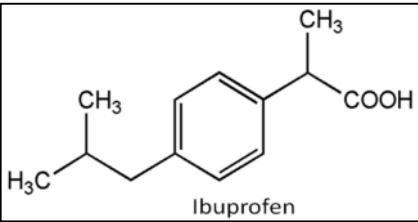
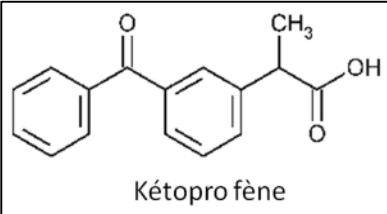
Les agents anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissent par inhibition de la cyclooxygénase (COX), qui intervient dans la production de prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes à partir de l'acide arachidonique (Praveen et Edward, 2008).

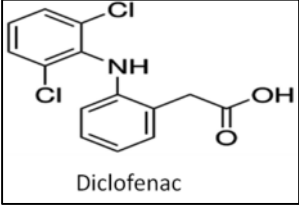
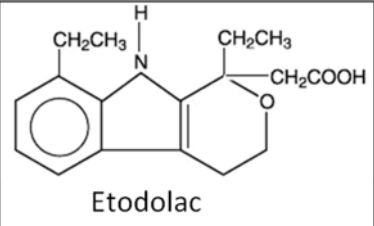
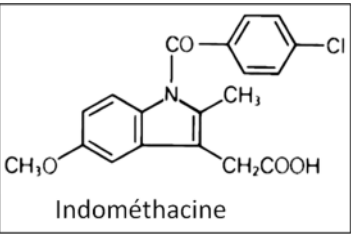
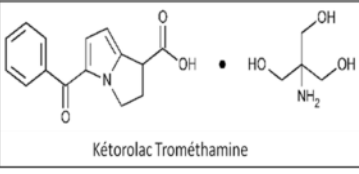
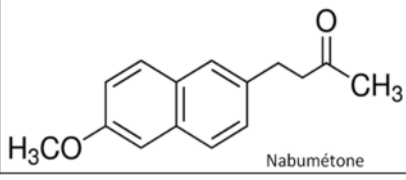
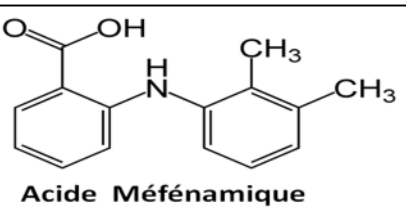
Les AINS peuvent être classés sur la base de leur structure chimique. En raison de leurs caractéristiques structurelles (Tableau 4).

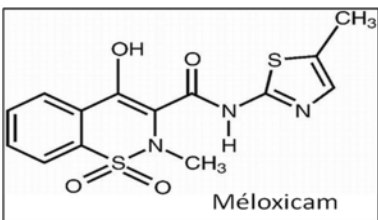
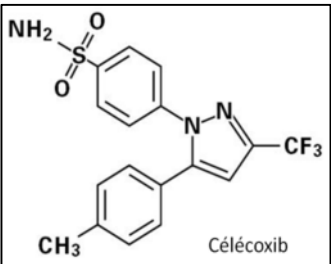
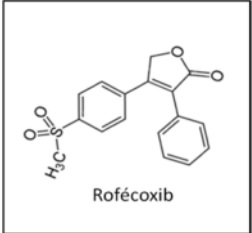
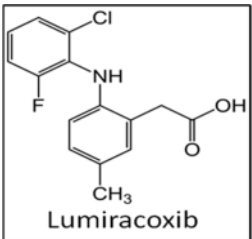
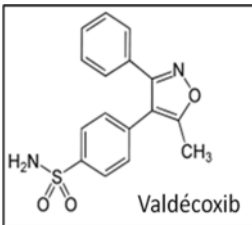
Selon **Dhingra (2015)**, les AINS sont caractérisés par les propriétés suivantes :

- \* La plupart des AINS sont des acides organiques forts dont le pKa est compris entre 3 et 5 et sont des acides carboxyliques. Le groupe acide est essentiel à l'activité inhibitrice de la COX.
- \* Les AINS diffèrent par leurs lipophilicités en fonction du caractère lipophile de leurs groupes aryle et de leurs groupements et substituants lipophiles supplémentaires.
- \* Le groupe acide de ces composés sert comme groupe de liaison ionique avec les protéines plasmiques. Ainsi, tous les AINS sont fortement liés par les protéines plasmiques.
- \* Le groupe acide sert également de site majeur de métabolisme par conjugaison. Ainsi, une voie majeure de clairance pour de nombreux AINS est la glucuronidation (**Dhingra, 2015**).

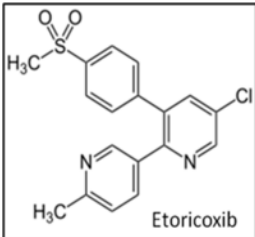
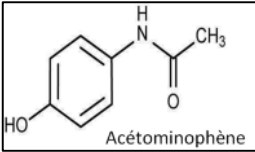
**Tableau 4: Classification des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et leurs principales actions (Burke et Garret, 2011).**

Familles	Noms	Structures	Action
Salicylates	<b>Aspirin</b> L'acide acétylsalicylique (AAS)	 Aspirine	Analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire
Acide propionique	<b>Naproxen</b>	 Naproxen	Traitement de l'arthrite et d'autres maladies inflammatoires.
Ibuprofène	<b>Ibuprofène</b>	 Ibuprofen	Traitement des maux de tête et de la migraine, des douleurs menstruelles et de la douleur postopératoire aiguë
Ibuprofène	<b>Ketoprofen</b>	 Kétoprofène	Soulagement de la douleur et la différence d'intensité de la douleur dans le traitement de la douleur postopératoire modérée ou sévère et de la lombalgie aiguë

<p><b>Acide Acétique</b></p>	<p><b>Diclofenac</b></p>	 <p>Diclofenac</p>	<p>Traitement de la douleur et anti-inflammatoire</p>
	<p><b>L'étodolac</b></p>	 <p>Etodolac</p>	<p>Traitement de la douleur et anti-inflammatoire</p>
	<p><b>Indométhacine</b></p>	 <p>Indométhacine</p>	<p>Traitement de la douleur et anti-inflammatoire</p>
	<p><b>Ketorolac Trométhamine</b></p>	 <p>Kétorolac Trométhamine</p>	<p>Traitement la douleur légère à sévère à la suite d'interventions chirurgicales majeures,</p>
	<p><b>Nabumétone</b></p>	 <p>Nabumétone</p>	<p>Traitement de l'arthrite</p>
<p><b>Acide anthranilique</b></p>	<p><b>Acide méfénamique</b></p>	 <p>Acide Méfénamique</p>	<p>Traitement de la douleur et anti-inflammatoire</p>

	<p><b>Méloxicam</b> Le dérivé d'acide énoïque</p>	 <p>Méloxicam</p>	<p>Traitement de la douleur et anti-inflammatoire</p>
<p><b>Inhibiteurs de la COX-2</b></p>	<p><b>Célécoxib</b></p>	 <p>Célécoxib</p>	<p>Analgésique central, anti inflammatoire arthrite</p>
	<p><b>Rofécoxib</b></p>	 <p>Rofécoxib</p>	<p>Analgésique central, anti inflammatoire arthrite</p>
	<p><b>Lumiracoxib et</b></p>	 <p>Lumiracoxib</p>	<p>Analgésique central, anti inflammatoire arthrite</p>
	<p><b>valdécoxib</b></p>	 <p>Valdécoxib</p>	<p>Analgésique central, anti inflammatoire arthrite</p>



	<b>Etoricoxib</b>	 <p style="text-align: center;">Etoricoxib</p>	Analgésique central, anti inflammatoire arthrite
<b>Acétamino-phène</b>	<b>Acétamino-phène</b>	 <p style="text-align: center;">Acétaminophène</p>	Analgésique et antipyrétique

### I.3.5. Toxicité et effets indésirables

Bien que les AINS soient les médicaments en vente libre les plus largement utilisés, avec une longue histoire d'utilisation, de recherche et de progrès médicamenteux, les AINS demeurent une source d'effets indésirables (**Burke et Garret, 2011**).

Les AINS non seulement partagent des actions thérapeutiques, mais aussi des effets indésirables similaires qui incluent l'ulcération et le saignement gastro-intestinal, la perturbation de la fonction plaquettaire, la rétention de sodium et d'eau, la néphrotoxicité et les réactions d'hypersensibilité (**Laffi et al., 1997**). Les effets indésirables vont de mineurs (par exemple, nausée, irritation gastrique, vertiges) à majeurs (par exemple, réaction allergique, gastro-intestinal, les dérangements rénaux et de coagulation, et le retard dans la guérison d'os) dans l'utilisation aiguë. L'utilisation chronique de ces médicaments peut augmenter les effets indésirables mineurs ou majeurs. Les trois réactions indésirables les plus fréquentes aux AINS sont gastro-intestinales, dermatologiques et neuropsychiatriques, la dernière n'étant étrangement pas liée à l'âge (**Clark et Ghose. 1992**).

# **Chapitre II Métabolites Secondaires**

## II. 1. Métabolites secondaires chez les Astéracées

Les plantes synthétisent une vaste gamme de composés organiques classifiés traditionnellement comme métabolites primaires et secondaires, bien que les limites précises entre les deux groupes puissent parfois être quelque peu floues. Les métabolites primaires sont des composés qui jouent un rôle essentiel dans la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement. Ceux-ci comprennent les phytostérols, les acyl-lipides, les nucléotides, les acides aminés et les acides organiques (Croteau *et al.*, 2000).

D'autres composés phytochimiques, dont beaucoup s'accumulent à des concentrations étonnamment élevées chez certaines espèces, sont appelés métabolites secondaires (Croteau *et al.*, 2000).

Celles-ci sont structurellement diverses et beaucoup sont réparties parmi un nombre très limité d'espèces dans le règne végétal et peuvent donc être diagnostiquées dans des études chimiotaxonomiques. Bien que ignorés depuis longtemps, leur fonction chez les plantes attire maintenant l'attention, certains semblent jouer un rôle clé dans la protection des plantes contre les herbivores et les infections microbiennes, en tant qu'attractifs pour les pollinisateurs et les animaux dispersant les graines, comme agents allélopathiques, protecteurs des rayons UV et molécules signales dans la formation des nodules racinaires fixatrices d'azote chez les légumineuses (Croteau *et al.*, 2000 ; Dewick, 2002).

Les métabolites secondaires présentent également un intérêt en raison de leur utilisation en tant que colorants, fibres, colles, huiles, cires, agents aromatisants, médicaments, et parfums ; ils sont considérés comme des sources potentielles de nouveaux médicaments naturels, antibiotiques, insecticides et herbicides (Dewick, 2002).

Ces dernières années, le rôle de certains métabolites secondaires en tant que constituants alimentaires protecteurs est devenu un domaine de plus en plus important de la recherche sur la nutrition humaine (Johnston *et al.*, 2002). Contrairement aux vitamines traditionnelles, elles ne sont pas indispensables au bien-être à court terme, mais il est de plus en plus évident que des apports modestes à long terme peuvent avoir des effets favorables sur l'incidence des cancers et de nombreuses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires et le diabète de type II (Johnston *et al.*, 2002).


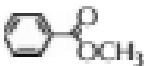

Sur la base de leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois groupes principaux (Strack, 1997) :



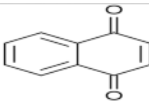
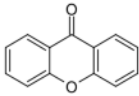
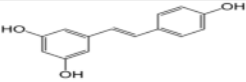
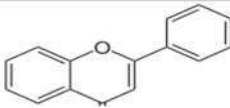
- (i) Des flavonoïdes et composés phénoliques et polyphénoliques apparentés,
- (ii) Des terpénoïdes
- (iii) Des alcaloïdes et des composés contenant du soufre et/ ou contenant de l'azote.

### II.1.1 Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques se caractérisent par le fait qu'ils possèdent au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle liés. Plus de 8 000 structures phénoliques ont été signalées et elles sont largement dispersées dans le règne végétal (Strack, 1997). Les composés phénoliques vont des composés simples, de faible poids moléculaire, à un seul noyau aromatique aux tanins complexes et de grande taille, en passant par les polyphénols dérivés. Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone et sont généralement associés aux sucres et aux acides organiques. Les phénoliques peuvent être classés en deux groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Tableau 5) (Strack, 1997).

**Tableau 5: Structure des squelettes des composés phénoliques et polyphénoliques (groupes hydroxyle non représentés) (Strack, 1997).**

Nombre de carbone	Squelette	Classification	Exemple	Structure basique
7	C6-C1	Phenolic acids	Gallic acid	
8	C6-C2	Acetophenones	Gallacetophenone	
8	C6-C2	Phenylacetic acid	<i>p</i> -Hydroxyphenyl-acetic acid	

9	C6-C3	Hydroxycinnamic acids	<i>p</i> -Coumaric acid	
9	C6-C3	Coumarins	Esculetin	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferin	
14	C6-C2-C6	Stilbenes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoids	Naringenin	

### II.1.1.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques à quinze atomes de carbone, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones (Figure 5). Ils sont les plus nombreux des composés phénoliques et se retrouvent dans tout le règne végétal (**Harborne, 1993**). Ils sont présents à des concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits et jouent un rôle important et varié en tant que métabolites secondaires. Chez les plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans divers processus tels que la protection UV, la pigmentation, la stimulation des nodules fixateurs d'azote et la résistance aux maladies (**Koes *et al.*, 1994**).

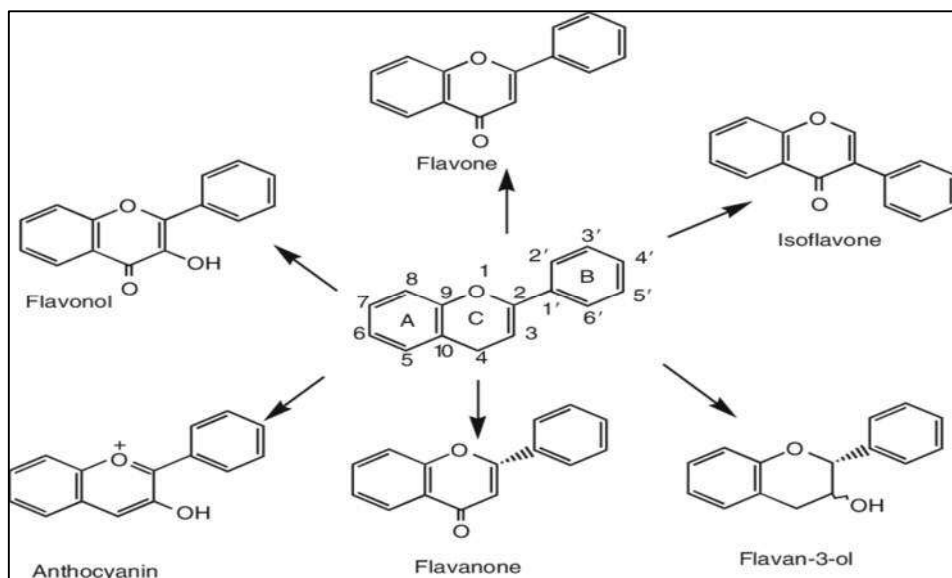


Figure 5: Squelette de base pour les flavonoïdes (Panche *et al.*, 2016)

Les principales sous-classes de flavonoïdes sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (figure 5) (Panche *et al.*, 2016). Les autres groupes de flavonoïdes, qui sont quantitativement des composants mineurs dans les plantes, sont les dihydroflavonols, les flavan-3,4-diols, les coumarines, les chalcones, les dihydrochalcones et les aures (Figure 6). Le squelette flavonoïde de base peut avoir de nombreux substituants. Les groupes hydroxyle sont généralement présents au 4, 5 et 7 positions. Les sucres sont très communs avec la majorité des flavonoïdes existants naturellement sous forme de glycosides. Alors que les sucres et les groupes hydroxyle augmentent la solubilité dans l'eau des flavonoïdes, d'autres substituants, tels que les groupes méthyle et les unités isopentyle, rendent les flavonoïdes lipophiles (Panche *et al.*, 2016).

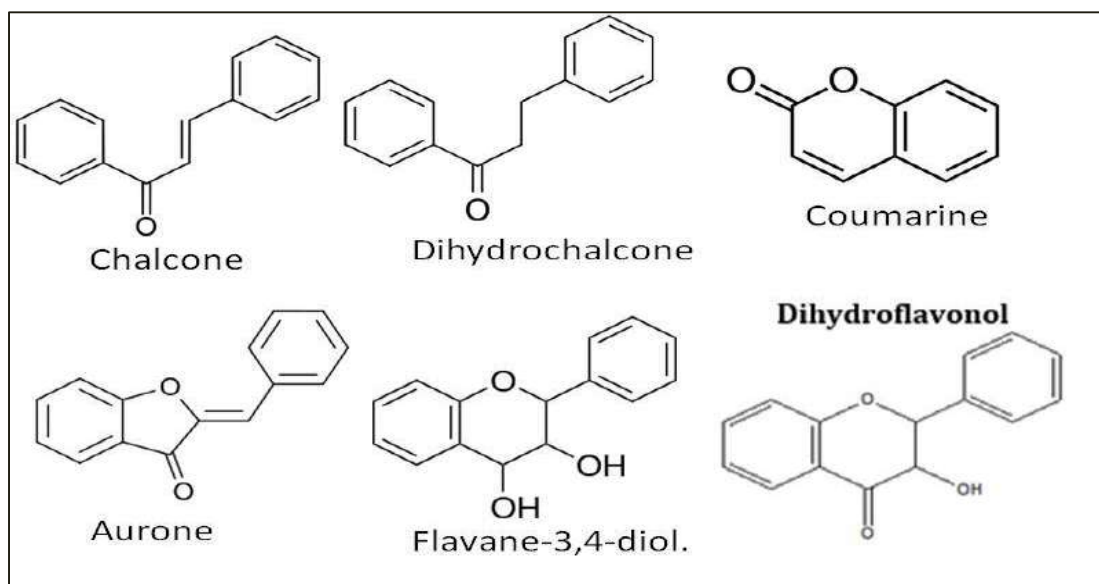


Figure 6: Autres groupes de flavonoïdes, qui sont quantitativement des composants mineurs dans les plantes (Harborne, 1993).

### II.1.1.2. Flavonols

Les flavonols sont sans doute le plus répandu des flavonoïdes, tels que la myricétine, la quercétine, et le kaempférol (Figure 7) se trouvent le plus souvent sous forme de O-glycosides (Harbone, 1993)

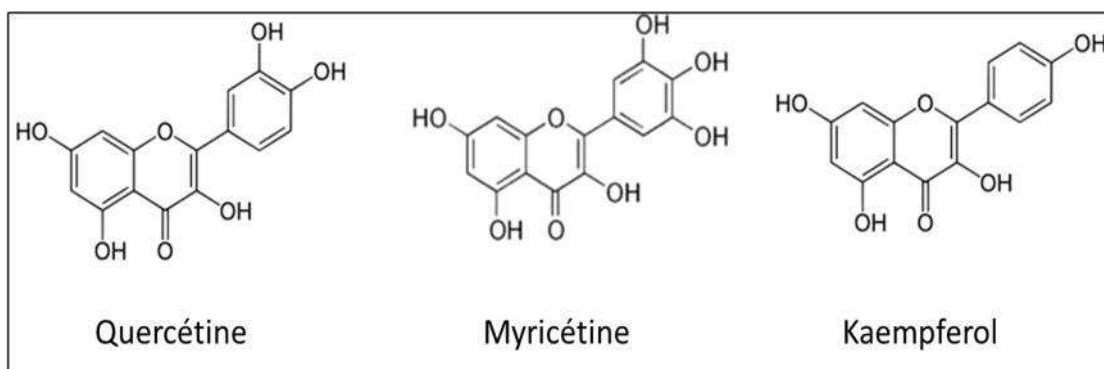


Figure 7: Structures de quelques exemples de flavonols (Harborne, 1993).

### II.1.1.3. Flavones

Les flavones ont une relation structurelle très étroite avec les flavonols (Figure 5 ; Figure 8). Bien que les flavones, telles que la lutéoline et l'épigénine (**Harborne, 1993**).

La plupart des flavones se présentent sous forme de 7-O-glycosides. Contrairement aux flavonols, les flavones ne sont pas largement distribuées dans les plantes ; De plus, des flavones polyméthoxylées, telles que la nobilétine et la tangerétine, ont été trouvées dans des espèces d'agrumes et beaucoup de recherches se fait sur leurs activités bénéfiques sur la santé humaine et comme des futures médicaments (**Gaitan et al. 1989**).

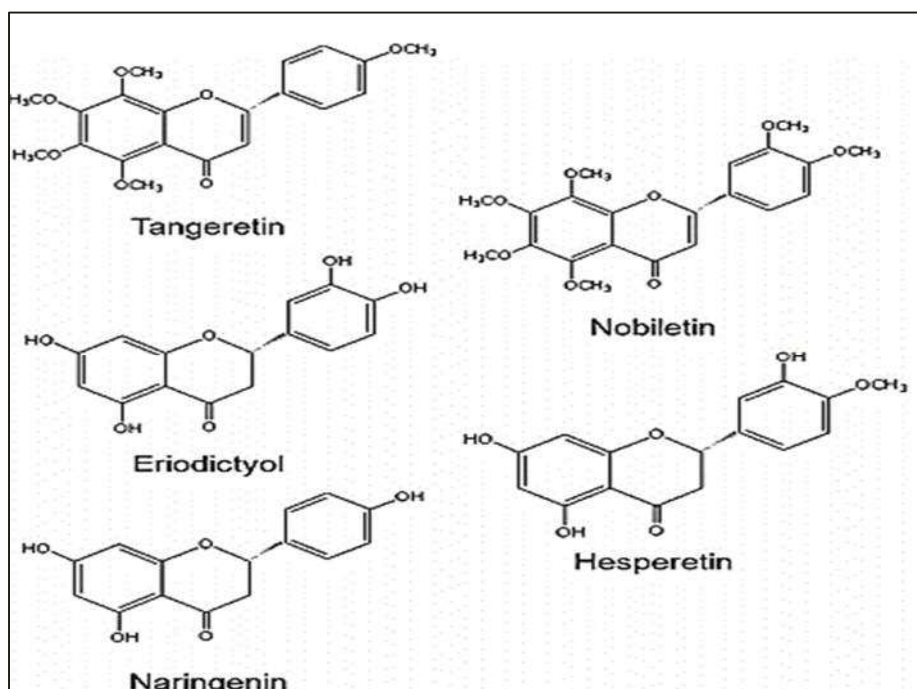


Figure 8: Structure de quelques exemples de Flavones (**Gaitan et al. 1989**).

### II.1.1.4. Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols constituent la sous-classe la plus complexe de flavonoïdes, allant des monomères simples (+) - catéchine et son isomère (-) - épicatechine aux proanthocyanidines oligomères et polymères (Figure 9), également appelées tanins condensés (**Clifford, 1986**). On leur confère la propriété rédox ou leur capacité à piéger de petits radicaux non encombrés et la capacité d'interagir avec les enzymes et les récepteurs (**Unno. 2000**).



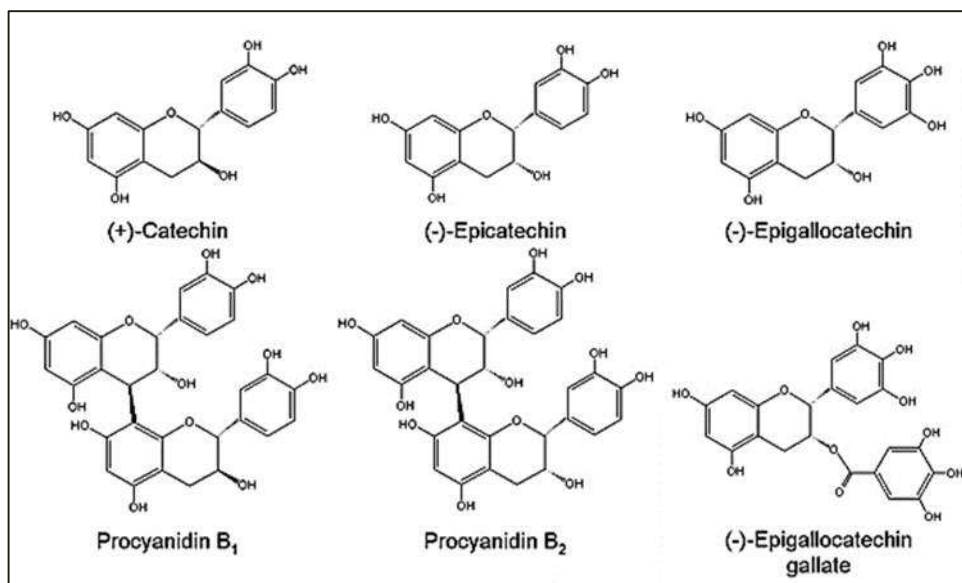



Figure 9 : Structure de quelques exemples de flavan-3-ol (Clifford, 1986).

### II.1.1.5. Anthocyanidines

Les anthocyanidines, principalement leurs dérivés conjugués, les anthocyanines, sont largement dispersées dans tout le règne végétal, particulièrement dans les tissus des fruits et des fleurs où elles sont responsables des couleurs rouge, bleue et violette. En outre, ils se trouvent également dans les feuilles, les tiges, les graines et le tissu racinaire. Ils participent à la protection des plantes contre la lumière excessive en ombrageant les cellules du mésophylle des feuilles et ont également un rôle important à jouer pour attirer les insectes pollinisateurs (Crozier *et al.*, 2006)

Les anthocyanidines les plus courantes sont la pélagonidine, la cyanidine, la delphinidine, la peonidine, la pétunidine et la malvidine (Tableau 6). Dans les tissus végétaux, ces composés se retrouvent invariablement sous forme de conjugués de sucre appelés anthocyanes (Figure 10) (Crozier *et al.*, 2006).

Tableau 6: Structure de base des anthocyanidines et ses substituants (Balentine *et al.* 1997)

Basic structure	Anthocyanidin	R <sub>3</sub> '	R <sub>4</sub> '	R <sub>5</sub> '	R <sub>3</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
	Aurantinidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
	Cyanidin	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
	Delphinidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
	Europinidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OH
	Pelargonidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
	Malvidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-H	-OH
	Peonidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
	Petunidin	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-H	-OH
	Rosinidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH <sub>3</sub>

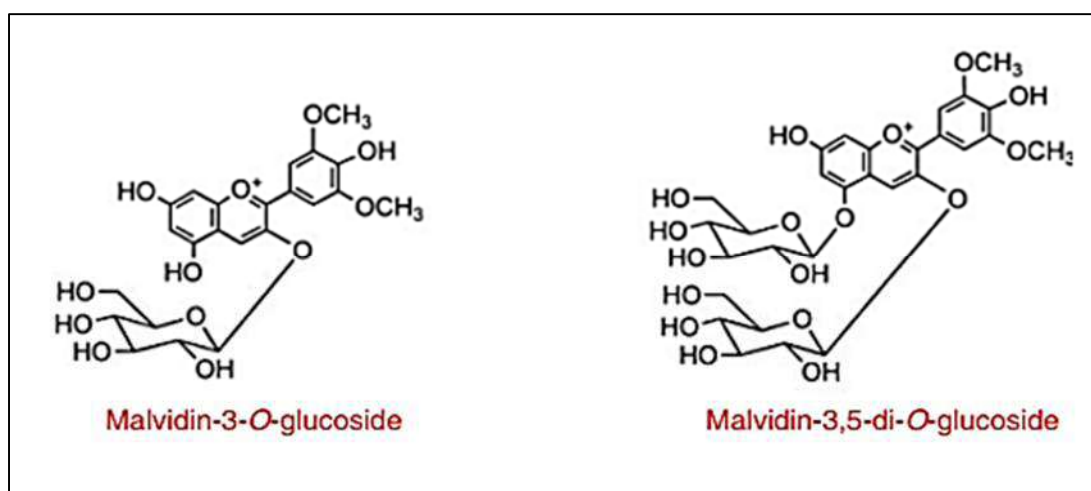


Figure 10: Exemple des structures d'anthocyanines : malvidin-3-O-glucoside conjugué (Balentine *et al.* 1997).

### II.1.1.6. Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de double liaison 2,3 et la présence d'un centre chiral en C2 (Figure 5). Dans la majorité des flavanones d'origine naturelle, le cycle C est lié au cycle B en C2 dans la configuration  $\alpha$ . La structure de la flavanone est très réactive et il a été rapporté qu'elle subissait des réactions d'hydroxylation, de glycosylation et d'O-méthylation

(Hasegawa *et al.*, 2000). Les flavanones sont des composants alimentaires particulièrement présents en concentration élevée dans les agrumes ;Le glycoside de flavanone le plus commun est l'hespéretine-7-O-rutinoside (hespéridine), que l'on retrouve dans les zestes d'agrumes (Figure 11) ont un goût amer (Hasegawa *et al.* 2000).

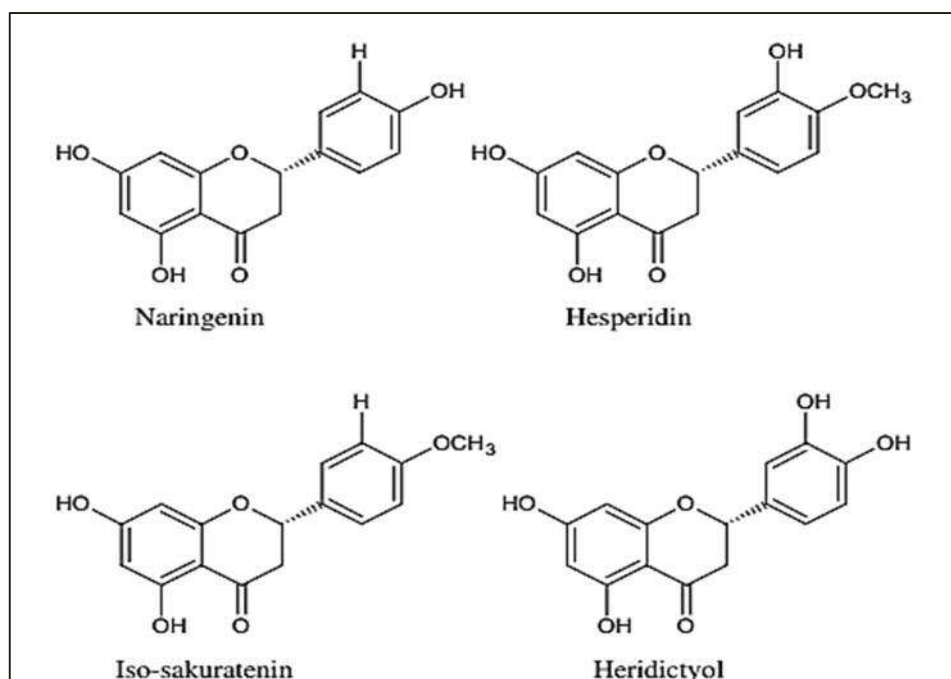


Figure 11: Structure de quelques exemples des flavanones (Hasegawa *et al.*, 2000).

#### II.1.1.7. Isoflavones

Les isoflavones se caractérisent par le fait que l'anneau B est fixé en position C3 plutôt qu'en position C2 (Figure 5). On les trouve presque exclusivement dans les légumineuses, les plus fortes concentrations se trouvant dans le soja (*Glycine max*) (Crozier *et al* 2006). Les isoflavones : la génistéine, la daidzéine, le coumestan et le coumestrol (Figure 12), de la luzerne et du trèfle (*Trifolium spp*) ont une activité œstrogénique suffisante pour nuire gravement à la reproduction de pâturages tels que vaches et moutons, appelés phyto-œstrogènes (Figure 12) qui bloquent l'ovulation. La consommation de légumineuses par les animaux doit donc être restreinte ou des variétés produisant peu d'isoflavonoïdes doivent être sélectionnées (Crozier *et al* 2006).

La consommation alimentaire de génistéine et de daidzéine à partir de produits à base de soja réduirait l'incidence des cancers de la prostate et du sein (Figure 12) (Liggins *et al.*, 2000).

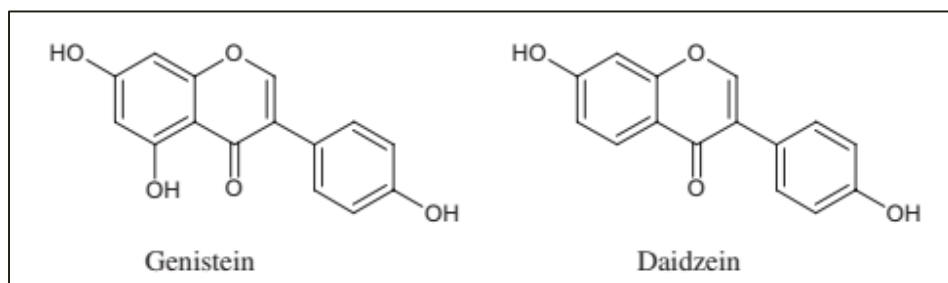


Figure 12: Structure chimique de quelques exemples des isoflavones (Crozier *et al.*,2006).

#### II.1.1.8. Non-flavonoïdes

Les principaux non-flavonoïdes ayant une importance diététique sont les acides phénoliques en C6 à C1, notamment l'acide gallique, précurseur des tanins hydrolysables, les hydroxycinnammates en C6 à C3 et leurs dérivés conjugués, ainsi que les stilbènes polyphénoliques en C6 à C2 à C6 (Tableau 4) (Strack, 1997).

##### II.1.1.8.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont également appelés hydroxybenzoates, le composant principal étant l'acide gallique. Le nom dérive du mot français galle, qui signifie un gonflement dans les tissus d'une plante après une attaque d'insectes parasites. Le gonflement provient d'une accumulation de glucides et d'autres nutriments qui favorisent la croissance des larves d'insectes. Il a été rapporté que la composition phénolique de la galle se composait d'esters d'acide gallique jusqu'à 70% (Gross, 1992). L'acide gallique est l'unité de base des gallotannins, tandis que la fraction acide gallique et hexahydroxydiphényle sont les deux sous-unités des ellagitannins. Les gallotannins et les ellagitannins sont appelés tanins hydrolysables et, comme leur nom l'indique, ils se décomposent facilement en libérant de l'acide gallique et / ou de l'acide ellagique, par traitement à l'acide dilué, alors que les tanins condensés ne le sont pas (Kumar et Pandey, 2013).

Les tanins condensés et les tanins hydrolysables sont capables de se lier aux protéines de collagène dans les peaux d'animaux et de les précipiter. Cela change la peau en cuir le rendant résistant à la putréfaction. Les tanins d'origine végétale constituent donc la base de l'industrie du bronzage depuis de nombreuses années (Kumar et Pandey, 2013).

### a) Hydroxycinnamates

L'acide cinnamique est un composé en C6-C3 qui est converti en une gamme d'hydroxycinnamates qui, comme ils sont des produits de la voie phénylpropanoïde, sont appelés collectivement phénylpropanoïdes (Ichikawa *et al.*, 2003). Les hydroxycinnamates les plus courants sont les acides p-coumarique, caféique et férulique qui s'accumulent souvent sous la forme d'esters de tartrate, d'acide coutarique, d'acide caftarique et d'acide fertarique (Figure 13). Les conjugués d'acide quinique et d'acide caféique, tels que les acide 3-, 4- et 5-O-caféoylquinique, sont des composants communs des fruits et des légumes (Kumar & Pandey, 2013).

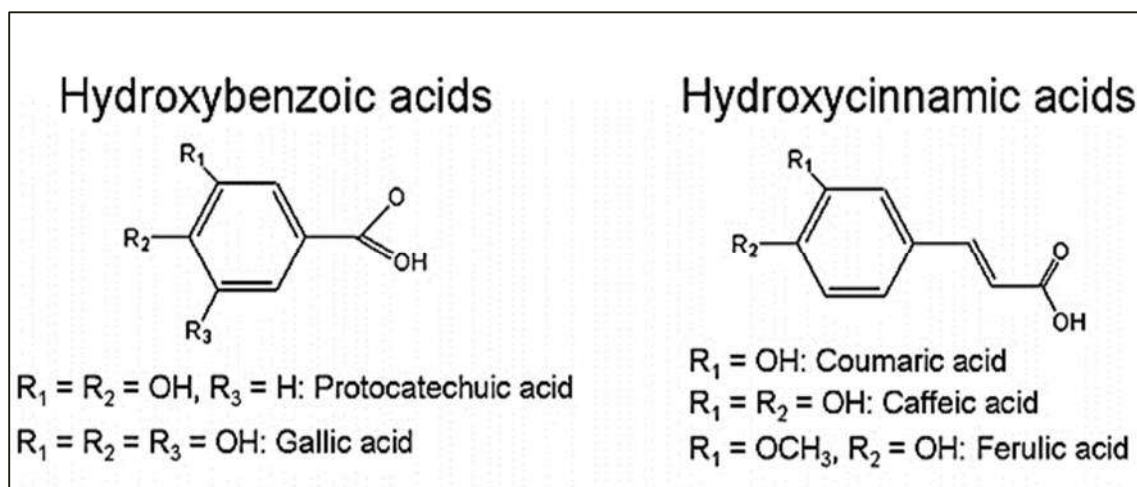


Figure 13: Structure chimique de quelques Exemples des hydroxycinnamates (Ichikawa *et al.*, 2003)

### b) Stilbènes

Les membres de la famille des stilbènes qui ont la structure C<sub>6</sub> – C<sub>2</sub> – C<sub>6</sub> (Tableau 4), comme les flavonoïdes, sont des composés polyphénoliques. Les stilbènes sont des phytoalexines, des composés produits par les plantes en réponse à l'attaque d'agents pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Le resvératrol est le stilbène le plus commun. Il se présente sous forme d'isomères cis et trans et est présent dans les tissus végétaux principalement sous forme de trans-resvératrol-3-O-glucoside, connu sous le nom de piceid et polydatine (Figure 14), il existe également une famille de polymères de resvératrol, les viniférines, (Burns *et al.*, 2002).

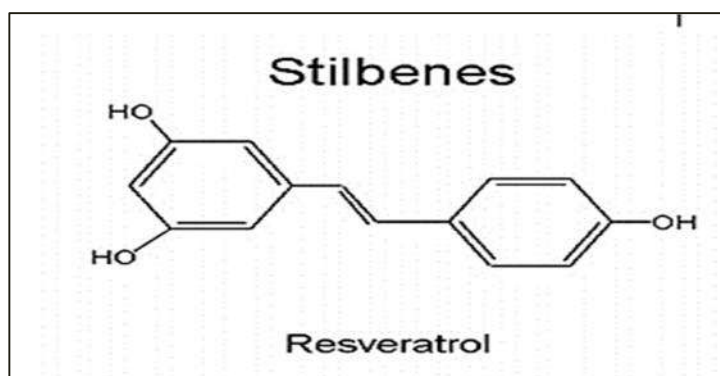


Figure 14: Structure chimique de quelques exemples des stilbènes (Burns *et al.*, 2002).

#### II.1.2.Terpènes

Les terpènes, ou isoprénoïdes, font partie des classes de métabolites les plus diverses. Le Dictionary of Natural Products (Buckingham, 2004) recense plus de 30 000 sources, principalement d'origine végétale, comprenant des arômes et des parfums, des antibiotiques, des hormones végétales et animales, des lipides membranaires, des attractifs pour insectes et des antifédants, ainsi que des médiateurs des processus essentiels de transport des électrons, voir les étapes génératrices d'énergie de la respiration et de la photosynthèse (Dewick 2002).

En outre, les motifs terpénoïdes sont des caractéristiques structurales et fonctionnelles récurrentes de nombreux produits naturels bioactifs, allant de la chaîne latérale du phytol des chlorophylles au squelette diterpénoïde du médicament anticancéreux Taxol, en passant par la principale unité structurale du tétrahydrocannabinol, le composant bioactif majeur de la marijuana (Figure 15) (Dewick 2002).

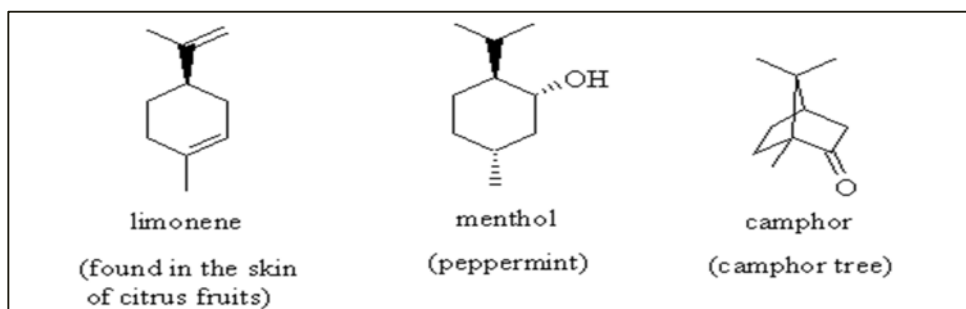
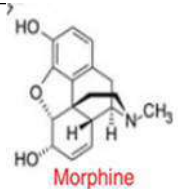

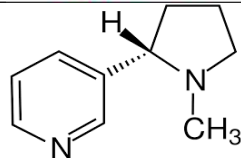
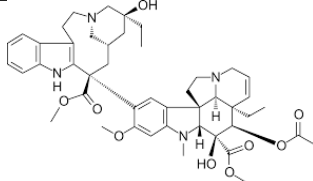
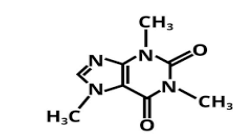
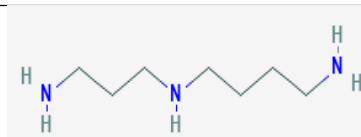
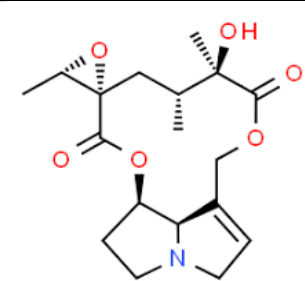


Figure 15 : Structure chimique de quelques exemples terpènes (Humphrey & Beale, 2006)

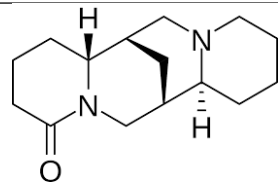
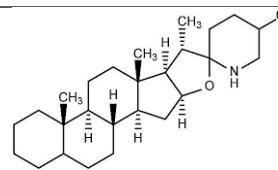
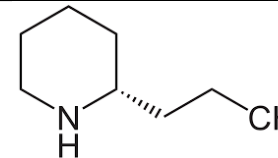
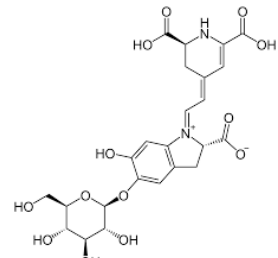
### II.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés de faible poids moléculaire contenant de l'azote, dérivés principalement d'acides aminés et trouvés chez environ 20% des espèces de plantes. En tant que métabolites secondaires, les alcaloïdes joueraient un rôle défensif dans la plante contre les herbivores et les agents pathogènes. En raison de leurs activités biologiques puissantes, bon nombre des quelque 12 000 alcaloïdes connus d'être exploités en tant que produits pharmaceutiques, stimulants, stupéfiants et poisons (Wink, 1998). Les alcaloïdes dérivés de plantes actuellement utilisés en clinique comprennent les analgésiques morphine et codéine, la vinblastine, agent antinéoplasique, la colchicine, un myorelaxant, les relaxants musculaires (+) - tubocurarine et papavérine, la scopolamine antiarythmique et la scopolamine. Parmi les autres alcaloïdes d'origine végétale bien connus figurent la caféine, la nicotine et la cocaïne, ainsi que l'héroïne synthétique, dérivé de la morphine O-diacétylée (Facchini, 2001) (Tableau7).

Tableau 7: Classification des familles d'alcaloïde

N°	Famille	Nom	Structure	Source plantes	Références
1	<b>Benzyloquinoléine</b>	Morphine	 Morphine	Papaver somniferum	Zulak <i>et al.</i> , 2006
2	<b>Tropane</b>	Scopolamine	 Scopolamine	Datura stramonium	Scholl <i>et al</i> 2001
3	<b>Nicotine</b>	Nicotine		<i>Nicotiana tabacum</i>	Musk et de Klerk 2003
4	<b>Indoliques terpénoïdes</b>	Vinblastine		Catharanthus roseus	Van der Fits, <i>et al.</i> , 2000.
5	<b>Purines</b>	Caffeine		<i>Nicotiana tabacum</i>	Ashihara & Crozier , 2001
6	<b>pyrrolizidine</b>	Spermidine		Famille : asteraceae	Ober & Hartmann, 1999)
7	<b>pyrrolizidine</b>	Jacobine		Seneciojacobaeae	(Graser, & Hartmann, 2000)



8	<b>quinolizidine</b>	Lupanine		Lupinus spp.	(Ruiz, et Sotelo, 2001)
9	<b>Glycoalcaloïdes stéroïdiens</b>	spirosolane		Solanum tuberosum	Friedman et al. 2003)
10	<b>Coniine</b>	Coniine		Conium maculatum	Dewick 2002).
11	<b>Betalains</b>	Bétacyanines		Principaux pigments des fleurs, des fruits et des tissus végétatifs	(Strack et al., 2003).

## II.2. Description phytochimique

La famille des astéracées (Compositae), connue sous le nom de famille des asters, des marguerites ou des tournesols, est l'une des plus grandes familles d'angiospermes des plantes à fleurs dicotylédéniques. Il comprend environ 1400 genres et plus de 25000 espèces de plantes herbacées, arbustes et arbres, répartis dans le monde entier et classés en trois sous-familles et 17 tribus dans le monde (Bremer, 1994). Les plantes Asteraceae ont tendance à pousser dans des endroits ensoleillés, dans les régions tempérées et subtropicales.

Le genre *Launaea* Cass. appartient à la tribu des *Lactuceae* de la famille des Asteraceae et contient environ 54 espèces en Algérie, dont la plupart sont adaptées à un environnement aride, salines et sableuses (Ozenda, 2004). Les plantes de ce genre ont plusieurs rangées de tiges, des

feuilles sans poil incisées en lobes, elles-mêmes bordées de dents blanches, des écailles membraneuses sur les bords, des ligules jaunes et une chaîne allongée, prismatiques ou légèrement aplaties.

Le genre *Launaea* est représenté dans la flore algérienne par neuf espèces, dont cinq espèces endémiques d'Afrique du Nord :

*L. angustifolia*, *L. quercifolia* et *L. cassiniana* sont les plantes endémiques de l'Afrique du Nord, à répartition limitée (Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 2004) alors que *L. acanthoclada* et *L. arborescens* sont deux plantes endémiques du nord-ouest de l'Afrique. Les quatre autres espèces *L. nudicaulis* et *L. residifolia* poussent en Algérie et en Tunisie dans la mer Méditerranée, alors que *L. glomerata* et *L. mucronata* poussent dans l'Atlas saharien (Quezel, et Santa, 1963).

Trois de ces espèces sont utilisées dans l'ethnopharmacopée du Sahara algérien comme plantes médicinales, *L. nudicaulis*, *L. residifolia* et *L. arborescens* qui sont endémique du sud-ouest algérien et du sud-est marocain (Chériti, et al., 2006).

### II.2. 1. *Launaea nudicaulis*

*Launaea nudicaulis* (L.). Hook.f. (nom vernaculaire est Reghama) est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les brûlures gastriques, les douleurs à l'estomac, la constipation, pour soulager la fièvre chez les enfants, pour le traitement des démangeaisons de la peau et de l'eczéma. La plante est appréciée par le bétail, principalement par le chameau (Bellakhdar, 1997 ; Cheriti et al., 2006).

les synonymes homotypiques selon la base de données du le conservatoire des jardin de la ville de Genève : (<http://www.village.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=fr&id=96692>)

*Sonchus nudicaulis* (L.) Sch. Bip.

*Lactuca nudicaulis* (L.) Murray (1780)

*Chondrilla nudicaulis* L. (1771)

*Rhabdotheca nudicaulis* (L.) Pomel (1875)

*Zollikoferia nudicaulis* (L.) Boiss. (1875)

*Microrhynchus nudicaulis* (L.) Less. (1832)

*Atalanthus nudicaulis* (L.) Pomel (1874)

**Tableau 8 : Récapitulatif des métabolites secondaires de *Launaea nudicaulis***

Ordre	Nom	Famille	Références
1	$\beta$ -sitosterol,	Phytostérol	<b>Behari <i>et al.</i>, 1980</b>
2	Brassicasterol,		
3	Campesterol,		
4	Stigmasterol, fucosterol,		
5	24 $\beta$ - $\Delta$ 7-ergosten-3 $\beta$ -ol		
6	Stigmasta-7,24(28)-dien-3-ol		<b>Bahadur <i>et al.</i>, 1974</b>
7	Acide palmitique		
8	Acide oleique		
9	Acide linoléique		<b>Majumdar <i>et al.</i>, 1982</b>
10	D(+)-xylose de glycoside et aglycone		
11	28-Isocuposterol		<b>Behari <i>et al.</i>, 1980</b>
12	$\beta$ -sitosterylacetate	Acétate	
13	Taraxasterol	Triterpène	<b>Majumdar, 1982.</b>
14	$\psi$ - taraxasterol		
15	3 $\beta$ - taraxerol		
16	$\alpha$ - amyryl		
17	Lupeol		
18	Taraxasterylacetate		<b>Zeck <i>et al.</i>,1970</b>
19	$\beta$ -amyryl		<b>Zaheer <i>et al.</i>, 2006</b>
20	Nudicauline A		
21	Nudicauline B		
22	3 $\beta$ -hydroxy-13(28)-epoxyurs-11-ene		
24	3-keto-13(28)-epoxy-urs-11-en		
25			
26	Apigenin-7-O-glucoside	Flavone glycoside	<b>Ragaa, <i>et al.</i>, 1983</b>
27	Luteolin-7-O-glucoside		
28	Luteolin-7',4'-diglucoside		

Chapitre II : Métabolites Secondaires

29	Luteolin-7-Ogentiobioside-4'-O-glucoside		
30	Cholistaquinate		
31	Pentahydroxyacetyleneanalog: trideca-12-ene-4,6-diyne-2, 8, 9,10, 11-pentaol		
32	Luteolin-7-O-rutinoside 72,	Flavone glycoside	
33	Apigenin-7-Ogentiobioside		
34	Luteolin-7-O-gentiobioside		
35	Luteolin-7,3'-diglucoside		
36	Esculetin	Coumarine	<b>Sarg <i>et al.</i>, 1986</b>
37	Cichoriin		
38	D-Limonene		<b>Jamila <i>et al.</i>, 2011.</b>
39	Beta- ocimene Y		
40	L-Linalool		
41	Z-Citral		
42	E-Citral		
43	Geranylacetate		
44	Nerylasetate		
45	Trans-Caryophyllene		
46	(Z,E)-alpha bisabolene		
47	germacrene		
48	(E,E) allpha- farnesene		
49	Germcrène		
50	Flavone-4'-OH,5-OH,7-di-O-glucoside. Dihydrotorulol	Flavonoïde	<b>Ramadan, 2017</b>
51	dihydro-isosteviolmethylester		
52	Urs-12-ene-3-one		
53	Aspidofractinin	Alcaloïde	
54	Tocopherol		

### II.2.2. *Launaea arborescens*

*Launaea arborescens* (Batt.) Murb, (syn. *Zollikoferia spinosa* DC) est un arbuste épineux presque sans feuilles, xérophile et vivace, mesurant de 40 à 120 cm. haute, avec des tiges typiques en forme de zig-zag. Les jeunes tiges sont vertes, glabres et dressées. Les plus âgés deviennent des épines dures. Les feuilles sont étroites et disséquées en petits lobes, persistantes à la base mais tombées après la floraison des tiges. Les fleurs sont jaunes et la floraison est abondante (Ozenda, 2004).

De mars à juin, mais les fleurs et les akènes sont produits tout au long de l'année. Les racines sont très profondes, les feuilles et les tiges ont un latex blanc d'apparence similaire au lait (d'où le nom local « Oumloubina» (Belboukhari *et al.*, 2007).

*Launaea arborescens* (Batt) (Nom vernaculaire : Oum Lbina) couramment utilisé en médecine populaire comme antidiarrhéique et antispasmodique, pour soulager la fièvre.

De nombreux composés phytochimiques sont de puissants effecteurs des processus biologiques et ont la capacité d'influencer le risque de maladie par le biais de plusieurs mécanismes complémentaires qui se chevauchent (Belboukhari *et al.* 2007) (Tableau 9).

Synonyme homotypique : *Zollikoferia arborescens* Batt. (1889) (<http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=fr&id=96668>)

**Tableau 9: Récapitulatif des métabolites secondaires de *Launaea arborescens***

Ordre	Produits	Famille	Références
1	Luteolin	Flavonoïde	<b>Giner <i>et al.</i>, 1992</b>
2	Luteolin-7-O- glucoside		
	Luteolin-7-O-rhamnoside		
3	Apigenin-7-O-glucoside,	Coumarine	
4	Esculetin glycoside		
5	Cichoriin	Phénol	
6	Ethyl-caffeoate		
7	Acide ferulic		
8	3β-hydroxy-11α-ethoxy-olean-12-ene)		<b>Bitam <i>et al.</i>,2008</b>
9	Guaianolides (9α- hydroxy-	Sesquiterpène	

	11 $\beta$ ,13-dihydro-3-epi-zaluzanin C, 9 $\alpha$ -hydroxy-4 $\alpha$ ,15-dihydro-zaluzanin C)		<b>Bitam <i>et al.</i>, 2008</b>
10	Costinolide		
11	(3 $\beta$ ,14-dihydroxycostunolide-3-O- $\beta$ -Gluc.		
12	3- acetyl-5-methoxy-7,3',4'-trihydroxyflavan-3-ol-8-O-glycoside	Flavonoïde	<b>Belboukhari et Cheriti. 2006.</b>
13	5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone( chrysoeriol)		
14	4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy-7,9':7,9'-diepoxylignan	Lignan	
15	Methyl-15,16-epoxy-12-oxo-8(17), 13(16), 14-ent-labdatrien-19-oate	Diterpène	
16	Hesperidin glycosides	Flavanone glycosides	<b>Belboukhari, <i>et al.</i>, 2010</b>
17	Naringin		
18	Diethylphthalate	Ester	<b>Cheriti, <i>et al.</i>, 2006</b>
19	Decanoic acid,		
20	Decyl ester		
21	3 $\beta$ ,14-dihydroxycostunolide-3-O- $\beta$ -glycol pyranoside	Germacranolide Sesquiterpene Lactones	<b>Dibi <i>et al.</i>, 2013.</b>
22	3 $\beta$ ,14-dihydroxycostunolide-3-O- $\beta$ -glycopyranosyl-14-O-hydroxyphenylacetate		
23	7-O-[ $\alpha$ -rhamnopyranosyl 4',5,6-Trihydroxy flavone .	Flavonoïde	<b>Sekkoum <i>et al.</i>, 2014</b>

	,4',5'-Di-Methoxy 7-(5''-Me Hexan)1-oyl flavanone.		
24	3''-isopropyl pyrano [1'':7,4'':6]3',4',5',5-Tetrahydroxy flavanone (3)		
	,5,4',5'-Tri-Hydroxy 7-(3''-Me butan) -ylflavanone.		
25	5,7-Dihydroxy-2',4',5' – trimethoxy-isoflavanone		
	5,5,6,7,4'-tetrahydroxy flavonol (6)		
26	,7-O-[ $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1->6)- $\beta$ -glucopyranosyl]- 4',5,7-tri-hydroxy-flavanone (7),		
27	7-O-[ $\alpha$ -rhamnopyranosyl-( 1->6) - $\beta$ -glucopyranosyl]3',5-Dihydroxy 4'-Methoxy flavanone		
34	Pentanedioicacid, dimethyl ester		
35	Eucalyptol		
36	Hexadecanol	Cheriti <i>et al.</i> , 2006	
37	Octanol		
38	$\alpha$ -Limonene diepoxide		
39	(Z)-6-Octen-2-one		
40	Heptanal		
41	3,4-Dimethylcyclohexanol		
42	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester		
43	Dibutylphthalate		
44	(Z)-3-Dodecene,		
45	Hexanedioicacid, dioctyl ester		
46	(E)-2-Heptenoic acid, ethyl ester,		

Chapitre II : Métabolites Secondaires

47	Dioctylphthalate		
48	<i>bis</i> (2-Butoxyethyl)-phthalate		
49	11-Octadecenal		
50	Decanoicacid, decyl ester		



# Chapitre III

# Matériel et Méthodes

### III.1. Introduction

Afin de mieux caractériser et valoriser les potentialités de la flore du Sahara Algérien, la présente étude recherche les activités biologiques des extraits à partir de deux plantes spontanées récoltées au Sahara du sud-ouest Algérien dans la région de Bechar soient *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*.

Dans le cadre des projets de la mise en valeurs du patrimoine local et la compréhension des habitudes de la médication des habitants de la région de la Bechar avec les plantes une enquête ethnopharmacologique a été menée.

Le travail porte aussi sur une analyse phytochimique, des extraits des deux plantes, puis évaluation des activités biologiques soient l'activité anti-inflammatoire et analgésique des extraits aqueux de *Launaea arborescens* et de *Launaea nudicaulis*.

Parmi de nombreux genres appartenant à cette famille d'Astéracées ; le genre *Launaea* est composé de 54 espèces, dont 12 espèces sont situées en Algérie (**Ozenda, 2004**).

### III.2. Présentation des Plantes

#### III.2.1. *Launaea arborescens* (Batt.) Murb

*Launaea arborescens* appartient à la famille des Asteraceae, une plante endémique et largement répandue dans le sud-ouest de l'Algérie ; un buisson jusqu'à 4 mètres de diamètre ; Les branches très épineux sont géométriques, les feuilles sont réduites sur des épines alternées, feuilles incisées en lobes étroits non denticulés ; et a une fleur jaune capitules de 1 à 2 cm de diamètre (**Ozenda, 2004**). Il peut pousser dans un sol salé et supporter des températures élevées. Présente dans le Sahara septentrionale et occidentale, au Sud jusqu'à Beni-Abbès et au Tademaït (**Ozenda, 2004**). Il croit dans des pâturages, des steppes, des rocaïlles désertiques (Figure 16).

#### III. 2.1.1. Position systématique

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Asterales

**Famille :** Asteraceae

**Sous-famille :** Cichorioideae

**Tribu :** Cichorieae

**Sous-tribu :** Hyoseridinae

**Genre et espèce :** *Launaea Arborescens* (Batt.) Murb. 1923

**Nom vernaculaire :** Oumlbina



**Figure 16:** *Launaea Arborescens* (Batt.) Murb (original)

### III.2.2. *Launaea nudicaulis* (L). Hook. f

*Launaea nudicaulis* est des feuilles basales en rosettes très appliquées au sol, pennatifartites, roncinées, bordées de minuscules dents blanchâtres. C'est une plante des zones arides. Une fleur jaune du type composite, la taille de la plante est de 15-40 cm, le diamètre de la fleur est de 2 à 3 cm (Figure 17) (Maire, 1953 ;Ozenda,1967).

Les ligules sont jaunes, pour s'allonger, des chaînes prismatiques ou un petit aplati, pour citer longitudinale, eux - même cannelée à travers. Les aigrettes de soies blanches très caduques sont trois à quatre fois plus longtemps que le reste de la chaîne. Les hachures de la périphérie du capitule sont souvent un peu différentes l'un de l'autre, notamment plus poilus. C'est à ces chaînes périphériques qui se reconnaissent *Launaea nudicaulis* (Maire, 1953 ;Ozenda,1967).

### III.2.2.1. Position systématique

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Asterales

**Famille :** Asteraceae

**Sous-famille :** Cichorioideae

**Tribu :** Cichorieae

**Sous-tribu :** Hyoseridinae

**Genre et espèce :** *Launaea nudicaulis* (L.) Hook. f

**Nom vernaculaire :** Reghama



Figure 17: *Launaea nudicaulis* (original)

## III.3. Etude Ethnopharmacologique

### III.3.1. Présentation des régions d'études

Géographiquement, la wilaya de Béchar se situe dans l'ouest du Sahara algérien. Elle correspond à une partie de l'ancien département de la Saoura dont elle était le chef-lieu, s'éloigne de 1 150 km au sud-ouest de la capitale Alger, et 852 km de la wilaya de Tindouf et à environ 80 km à l'ouest de la frontière marocaine. La Wilaya de Béchar occupe le 8ème rang par rapport à l'ensemble des wilayas du pays, limitée à l'Est par la Wilaya d'Adrar, à l'Ouest par le Royaume

du Maroc, au Nord par les Wilayas de Naâma et d'El Bayadh, et au Sud par les Wilayas de Tindouf et d'Adrar.

L'immensité du territoire et l'éparpillement des populations augmentent les distances entre les localités.



Figure 18: Position géographique la wilaya de Béchar en Algérie (Google Earth).

- \* Béni-Abbès est située à 250 km au sud-ouest de Béchar et à 1 200 km d'Alger.
- \* La Daïra d'Igli est située à 160 Km au sud-ouest de la Wilaya de Bechar, et à 1000 Km de la capitale Alger.
- \* Kerzaz est une daïra de la wilaya de Béchar située à 120 km au sud-est de Béni-Abbès et à 330 km au sud-est de Béchar.
- \* Abadla, est située à 90 km au sud-ouest de Bechar. (*Population, superficie et densité des communes au 31.12.2009*, sur le site officiel de la wilaya de Béchar. Consulté le 23/04/2018).

### III.3.2. Méthode d'étude

Le travail consiste à réaliser un relevé d'enquête ethnopharmacologique de la famille des astéracées dans la Wilaya de Bechar. La localisation des différentes stations d'enquêtes a été déterminée par la technique d'échantillonnage aléatoire. Par cette méthode, nous pensons avoir visité un grand nombre de localité afin d'avoir un maximum d'espèces médicinales utilisées dans la région. Dans ce travail, le territoire est divisé en 6 localités de notre zone d'étude. L'effectif de

personnes questionnées est de 150 personnes pour une période de trois mois (02/2018-05/2018). L'enquête ethnopharmacologique a été réalisée à l'aide d'une fiche questionnaire comportant des questions précises sur l'informateur (âge, sexe, pratique thérapeutique...) et les plantes médicinales utilisées par celui-ci (nom vernaculaires, type de maladie traitée, partie utilisée, mode de préparation) (Le questionnaire en annexe 1).

Les données recueillies ont été inscrites dans une base de données puis traitées et analysées statistiquement à l'aide du logiciel de Microsoft Office « Excel ».

#### III.3.3. Diversité des plantes médicinales utilisées dans la région d'étude

Dans la présente étude, nous avons recensé 07 espèces végétales spontanées utilisées dans la région de Béchar, ces plantes appartiennent à la famille botanique des Asteraceae (Tableau 10).

**Tableau 10: Liste de quelques astéracées médicinales de la région de Béchar et leurs noms vernaculaires et scientifique**

Nom Vernaculaire	Nom Scientifique
Chih.	<i>Artemisia herba alba</i> Asso
Ouazouaza	<i>Matricaria pubescens</i>
Guertoufa	<i>Cotula cinerea</i>
Addad	<i>Atractylis egummifera</i>
Nougued	<i>Anvillea radiata</i>
Om lbina	<i>Launaea arborescens</i>
Reghama	<i>Launaea nudicaulis</i>

#### III.3.4 Traitement des données

Les données enregistrées sur les fiches d'enquête ont été traitées et saisies sur le logiciel Microsoft Office Excel® 2016. L'analyse des données a fait appel aux méthodes simples des statistiques descriptives. Ainsi, les variables quantitatives sont décrites en utilisant la moyenne. Tandis que, les variables qualitatives sont décrites en utilisant les effectifs et les pourcentages

dans le but de dégager l'ensemble des utilisations thérapeutiques traditionnelles locales et l'ensemble de maladies traitées.

### **Niveau de fidélité (Fidelity level) (FL) :**

Le niveau de fidélité (IF) aide à apprécier l'intensité de la relation que les informateurs établissent entre une plante médicinale et son rôle dans une catégorie donnée de maladies. ce niveau est calculé selon la formule proposée par (**Friedman *et al.*, 1986**)

$$NF=(N_p/N_m)*100$$

- **N<sub>p</sub>** est le nombre d'informateurs ayant affirmé l'emploi de la plante pour traiter une pathologie donnée.

- **N<sub>m</sub>** est le nombre total d'informateurs qui reconnaissent le caractère médicinal de la plante (quel que soit la pathologie traitée)

## **III.4. Détermination des métabolites secondaires**

### **III.4.1. Préparation des extraits aqueux**

Les plantes ont été collectées pendant la saison du printemps, elles ont été lavées puis laissées sécher dans l'ombre. La partie aérienne des plantes séchées est broyée finement et conservée jusqu'à le temps de l'extraction.

Une mesure 30 g de plante été extraite avec de l'eau distillée en système à reflux pendant 2 heures. Les extraits ont été filtrés et préparés pour la manipulation ou la conservation. Pour la conservation les extraits aqueux ont été lyophilisés. A la fin de l'opération les extraits ont été conservé à température -20°C pour une utilisation ultérieur.

### **III.4.2. Screening phytochimique**

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et \ ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou non des métabolites secondaires : alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, tanins et stérols ...etc.

Il représente une série des tests en tube qui sont réalisés sur les extraits de plantes lyophilisés afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans les plantes analysées (**Bruneton, 1999**). Tous les tests effectués sont basés sur les recommandations du livre de Harborne (**Harborne,1999**).

### **III.4.2.1. Mise en évidence des flavonoïdes**

On ajoute quelques gouttes de soude (NaOH 1%) à 2 ml de l'extrait aqueux : une couleur jaune orange est apparue indiquant la présence des flavonoïdes.

### **III .4.2.2. Mise en évidence des tanins**

A 1 ml de la solution à tester ajouter 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> à 2%. Laisser reposer quelques minutes. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité et l'apparition d'une coloration bleu foncé (présence des tanins galliques) et un précipité et une coloration vert foncé (présence des tanins cathéchiques).

### **III .4.2.3. Alcaloïdes sels**

Traiter 15 ml de l'extrait aqueux avec du NH<sub>4</sub>OH (pH= 8-9). Extraire le mélange 3x10ml de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>). La solution chloroformique est traitée 3x 2 ml d'HCl (10%). La solution aqueuse acide a été divisée dans trois tubes, un servant de témoin. Les tests est effectué en ajoutant 2-3 gouttes de réactif de Mayer et Wagner, des précipités blanc jaunâtre et brun sont formés respectivement.

### **III. 4.2.4. Composés réducteurs**

A 1ml de la solution aqueuse, ajouter 5-8 gouttes de liqueur de Fehling. Chauffer la solution. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

### **III .4.2.5. Amidon**

Traiter l'extrait aqueux avec quelques gouttes de la solution d'iode. L'apparition d'une coloration bleu violacé indique la présence d'amidon.



### III.5. Screening des phénols et des flavonoïdes par la chromatographie liquide couplé à la spectrométrie de masse type Vion IMS QToF

Les extraits méthanolique de *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis* ont été préparés avec 70% de méthanol par macération pendant 24h pour l'analyse LC-MS-QToF. Le mélange de la poudre de plante était 50g pour 150 ml de méthanol 70 %. Après filtration et séchage une concentration finale de 10 mg de l'extrait dans 1 ml de méthanol 70% a été préparée.

L'extrait a été prétraité et la concentration ajustée à 20 ppm avant injection dans le spectromètre de masse à temps de vol LC-MS-QTOF (WATER VION-IMS USA). La phase mobile a été préparée en utilisant le gestionnaire de solvant binaire avec les solvants A et B. Le solvant A est constitué d'acide formique 0,1% (Sigma Aldrich®, Allemagne) plus eau (qualité Milli-Q, v / v). Cependant, le solvant B était de l'acide formique à 0,1% dans l'acétonitrile à un temps de lavage du joint et à la limite de pression la plus élevée de 5 min et 1800 psi, respectivement. Les deux solvants sont ensuite passés à travers le dégazeur à vide. Les paramètres de gradient sont présentés dans le tableau 11 et les conditions du fonctionnement de spectroscopie de masse couplée à l'ionisation électrospray positive sont présentée dans le tableau 12 (Olusegun *et al.*, 2018).

**Tableau 11: Paramètre du gradient de la préparation de la phase mobile**

Temps (min)	Débit (mL/min)	Composition A (%)	Composition B (%)	Courbe
0.00	0.500	90	10	Initial
0.50	0.500	90	10	6
16.00	0.500	65	35	6
18.00	0.500	0	100	1
20.00	0.500	90	10	1

**Tableau 12: Paramètre d'opération d'analyseur Vion IMS QToF**

Paramètres d'opération	Valeurs
*Source température	120°C
*Source type	ESI
*Desolvation gas flow rate	1000 L/h
*Desolvation temperature	550° C
*Operation mode (Polarity)	Negative( -ve)
*Analyzer mode	Sensitivity

*Conegas flow rate	30 L/hr
Cone voltage	100 V
*Scan time	0.10s-4.00min
Lock correction interval	0.50 mm
MS mode	High definition
Collision energyinterval	6.00-40.00 eV
Scanning range	50-1500 m/z
Column type	ACQUITY UPLCHSS T3
Column Dimension	2.1 100 mm, particle size 1.8 mm
Columntemperature	40°C

### III. 6. Analyse de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

#### III .6.1. Préparation d'extrait butanolique de *Launaea arborescens*

Une mesure de 30 g de plante été extraite avec du butanol 100% à reflux pendant 1 heures jusqu'à température d'ébullition puis baissé la température jusqu'à la fin de la durée annoncée précédemment. L'extrait a était filtré et conservé à une température de -20 pour des analyses ultérieures.

1 ml de l'extrait butanolique obtenus a subi un fractionnement par chromatographique sur colonne remplis par du gel de silice (comme phase stationnaire) et la phase mobile était un mélange de : butanol/acide formique (65/15). Les fractions obtenues ont été conservé pour une analyse à la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse.

#### III.6.2. Analyse chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

L'analyse GC-MS de l'extrait butanolique a était réalisé par l'appareille de chromatographie en phase gazeuse de la marque WATER équipé du spectromètre de masse. La colonne DB-WAX (30 m, 0,25 mm DI, 250 µm) était utilisé pour la séparation des composés des extraits. La température initiale du four était de 50 °C pendant 1 min, rampe de 25 °C / min à 200 °C, puis 3°C /min, la température de l'injecteur était de 230 °C pour 18 min ; La durée de marche de marche est de 35 min.

Le gaz porteur utilisé était de l'hélium avec un débit constant de 1 mL / min. La ligne de transfert de masse et la température de la source étaient réglées à 250 °C. Balayage de la gamme de masse est 40-500 *m/z*.

L'identification des composés et la détermination de la structure étaient basées sur les données de la bibliothèque interne de la machine (NIST) et sur la comparaison des spectres de masse et de leurs profils de fragmentation en utilisant des données publiées.

### III.7. Activité anti-inflammatoire et analgésique

#### III.7.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits aqueux des deux plantes suit la même procédure déjà cité dans le titre la preparation des extraits aqueux pour le criblage phytochimique.

#### III.7.2. Matériel animal

Des expériences ont été menées en utilisant des souris Balb-C mâles adultes (25-35 g) logées à  $22 \pm 2$  ° C sous un cycle de 12 heures de lumière / 12 heures d'obscurité et avec un accès à de la nourriture et de l'eau ad libitum. Les animaux ont été acclimatés au laboratoire pendant au moins 1 h avant le test et n'ont été utilisés qu'une seule fois tout au long des expériences (Zimmermann, 1983).

#### III.7.3. Test d'acide acétique

Le test des contractions abdominaux induit par l'acide acétique, il a été effectué selon la procédure suivante ; Les souris ont reçu l'extraits aqueux de l'un des deux plantes (*Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*) aux doses suivantes : 10, 30, 100, 300 mg/kg par injection intra-péritonéale, ou solution contrôle (véhicule) 30 min avant l'injection de 0,8% d'acide acétique (10 ml/kg, ip). Les extraits ont été d'abord dilués dans une solution dite 'véhicule' composée de 90 % eau distillée, 5% éthanol et 5% tween 20.

Après 30 min, les souris traitées ont été injecté par la solution d'acide acétique (0.8%) par voie intra-péritonéale. L'observation commencera 5 min après l'injection d'acide acétique. Le diclofénac (10 mg / kg, intra-musculaire) a été administré 30 min avant l'agent nociceptif (Koster *et al.*, 1959).

Pourcentage d'inhibition des torsions de chaque groupe est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition} = \frac{\text{Moyc} - \text{MoyT}}{\text{Moyc}} \times 100$$

- Moyc : Moyenne de nombre des torsions abdominale des souris contrôles
- MoyT : Moyenne de nombre des torsions abdominale des souris traitées

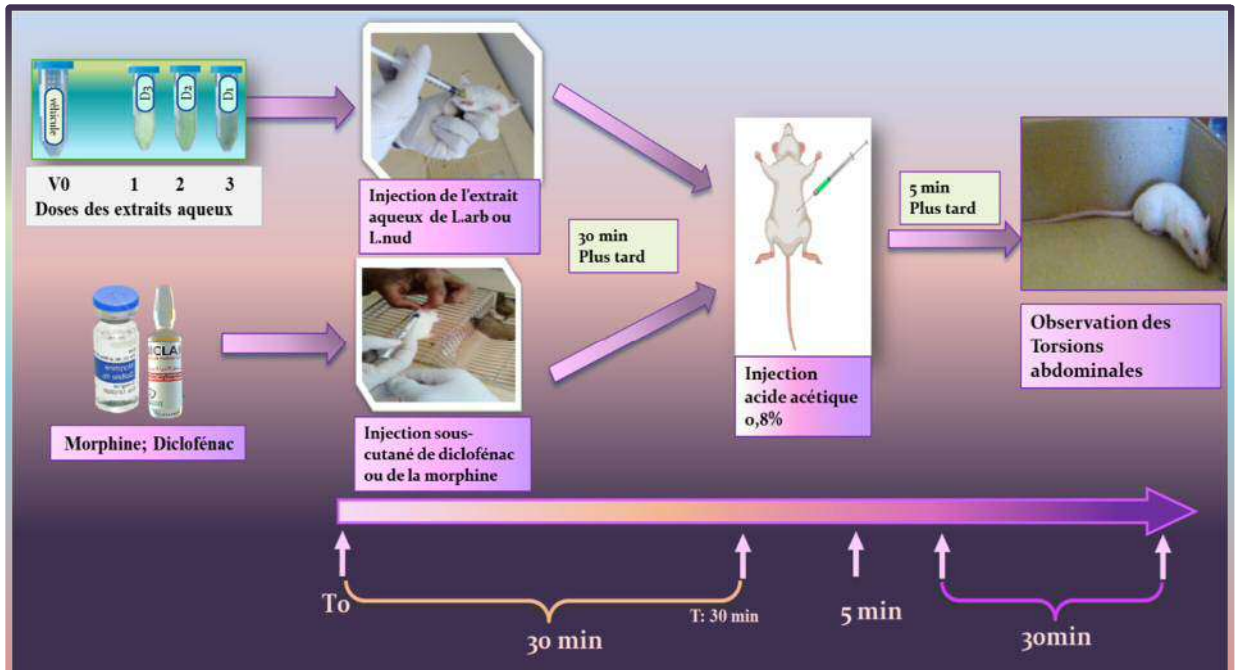


Figure 19: Etapes de la réalisation du test d'acide acétique (original).

### III.7.4. Test de formaline

Le test a été réalisé selon Dubuisson et Dennis (1977) brièvement, 30 min après les injections de l'extraits aqueux de *Launaea arborescens* ou de *Launaea nudicaulis* (10, 30, 100, 300 mg / kg, injection intra-péritonéale et une injection de diclofénac 10 mg / kg, intra-cutané) ou de solution témoin, 20  $\mu\text{l}$  de formaline 2,5% (v / v dans de l'eau distillée) a été injecté par voie sous-cutanée dans la surface plantaire de la patte arrière gauche des rats. Les réponses comportementales aux nociceptions comprenant la morsure, le léchage et le grattage de la patte injectée ont été notées et le temps passé a été enregistré jusqu'à 30 minutes. Les 5 premières

minutes ont été considérées comme phase précoce de la réponse nociceptive et la période de 15 minutes comme phase tardive, les deux phases ont été séparées par une pause de 10 minutes.

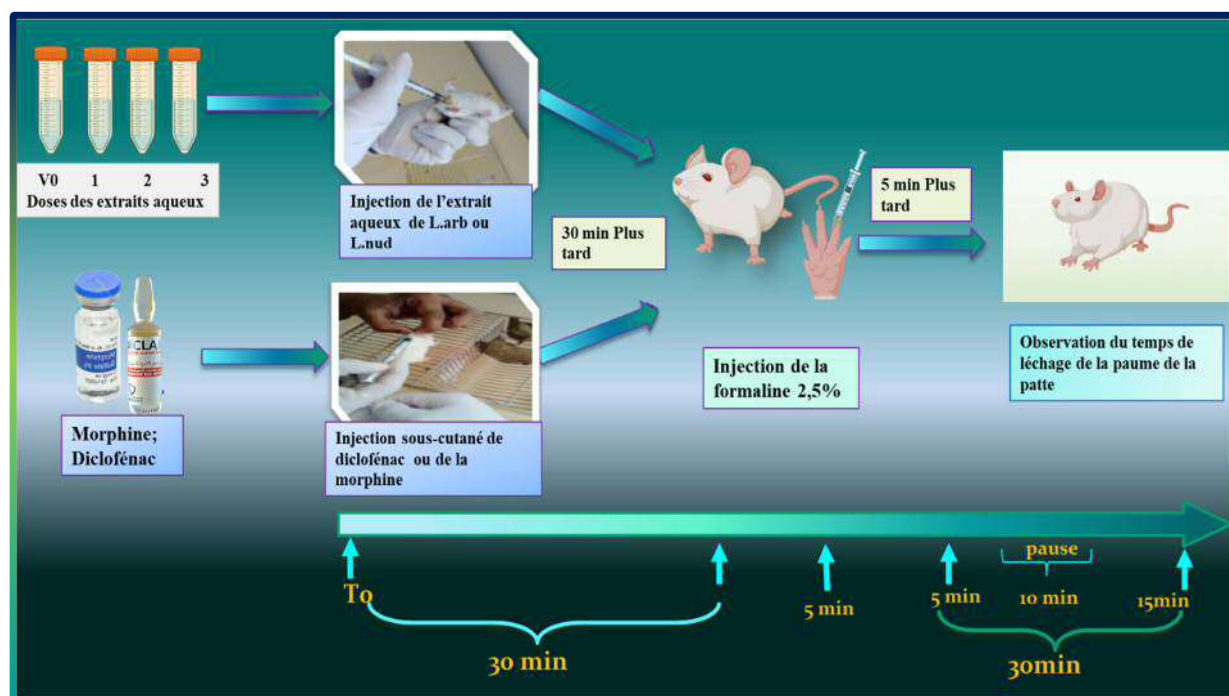


Figure 20: Etapes de la réalisation du test de formaline (original).

### III.7.5. Test de sérotonine et d'histamine

Les souris ont été prétraitées avec le véhicule, ou les extraits aqueux des plantes : *Launaea arborescens* ou de *Launaea nudicaulis* à des doses :30, 100, 300 mg / kg ; injection intra-péritonéale ou à la loratadine (antagoniste des récepteurs d'histamine injection intra-péritoneal (ip)) ou à la mianserine (antagoniste des récepteurs de sérotonine) (1mg/1ml) les souris ont été laisser reposer pendant 30 minutes. L'injection de la sérotonine ou de l'histamine (l'équivalent de  $10^{-3}$ mg/1ml) dans le tissu sous-cutané de la paume de la patte arrière gauche. Les souris ont été ensuite placées dans la chambre d'observation individuelle pendant 5 min. Le temps dépensé de lécher et mordre la patte injectée a été considéré comme une indication de nociception et enregistrée (Seddiki *et al.*, 2019 ; Sulaiman *et al.*, 2009).

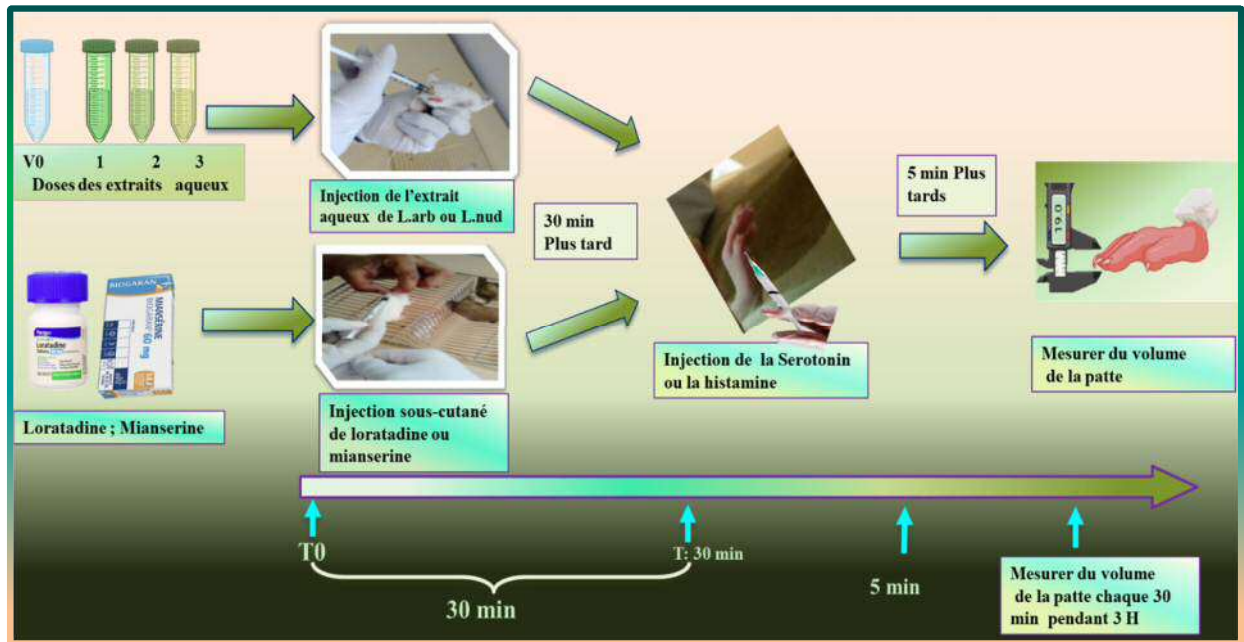


Figure 21: Etapes de la réalisation du test de l'histamine et de la sérotonine (original)

### III.7.6 Test de la capsaïcine

La méthode utilisée était similaire à celle décrite précédemment. Les souris ont été prétraitées avec le véhicule, l'extrait aqueux de *Launaea arborescens* ou de *Launaea nudicaulis* (30, 100, 300 mg / kg, injection intra-péritonéale ou la capsazepine (antagoniste du TRPV1 : capsazepine 0,17 umol / kg, i.p.) ou l'ASA (100 mg / kg, i.p.) ou la diclofénac par injection sous-cutanée, pendant 30 minutes. Avant l'injection de capsaïcine (1,61 µg par patte dans 20 µl de tampon phosphate) dans le tissu sous-cutané de la paume de la patte arrière gauche. Les souris ont été ensuite placées dans la chambre d'observation individuelle pendant 5 min. après administration de capsaïcine. Le temps dépensé pour lécher et mordre la patte injectée a été considérée comme une indication de nociception et enregistrée (Sulaiman *et al.*, 2009).

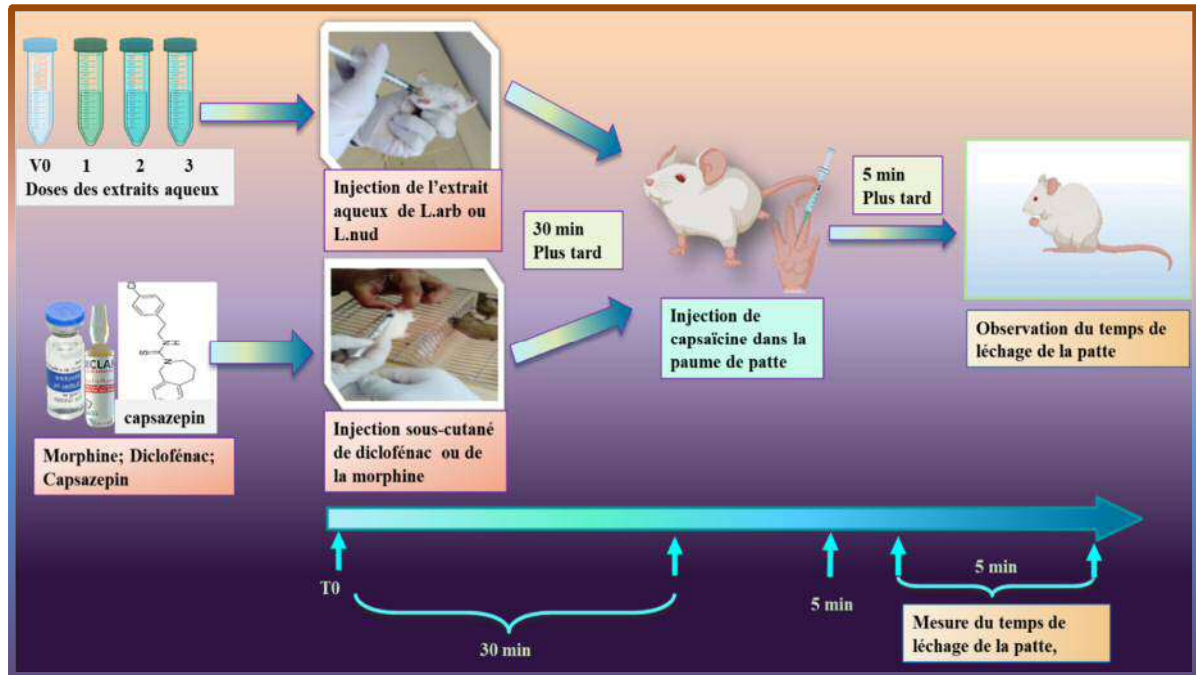


Figure 22: Etapes de la réalisation du test de capsaïcine (original).

### III.8. Analyse statistique

Tous les résultats numériques de l'études biologique ont été analysé statistiquement en utilisant le ONE-WAYANOVA, puis suivie par le post-test de Tukey et Dunnett via le logiciel Graphpad. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM.

# **Chapitre IV**

## **Résultats et Discussion**



## IV.1. Introduction

L'étude actuelle a mis en évidence de plusieurs caractéristiques des plantes choisies pour cette étude : *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*, sont des plantes endémiques de la région du sud-ouest de l'Algérie. L'étude s'est basée sur une étude ethnopharmacologique, puis une étude des caractéristiques phytochimiques et enfin une étude d'activité anti-inflammatoire et analgésique. Les résultats sont reportés dans ce chapitre.

## IV.2. Etude ethnopharmacologie

L'étude ethnopharmacologique est basée sur les plantes médicinales appartenant à la famille des Asteraceae. Au total, sept (07) plantes médicinales recensées sont utilisées dans la pharmacopée saharienne de la région de Béchar (Tableau10).

### IV.2.1. Utilisation des plantes selon le sexe, l'âge et le niveau d'étude

Les résultats obtenus montrent que les femmes sont plus utilisatrices des plantes médicinales que les hommes avec un pourcentage de 76,66% versus 23,33 % ; et selon l'âge, l'utilisation des plantes par les personnes âgées de 40 et plus est plus importante de 73,33% que les personnes jeunes moins de 40 ans (26,66%). Selon le niveau intellectuel, l'utilisation des plantes est sollicitée par classe analphabètes et conservatrice (63,33%) et les classes plus cultivées représentent un tiers de la population questionnée et préfèrent la médication moderne.

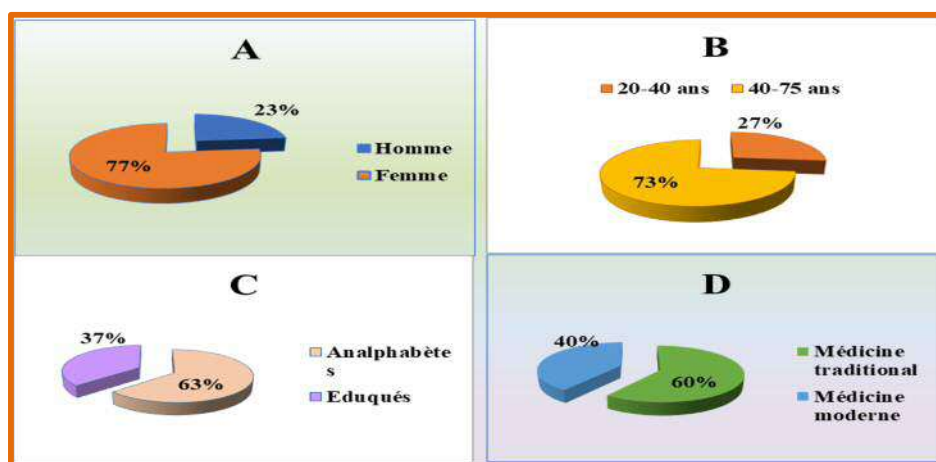


Figure 23: Répartition des utilisateurs des plantes médicinales (Asteraceae) selon le sexe (A), l'âge (B), le niveau académique (C) et type de médecine préférée (D).

Nous avons également remarqué à travers le questionnaire que la majorité des personnes préfèrent utiliser la plante fraîche mais pour le cas échéant la méthode de séchage convenue par les personnes c'était à l'abri des rayons du soleil.

#### IV.2.2. Utilisation thérapeutique des plantes médicinales selon la partie utilisée

Selon notre enquête ces parties sont, les feuilles, les tiges, les graines, les fruits, les fleurs et les racines. L'importance d'utilisation de ces parties est variée, les feuilles sont les plus utilisées avec un pourcentage de (48,66%), les tiges occupent la deuxième position avec un pourcentage de (38 %) ; et les fleurs avec (13,33 %), et aussi nous remarquons que rien utilisation des fruits et racines pour ces plantes. La majorité des travaux réalisés dans le domaine des plantes médicinales ont montré que les feuilles représentent la partie la plus utilisée pour traiter les diverses maladies. En effet, les feuilles sont les plus utilisées parce qu'elles sont le siège des réactions phytochimiques et métaboliques ainsi que le réservoir de la matière organique qui en dérivent, et aussi sont l'organe végétal le plus facile à récolter (Figure 24).

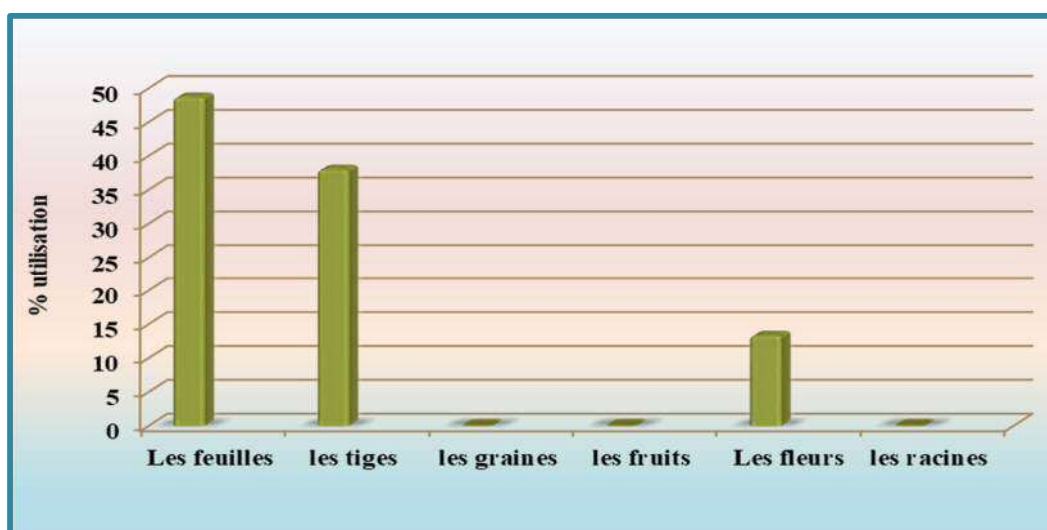


Figure 24: Fréquence de l'utilisation des plantes des Asteraceae selon la partie utilisée

### IV.2.3. Mode de préparation

Afin de faciliter l'administration du remède, plusieurs modes de préparations sont employés à savoir la décoction, l'infusion, le cataplasme, poudre, fumigation, et pommade. La décoction et la poudre sont les modes les plus utilisables avec 34% et 32,66%, puis l'infusion avec 24%, ensuite le cataplasme avec 4,66% et la fumigation avec 3,33% en dernière position la pommade avec 01,33 % (Figure 25).

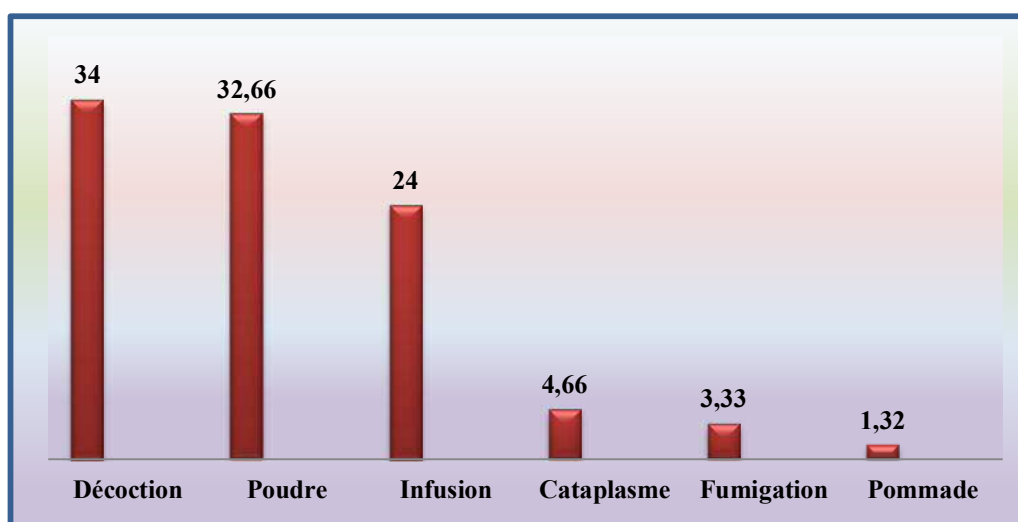


Figure 25:Fréquence de l'utilisation des plantes selon le mode de préparation

### IV.2.4. Mode d'administration

La plupart des recettes préparées sont prescrites par voie orale avec un grand pourcentage de 80%, ensuite le badigeonnage représentant 10% ; les autres modes d'administration massage (2%), fumigation (2%), rinçage (2%) et autres (4%) sont moins importants dans l'utilisation (Figure 26A).

#### IV.2.4.1. Doses utilisées

84% des utilisateurs des plantes médicinales dans la région de Béchar utilisent les plantes médicinales avec des doses non précises, dont 8,33 % par pincée, 33,33 % par cuillerée à café et 58,33 % par cuillère à soupe. La dose reste encore aléatoire ce qui se manifeste par des effets néfastes sur la santé car il se dit « aucune substance n'est poison elle-même, c'est la dose qui fait

le poison ». Alors que 16% de la population enquêtée utilise les plantes médicinales avec des doses bien précises (Figure 26B)

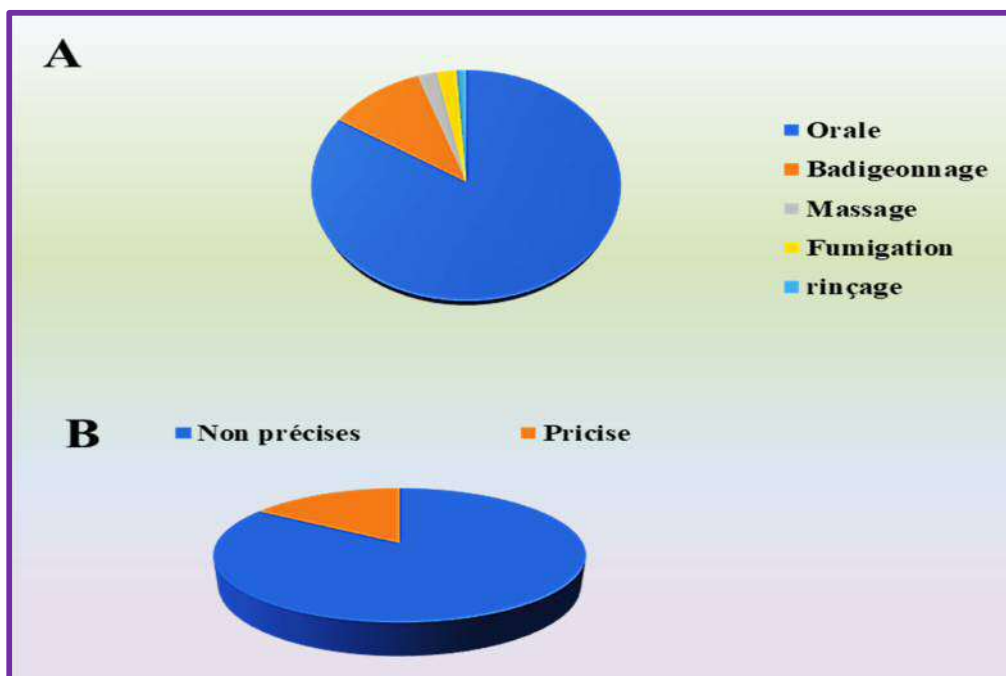


Figure 26: Fréquence des modes d'administration (A) et des utilisateurs des plantes médicinales selon la dose (B).

#### IV.2.5. Affections traitées

Ce travail, qui contribue à une meilleure connaissance des soins traditionnels pratiqués dans la ville de Béchar et ses environs (Abadla, Béni-abbes, Igli, kerzaze, Tamtarte) ; les résultats montrent que la plupart des plantes étudiées sont utilisées dans le traitement des affections de l'appareil digestif avec un pourcentage de (34%), suivi les affections génito-urinaires (14,66%) et les affections respiratoires ou les pathologies broncho-pulmonaires par (9,33%), , les affections diabétologiques (7,66%), les coups de froids (6,66%) et les affections dermatologiques (2%), le rhumatisme (2,33%), les affections ophtalmologiques (1,66%), Les restes englobent (courbature musculaire, dysménorrhée, allergies, problèmes cardiovasculaires, maux de tête, piqure de scorpion, pour parfumé les boissons chauds), avec un taux de (6,7%) (Tableau13 et figure 27 ; 28 ; 29).

**Tableau 13: Plantes astéracées les plus utilisées et leurs usages médicinaux local**

Les plantes	Usage médicinal local
<i>Artemisia herba alba</i> (Chih)	La poudre et la décoction fréquemment utilisées contre les verres intestinaux, et pour soulager les maux gastro-intestinaux, et les maladies du côlon, sous forme d'infusion pour le thé parfumé.
<i>Launaea arborescens</i> (Om Ibina)	L'infuser pour traiter les vomissements et la perte d'appétit surtout chez les enfants ; et comme pommade pour des problèmes dermatologie
<i>Cotula Cinerea</i> (Gartoufa)	En décoction et sous forme de poudre : Coliques intestinaux, la toux, les diarrhées, refroidissements des inflammations broncho-pulmonaires et les crises rhumatismales. En infusion pour la stérilité, et pour faciliter la digestion.
<i>Matricaria Pubescens</i> (Ouazouaza)	Poudre pour aromatiser le thé, le lait et les soupe surtout au mois du Ramadan (prévient la soif). En décoction pour traiter la toux et le rhumatisme, les courbatures musculaires, la déshydratation, les maux de dentition.
<i>Anvillea radiata</i> (Nogde)	Infusion les feuilles pour les maux de l'estomac, les intoxications, indigestions, refroidissements des inflammations pulmonaires, courbatures.
<i>Atractylis Gummifera</i> (Addâd)	En usage interne, la racine desséchée est utilisée pour arrêter les hémorragies et pour provoquer les vomissements.
<i>Launaea nudicaulis</i> (Raghama)	Les maux gastriques, le mal-aise thoracique, ulcère de l'estomac, antibactérien et antifongique

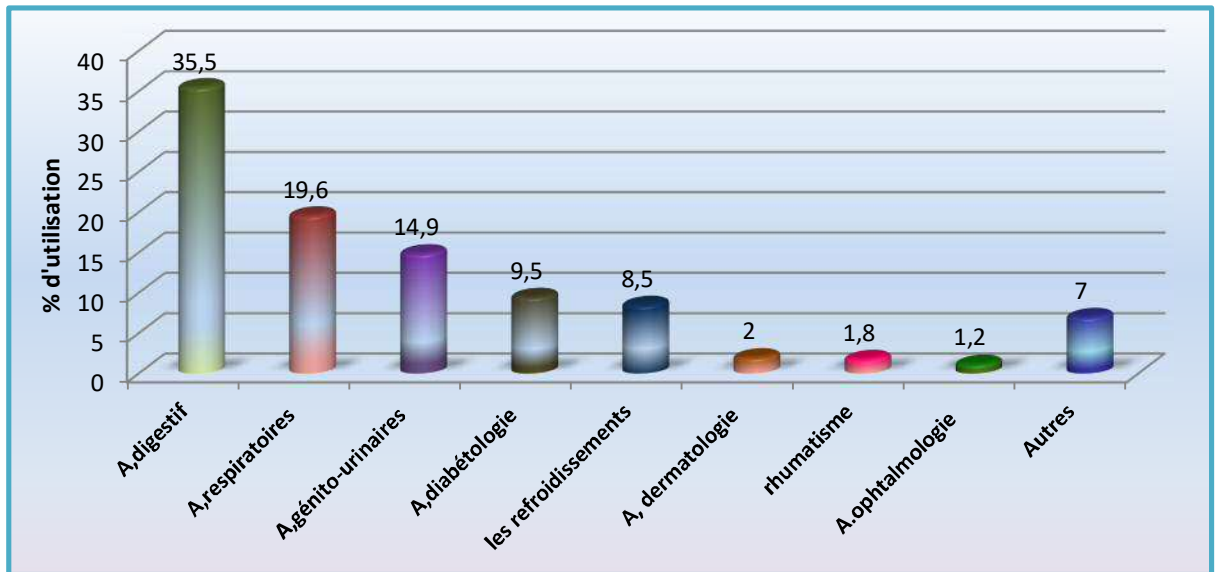


Figure 27: Fréquence de l'utilisation des plantes selon les affections traitées.

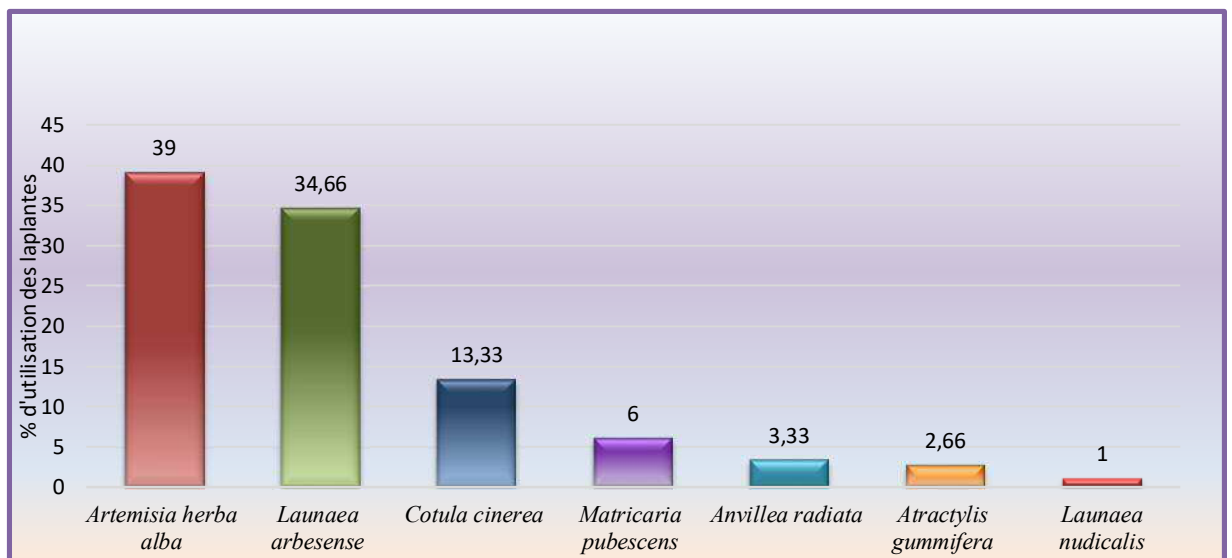


Figure 28: Fréquence de l'utilisation de chaque plante comme traitement

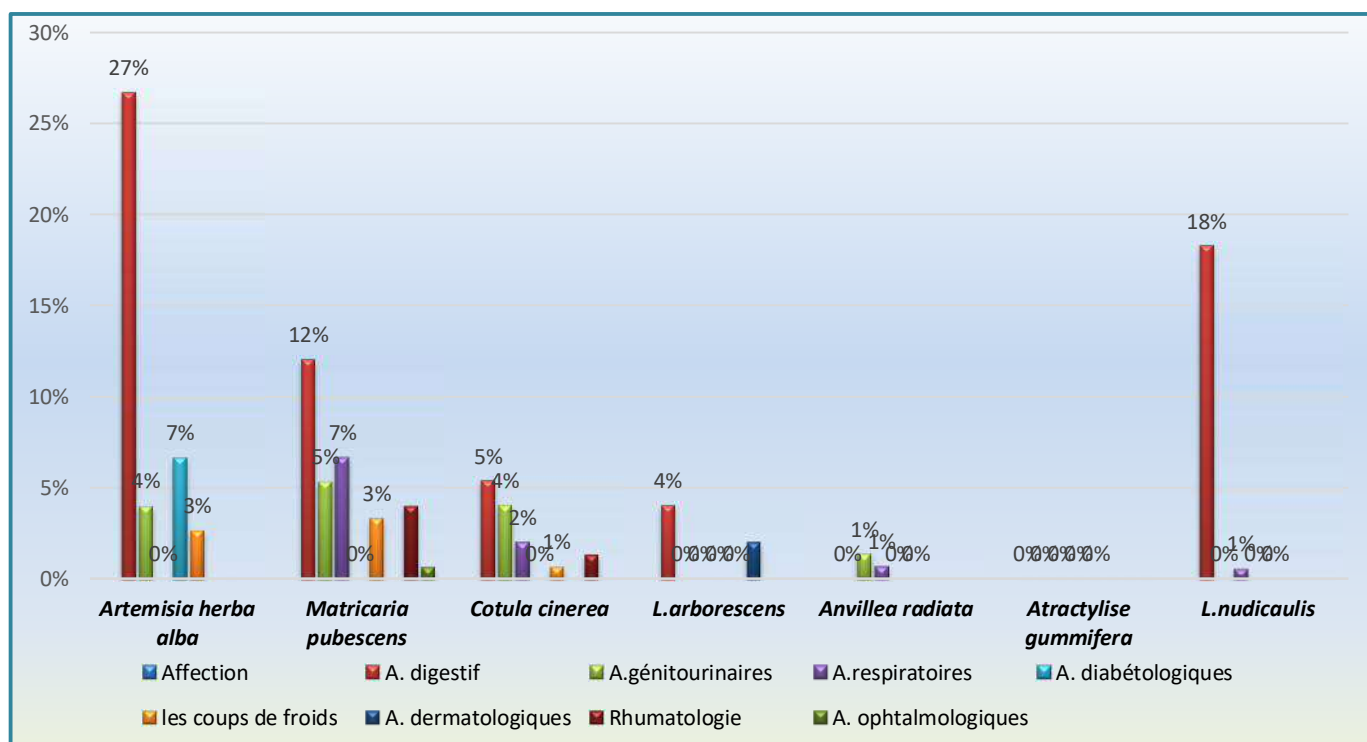


Figure 29: Niveau de fidélité (NF) des plantes selon l'utilisation de chaque affection

D'après les résultats et les statistiques de ce questionnaire on a pu conclure que la plante la plus utilisée dans ces zones est *l'Artemisia herba alba* avec un taux de 40%, suivie de *Launaea arborescens* à 34,66%, puis *Cotula cinerea* 13,33%, *Matricaria pubescens* à un taux de 6%, *l'Anvillea radiata* 3,33%, et dans au dernier vient *l'Atractylis gummifera* avec un taux de 2,66%. Ces résultats montrent une partie de concordance avec des études ethnopharmacologique faites ultérieurement par **Belboukhari et Cheriti (2008)** (Figure 28).

Le niveau de fidélité (NF) (figure 29) aide à apprécier l'intensité de la relation que les informateurs établissent entre une plante médicinale et son rôle dans une catégorie données de maladies.

Le niveau de fidélité montre que trois plantes sont les plus cités dans le traitement des pathologies digestives avec une fréquence de 27%, 12% et 4% pour *l'Artemisia herba alba*, *Matricaria pubescens*, *Cotula cinerea* respectivement. L'étude de **Ajaib et al, (2021)** sur 35

familles de plante en Pakistan, les Asteraceae sont les plus utilisés en pharmacologie traditionnelle (Ajaib *et al.*, 2021)

Néanmoins, l'utilisation des plantes est élargie dans le traitement d'autres maladies que celles citées il y a quelques années passée (tel que l'hypertension, le diabète...) est dû au développement intellectuel dans la population et facilité de l'acquisition de l'information pharmacobotanique via les médias, les réseaux sociaux et sa disponibilité par internet ; ce qui élargie le savoir et les bonnes pratiques et la prise de conscience du danger de certaines plantes.

### IV.3. Phytochimie de *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*

Les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes et les terpènes sont des métabolites secondaires associés aux plantes, ils sont utilisés comme médicaments ou suppléments pour traiter divers types de maladies (Yao, *et al.*, 2004).

La littérature scientifique a rapporté que ces composés phytochimiques présentent des propriétés pharmacologiques différentes, notamment anticancéreuses (Feng *et al.*, 2020), antimicrobiennes (Shu-Chen *et al.*, 2020), anti-inflammatoires (Salaritabar *et al.*, 2017), et antiathérogènes (Devi *et al.*, 2021). Différents composés phytochimiques sont isolés, purifiés, caractérisés et quantifiés en raison de leur importance (Yao, *et al.*, 2004).

#### IV.3.1. Rendement des extraits

Les rendements d'extraction de deux plantes étudiées sont différents et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 14.

**Tableau 14: Rendements des extraits de *Launaea arborescens* et de *Launaea nudicaulis***

Extrait aqueux	<i>Launaea arborescens</i>	<i>Launaea nudicaulis</i>
Rendements %	12,19	15,6



### IV.3.2. Screening phytochimique

Screening ou le criblage phytochimique est essentiel dans la mise en évidence des groupes de familles chimiques dans une plante donnée. En revanche, il ne permet pas l'identification ou la détermination des structures chimique des composés. La caractérisation des composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, réactions de précipitation, turbidité, et un changement de couleur spécifique.

Les résultats obtenus montrent la présence des composés réducteurs, flavonoïdes, tannin et alcaloïdes dans les extraits aqueux des deux plantes étudiées *L. arborescens* et *L. nudicaulis* ; Ils représentent de presque toutes les familles chimiques pourrait justifier l'utilisation multiple de ces plantes.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé (la partie utilisée de *Launaea nudicaulis (LN)* et de *Launaea arborescens (LA)*) sont mentionnés dans le tableau 15.

Les résultats ont montré la présence des grandes familles métaboliques dans les deux plantes, une présence de Flavonoïdes, des sucres et des tanins dans les deux plantes. *Launaea nudicaulis* est dépourvu des sels d'alcaloïdes et deux plantes sont dépourvus d'amidon.

**Tableau 15: Criblage phytochimique l'extrait aqueux des deux plantes**

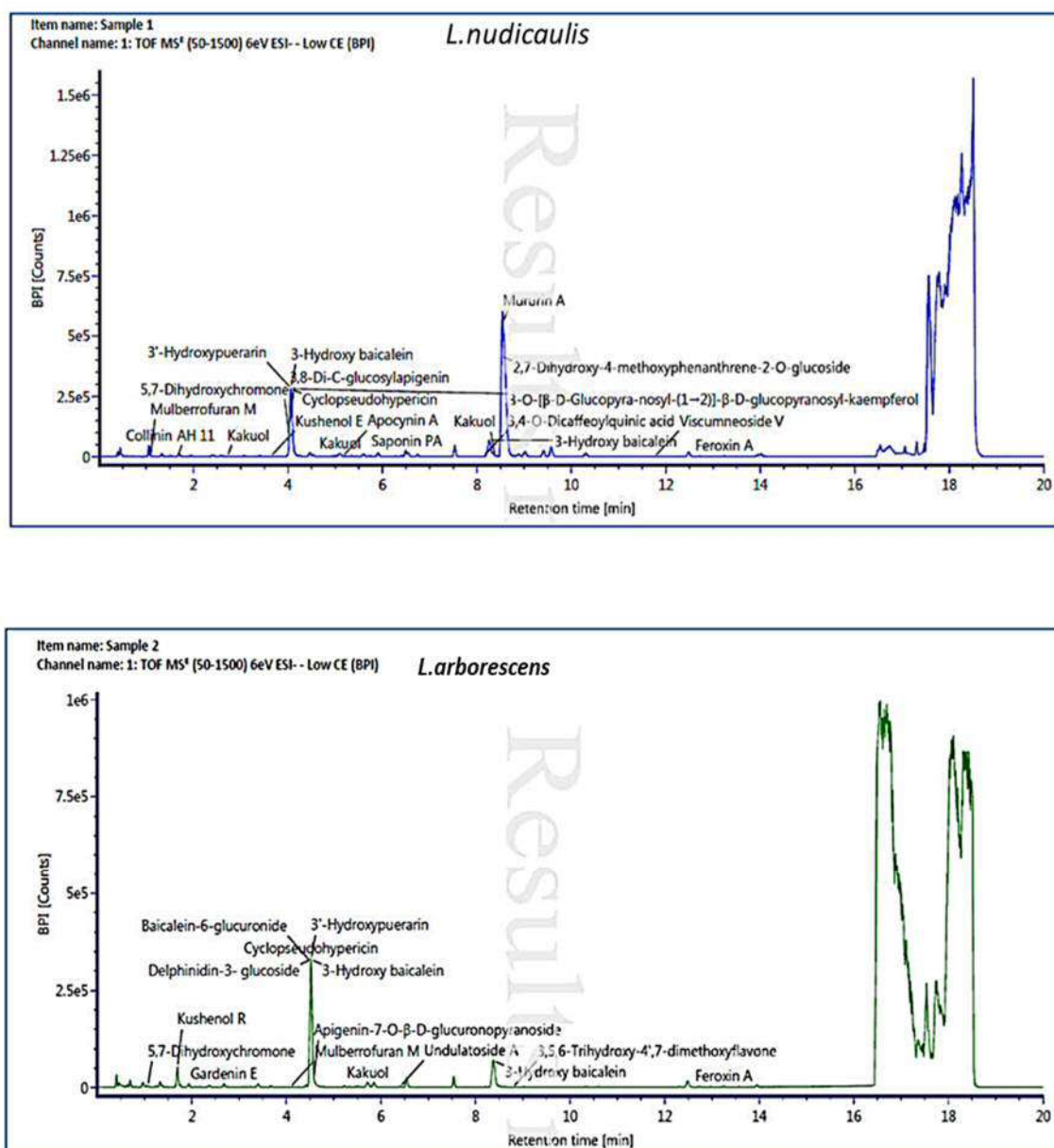
Métabolites	Réaction de caractérisation	Résultat	
		L.A	L.N
Sels d'alcaloïdes	Turbidité et / ou précipite brun après l'ajout de réactif <b>Wagner</b> .	+	-
	Turbidité et / ou précipite brun après l'ajout de réactif <b>Mayer</b> .		
Tanins	Coloration bleu foncé ou coloration verte.	+	+
Composés réducteurs	Précipite rouge brique.	+	+
Amidon	Coloration bleu violée	-	-

<b>Flavonoïdes</b>	Couleur rose ou rouge ou violet se développe en l'espace de 3mn	+                      +
--------------------	---	--------------------------

### IV.3.3 Analyse de La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS-QToF)

La méthode LC-MS-QToF (Qualitative tandem liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry) est une technique largement utilisée actuellement dans l'attribution provisoire de composés non-volatils connus et inconnus dans des extraits de plantes. La mise en évidence des polyphénols et les flavonoïdes dans les extraits aqueux de *L. arborescens* et *L. nudicaulis* faite l'aide de l'analyse LC-MS-QTOF en comparant les modèles de fragmentation MS avec la bibliothèque Waters VR UNIFY qui permet identification des composés basée sur la correspondance spectrale (Figure 30).

La figure 30 présente les pics de base à la fois pour le graphique BPI et les composés attribués provisoirement dans les modes à ions positifs. Les composés provisoirement attribués sont énumérés dans les tableaux 16 et 17. L'identité et le regroupement des composés phytochimiques attribués provisoirement étaient basés sur des mesures de masse précises, le comportement chromatographique, des analyses consécutives de spectroscopie de masse (SM) et la correspondance de la masse moléculaire des ions parents et  $m/z$  avec les données rapportées dans la littérature. Grâce à cette approche analytique en mode positif (ESI) ; un nombre total de 120 de composés de phénols et de flavonoïdes ont été mis en évidence ; dont 68 composés en commun entre les deux plantes et 52 composés différents entre les deux plantes : *Launaea nudicaulis* et *Launaea arborescens* en (Annexe 2)



**Figure 30: Chromatogramme LC- MS -QTOF- en mode ion positif pour le graphique BPI (a) et les composés attribués provisoirement.**

Les phénols et les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquitaires jouent un rôle important dans la vie de la plante, animaux. Ils se caractérisent par un pouvoir antioxydant, anti-

inflammatoire, des bienfaits pour le système immunitaire, la prévention du cancer, des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Bors *et al.*, 1987; Ness *et al.*, 1997).

Les résultats obtenus à partir de LC-MS-QToF ont permis d'avoir une idée sur le profil phytochimique des deux plantes et sur le potentiel thérapeutique des deux plantes. Le tableau 16 représente les phénols et les flavonoïdes en commun entre les deux plantes et le tableau 17 représente la différence entre les deux.

L'analyse LC-MS-QToF a pu révéler une variété de flavonoïde déjà connu dans la littérature tel la quercétine, kaempferol, apigenin, Luteolin (Ragaa *et al.*, 1983) polyphénols tel que : (-)-Epigallocatechin ; O-Dicaffeoylquinic acid (El-Newary *et al.*, 2021).

Présence de flavonoïde type flavone : 3,5,6-Trihydroxy-4',7-diméthoxyflavone ; 3'-Hydroxypuerarin ; un dérivé de kaempferol tel que Sophoraflavonolose.

**Tableau 16: Identification des phénols et des flavonoïdes en commun dans *L. arborescens* et *L. nudicaulis* via LC-MS-QTOF :**

N°	Produit	N°	Produit	N°	Produit
1.	(-)-Epigallocatechin	24	5,7-Dihydroxychromone	47	Kaempferol
2.	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	25	5,7-Dihydroxychromone-7-β-D-glucoside	48	6-Formyl-isoophiopogonone A
3.	2-Hydroxy-4-méthylacetophenone	26	5,8,4'-Trihydroxy-6,7-diméthoxyflavone	49	7-Hydroxy-1-méthoxy-2-méthoxyxanthone
4.	2-Hydroxy-5-méthylhypnone	27	6-C-Arabinose-8-C-glucose-apigenin	50	7-O-α-L-Rhamnopyranosyl-kaempferol
5.	3,4-O-Dicaffeoylquinic acid	28	7-O-β-D-Glucopyranosyl-kaempferol	51	7-O-α-L-Rhamnosyl-3-O-β-D-glucopyranosylkaempferol
6.	3,5,6-Trihydroxy-4',7-diméthoxyflavone	29	Apigenin-6,8-di-C-glucoside	52	Kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1_2)-β-D-glucopyranoside
7.	3,5,8-Trihydroxy-3',4'-diméthoxyflavone	30	Apigenin-6,8-di-C-β-D-galactoside	53	Kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside
8.	3,5-O-Dicaffeoylquinic acid	31	Apigenin-6-C-galactosyl-8-C-arabinoside	54	Kaempferol-3,7-di-O-β-D-glucopyranoside
9.	3',4',5,7-Tetrahydroxy-8-méthoxyisoflavone	32	Capillarisin	56	Kaempferol-3-glucuronide
10.	3',4',7-Trihydroxy-	33	Catechin-3-O-gallate	57	Kaempferol-3-O-(6''-O-acetyl)-

Chapitre IV : Résultats et Discussion

	flavone				$\beta$ -D-glucopyranoside
11.	3-Hydroxy baicalein	34	Chrysanthemine	58	Kaempferol-3-O-neohesperidoside
12.	3'-Hydroxy puerarin	35	Chrysin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	59	Kaempferol-7-O- $\alpha$ -L-arabinofuranoside
13.	3-Methoxyherbacetin	36	Cosmosiin	60	Kakuol
14.	3-O-[ $\beta$ -D-Glucopyranosyl-(1_2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl-kaempferol	37	Cyanidin 3,5-diglucoside	61	Leucocyanidin
15.	3-O-Methylquercetin	38	Cyclopseudohypericin	62	Luteolin
16.	3-O- $\beta$ -D-Galacopyranosyl (6_1)- $\alpha$ -L-rhamnosylquercetin	39	Daidzin	63	Luteolin 7- $\beta$ -neohesperidoside
17.	4,5-O-Dicaffeoylquinic acid	40	Epicatechin gallate (Epicatechin-3-O-gallate)	64	Luteolin 7-O- $\beta$ -D-(6"-acetyl)-glucopyranoside
18.	4-Hydroxy-3-methoxy styrene	41	Epigallocatechin	65	Luteolin-7,4'-di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside
19.	4-Hydroxyacetophenone	42	Eugenol	66	Luteolin 7- $\beta$ -neohesperidoside
20.	5,3',4'-Trihydroxy-6,7-dimethoxy-flavone	43	Fisetin	67	Quercetin-3-O-rutinoside
21.	5,6,4'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	44	Flavone,5,7-dihydroxy-4'-O- $\beta$ -D-glucoside	68	Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnose-7-O- $\beta$ -D-glucoside
22.	5,7,8,2'-Tetrahydroxy-flavone-7-O- $\beta$ -D-glucoside	45	Galangin (Norisalpinin)		
23.	5,7,8,4'-Tetrahydroxy flavone	46	Gallocatechin		

Tableau 17: Identification des phénols et des flavonoïdes spécifiques pour chaque plante

N°	<i>Launaea arborescens</i>	<i>Launaea nudicaulis</i>
1	(3R,4R)-3,4-trans-7,2'-Dihydroxy-4?,5'-dimethoxy-4-[(3R)-2',7-dihydroxy-4'-methoxy-isoflavan-5'-yl]-isoflavan	3,5,7,2', 6'-Hydroxy-flavone 5-2'-O-β-D-glucopyranoside
2	2,3',4,4',6'-Pentrahydr-oxybenzophenone	Chrysoeriol-4'-O-β-D-glucopyranoside
3	2-Methoxykurarinone	Daidzein-4',7-diglucoside
4	5,7,8,2'-Tetrahydroxy-flavone-7-O-β-D-glucoside	Dehydrosilybin
5	5,6,7,3'-Tetrahydroxy	Diosmetin 3'-O-β-D-glucoside
6	Apigenin-7-O-galactopyranoside	Diosmetin-7-O-β-D-glucoside
7	Mulberrofuran A	Homoplantagin
8	MulberrofuranB	Irilin D
9	Mulberrofuran M	Isoquercitrin
10	Mulberrofuran N	Isoswertiajaponin
11	Nelumboroside A	Isoviolanthin
12	Pedalitin	Isovitexin (Homovitexin)
13	Pinnatifine I	Isovitexin-3''-O-glucopyranoside
14	Protohypericin	Juglanin
15	Quercetin-3-O-α-L-rhamnoside	Kaempferide-4'-methyl ether-3-glucoside
16	Quercetin-3-O-β-D-gluco-pyranosyl(1_4)-α-L-rhamnopyranoside	Kaempferitrin
18	Resokaempferol	Kaempferol 3-α-L-dirhamnosyl-(1_4)-β-D-glucopyranoside
19	Rhamnazin	Kaempferol-3,7-diglucoside
20	Rhamnetin	Kaempferol-3,7-diglucoside_1
21	Rutin	Kaempferol-3-O-β-D-glucuronide
22	Saponarin	Moracenin C

23	Sanggenonl	Mulberrofurane K
24	Sesamol	Myricetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside
25	Sinapaldehyde	Myricitrin
26	Sophoraflavonoloside	Puerarin-4'-O-glucoside

#### IV.3.4. Analyse de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de *Launaea arborescens*

La méthode GC-MS est une technologie émergente largement utilisée dans l'attribution provisoire de composés volatils connus et inconnus dans des extraits de plantes

Selon le tableau GC-MS, l'extrait butanolique de *Launaea arborescens* montre une richesse en composés volatils ; plus 100 composés reconnus par la banque de données NIST, mais nous n'avons sélectionné que 23 composés où ont été présentés 90 à 99% de correspondance avec banque de données de NIST (Tableau 18).

La principale classe des terpènes trouvée c'était les monoterpènes et diterpènes. 11 composés monoterpènes, 5 acides gras et 7 non connus. Certains de ces composés ont été détectés pour la première fois dans le genre *Launaea*. Il a été rapporté qu'une partie du monoterpène peut avoir une activité saine pour l'homme : le d-limonène a des activités anti-inflammatoires, neuroprotecteurs et anti-oxydantes (Yu et Sun, 2017) ; Récepteurs opioïdes A et  $\mu$  (Rahbar et al., 2019), et a une activité antimicrobienne et anti-âge (Amasamy et al., 2019) d'autres études ont été lancées sur des antiviraux puissants (Sudhanshu et al ; 2021). Ester méthylique d'acide hexadécanoïque est un ester d'acide gras ayant une activité antioxydante, hypocholestérolémique et inhibitrice de la 5- $\alpha$ -réductase (Jegadeeswari et al., 2012) Le composé « Bicyclo [3.1.0] hex-2-ène, 2-méthyl- 5- (1-méthyléthyl) » autre nom alpha thurjène peut avoir un puissant anticancéreux (Lee JY et al., 2021). Le composé 'méthyl stéarate' avait un puissant neuroprotecteur et inhibiteur de la prostaglandine (Po-Yi Chen et al., 2020).

**Tableau 18: Analyse de chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse de l'extrait butanolique de *Launaea arborescens*. (RT : Temps de rétention)**

N°	Compounds	CAS	RT1	area	% présence fraction	% probabilité
1	Hexadecanoic acid, 1,1-dimethylethyl ester	031158-91-5	12.8786	11.7632	19,09%	92%
2	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	028634-89-1	3.7655	2.5261	2,694%	94%
3	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	007785-70-8	3.1300	28.5137	41,32%	95%
4	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)	002867-05-2	3.1354	47.2155	51,60%	91%
5	beta.-Phellandrene	000555-10-2	3.7709	3.6690	4,42%	91%
6	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	000535-77-3	4.6550	1.2147	1,36%	93%
7	p-Cymene	000099-87-6	4.6444	3.5818	4,03%	90%
8	Hexadecanoic acid, butyl ester	000111-06-8	12.8945	21.3206	23,99%	99%
9	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	003387-41-5	3.7655,	1.4197	2,24%	94%
10	Methyl stearate	000112-61-8	12.6193	9.1971	10,72%	99%
11	Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	000099-84-3	3.7707	1.6843	2,48%	91%
12	o-Cymene	00527-84-4	4.6444	1.4231	3,46%	91%
13	"9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	000112-62-9	12.7569	5.6864	9,85%	97%
14	, "13-Octadecenoic acid, methyl ester	056554-47-3	12.7462	5.6833	9,22%	90%
15	n-Butyl laurate	000106-18-3	8.8701	4.5198	6,69%	91%
16	"Butyl myristate	000110-36-1	10.5117	1.6593	2,16%	98%
17	"Heptadecanoic acid, 10-methyl-, methyl ester	002490-25-7	12.6351	0.5792,	0,75%	95%
18	, "Hexadecanoic acid, methyl ester		10.3210	4.6281	1,34%	98%
19	9-Octadecenoic acid, methyl ester	001937-62-8	12.7517	5.7235	8,17%	97%
20	"cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	1000333-58-3	12.7729	9.2144,	10,73%	99%
21	"Bis(2-ethylhexyl) phthalate	000117-81-7	28.3146	48.5739	48,64%	96%
22	(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	007785-26-4	3.1300	61.1561	68,91%	90%
23	D-Limonene	005989-27-5	4.3110	1.9651	3,2%	99%

m-Cymene, (Marques *et al.*, 2019) et p-cymene avaient une activité antimicrobienne (Marchese *et al.*, 2017 ; Islam, *et al.*, 2020) Même le sabinène (Bicyclo [3.1. 0] hexane, 4-méthylène-1- (1-méthyléthyl) était lié à la biosynthèse du myrcène, et Myrcen est connu pour être un composé anti-inflammatoire qui suggère que notre plante peut contenir le Myrcen. La présence phellandre et d.limonène concorde avec les travaux de Cheriti *et al.*, (2006).



#### IV.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique

La douleur et l'inflammation constituent un duo inséparable pour indiquer l'inconfort du corps, en dehors des cas pathologiques. La présente étude sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et analgésique des extraits aqueux des deux plantes a montré un potentiel d'efficacité grâce aux différents tests.

##### IV.4.1. Test des torsions abdominales

L'administration intrapéritonéal des extraits de plantes de *L. arborescens* et *L. nudicaulis* aux souris avec des doses croissantes 30 mg 100 mg et 300 mg pour mesurer l'efficacité des extraits contre l'inflammation et la douleur provoqué par l'acide acétique. La mesure est de calculer le nombre des torsions abdominales provoqué par l'acide acétique.

Les résultats de l'extrait aqueux de *L. arborescens* dans ces tests obtenus montrent une efficacité contre l'irritation de l'acide acétique de la paroi péritonéal de l'animal. Un taux d'inhibition des torsions abdominales était de 59%, 95%, 74% correspondant respectivement à des doses de 300 mg ,100 mg et 30 mg par rapport au témoin ; une réduction très significative ( $p < 0,0001$ ) et la demi concentration effective était  $CE_{50} = 47,01 \text{ mg/kg}$  (Figure 31a).

D'autre part, les résultats obtenus de l'extrait aqueux de *L. nudicaulis* montrent une réduction significative ( $p < 0,0001$ ) du nombre des torsions abdominales provoqué par l'acide acétique ; Avec un taux d'inhibition 70%, 66% % et 99% pour les doses 30 mg, 100 mg et 300 mg par rapport au témoin, et avec une demi concentration effective était  $CE_{50} = 171 \text{ mg/kg}$  (figure 31b).

Le taux d'inhibition de la diclofenac est de 78% et la morphine est de 99%. Une réduction très significative ( $p < 0,0001$ ).

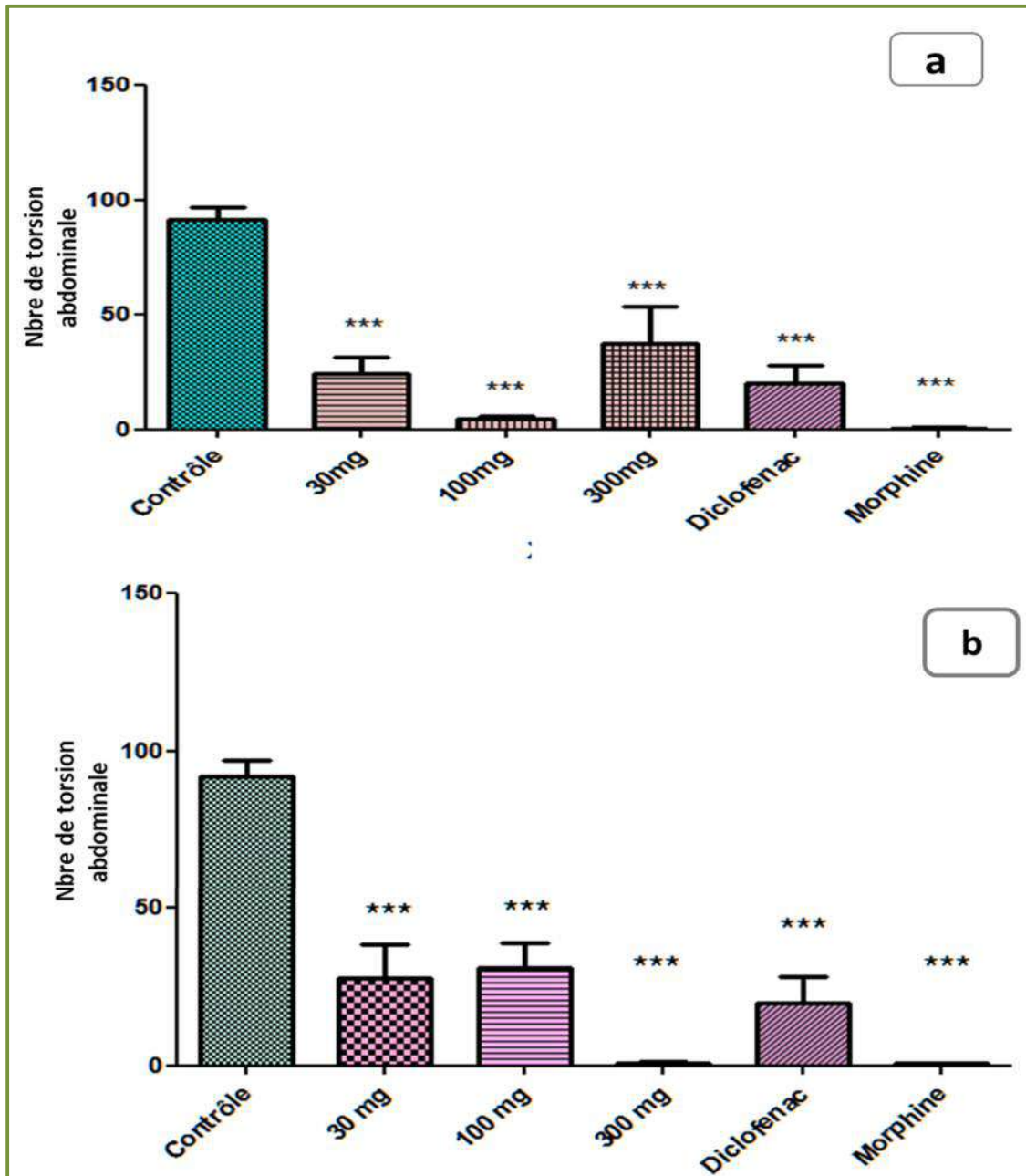


Figure 31: Test acide acétique des extraits aqueux de *L. arborescens* et *L. nudicaulis* ; a) extrait aqueux de *L. arborescens* ; b) extrait aqueux de *L. nudicaulis* (\*\*\*) :  $p < 0.0001$ ).

Les extraits aqueux des deux plantes ont montré une inhibition significative du nombre des torsions abdominales, le composé flavonoïde et polyphénols avaient un effet négatif sur la voie métabolique de la prostaglandine et / ou de la lipoxigénase (Ferrfindiz & Alcaraz, 1991). Comparaison au diclofénac et à la morphine en tant que contrôle positif.

#### IV.4.2. Test Formaline

L'injection de formaline dans les pattes arrière provoque une douleur au cours des cinq premières minutes suivies d'une inflammation après 10 min d'intervalle (Tjølsen *et al.*, 1996). Les souris traitées ont montré une légère diminution de la douleur : léchage de la patte a été plus faible avec la dose de 300 mg /kg correspond à 35% et 53% pour *L. arborescens* et *L. nudicaulis* respectivement. Un effet significatif par rapport au groupe témoin traité par le un placebo pour les 5 premières minutes (Figure 32La1, 32Na1). L'extrait aqueux ne montre pas d'effet significatif à la première phase du test de formaline pour *L. arborescens*, alors que l'effet a été significatif pour *L. nudicaulis* ( $p < 0,0001$ ) et des valeur demi concentration effective  $CE_{50} = 104,96$  mg/kg pour *L. arborescens* et  $CE_{50} = 24,6$  mg/kg pour *L. nudicaulis*

Cependant, le formaline induit une inflammation dans la seconde phase. Le léchage et /ou mordre la patte ont été diminué à la deuxième phase. Une inhibition 70% et 100% pour *L. arborescens* à 100mg et 300 mg/kg et une inhibition de 70% et 71% pour *L. nudicaulis* pour les mêmes doses ( $p < 0,0001$ ) par rapport au témoin, et des valeur demi concentration effective  $CE_{50} = 72,47$ mg/kg pour *L. arborescens* et  $CE_{50} = 78,75$ mg/kg pour *L. nudicaulis*. (Figure 32La2, 32Na2).

Une amélioration de l'effet observé, a été légèrement meilleurs que diclofénac (62%) et (74%) respectivement. L'effet de la morphine dans ce test reste très significatif ( $p < 0,001$ ) et avec un taux inhibition 89% pour les deux phases neurogénique et inflammatoire comparé au lot témoin (figure 32).

Le test à la formaline se caractérise par deux phases ; le premier est plus nociceptif et lié à un effet neurogène, l'activation de la fibre C afférente (Coderre, 2001). La deuxième phase est caractérisée par l'inflammation et la libération de médiateurs algogènes tels que l'histamine et la bradykinine (Sawynok et Liu, 2003 ; Siraux, 1977) et autres molécules seraient activées par le formaline ont été rapportés par Coderre et Sawynok. Selon Mrinmoy (2021) l'acide paracoumarine atténue la douleur neurogénique (Mrinmoy *et al.*, , 2021) et la présence de l'acide

tannique réduit l'activité de l'enzyme myeloperoxidase induite par le formaldéhyde (Soyocak et al., 2019).

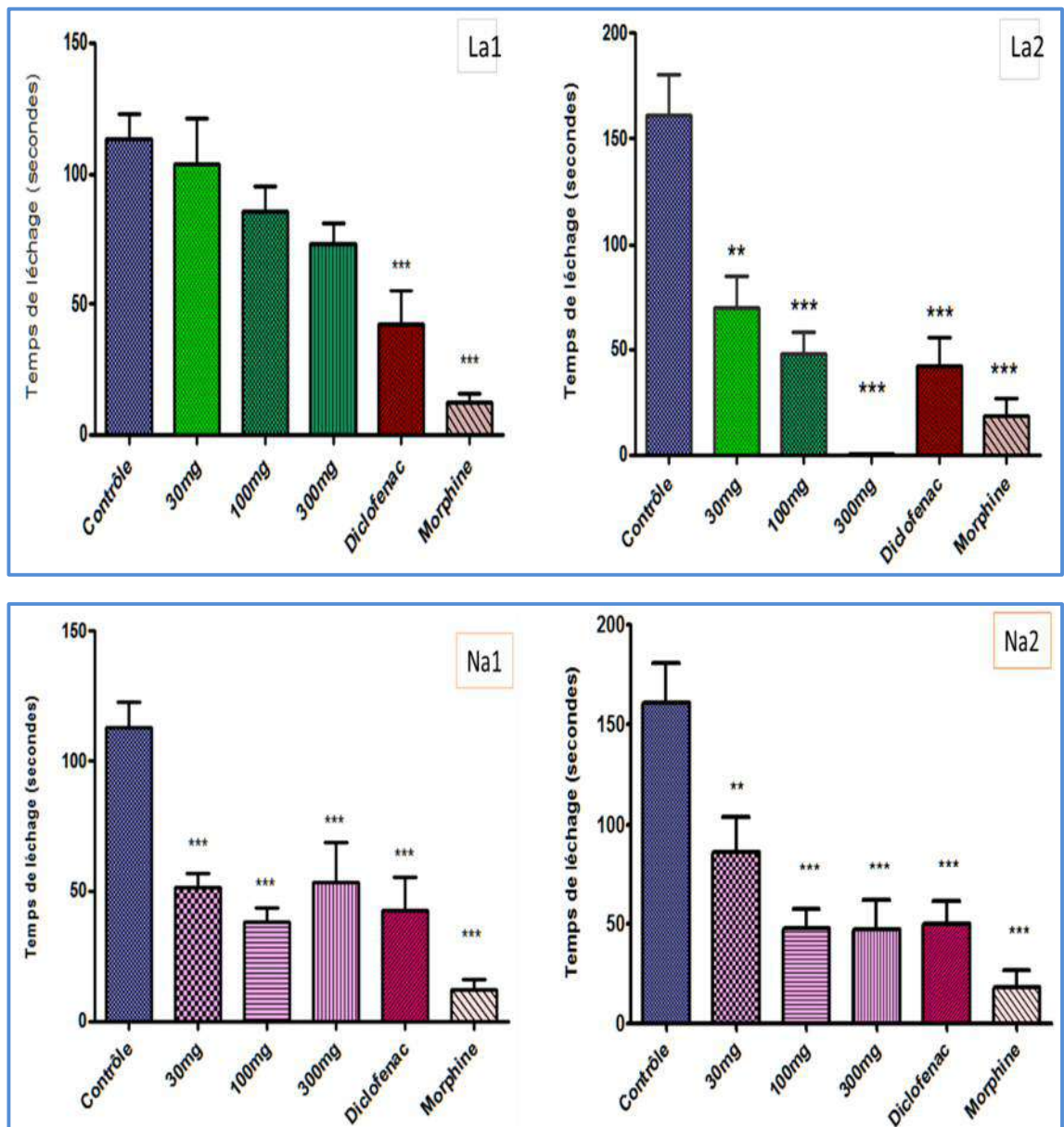


Figure 32: Test de formaline des extraits aqueux de *L. arborescens* (La1 : phase 1; La2 : phase 2) et *L. nudicaulis* (Na1 : phase 1; Na2 : phase 2). (\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.0001$ ).

#### IV.4.3. Test de sérotonine

Sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est un neurotransmetteur et de l'hormone qui contribue à la régulation de différentes fonctions physiologiques par ses actions dans le système nerveux central et dans les systèmes d'organes respectifs.

Les résultats obtenus des extraits de plantes montrent qu'il y a une variation de réponse vis à vis de l'activité anti- sérotonine, les taux d'inhibitions pour *L. arborescens* correspondaient à (35% ; 26% et 55%) et celui de *L. nudicaulis* était de 24%, 26%, 33% respectivement pour les doses : 300 mg, 100 mg, et 30 mg par rapport au témoin, Le taux d'inhibition par la miansérine était de 77% (Figure 33).

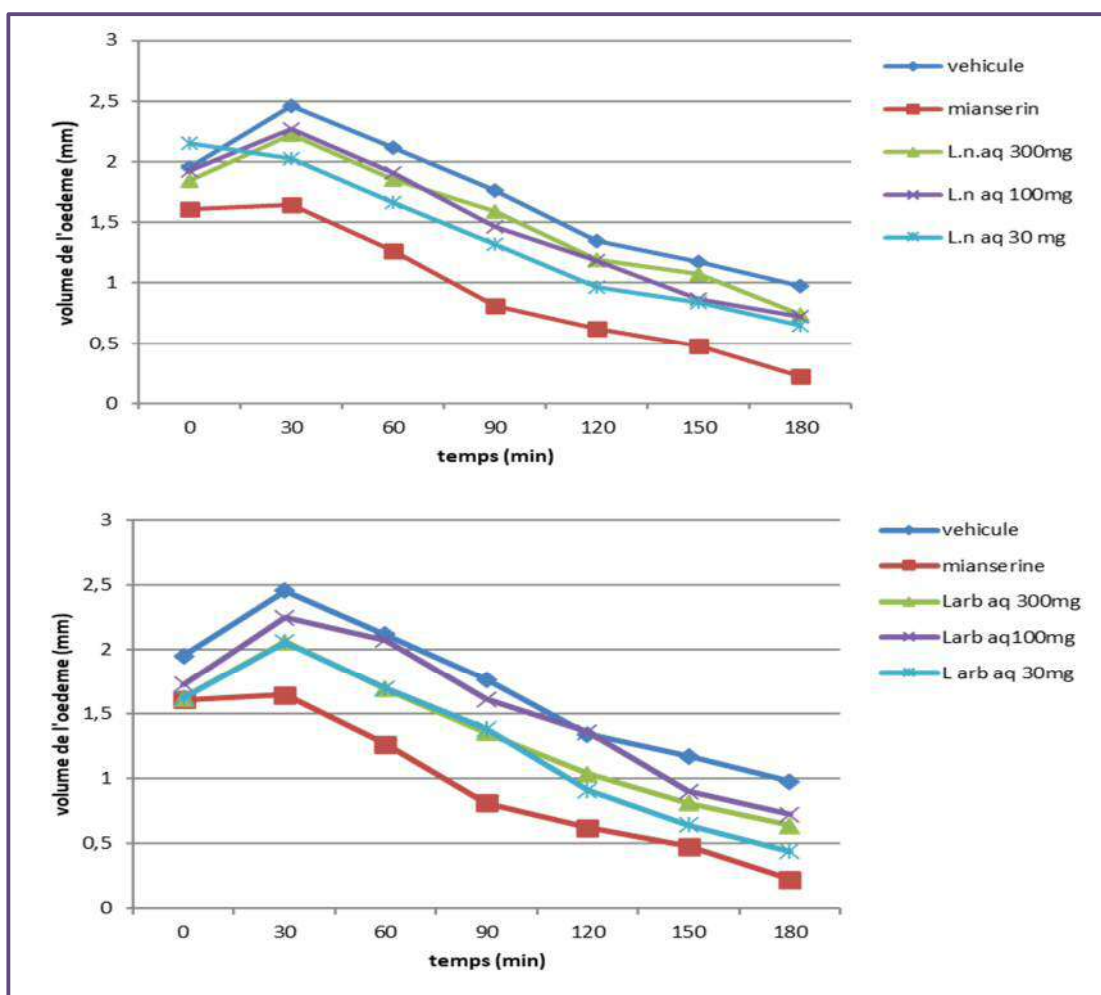


Figure 33: Représentation de la cinétique de l'inhibition de sérotonine par les extraits aqueux de *L. arborescens* (L.arb.aq) et *L. nudicaulis* (L.n.aq).

Des études sur la lutéoline et la quercétine sont capables de modifier la voie de signalisation de la sérotonine (Harron *et al.*, 2018 ; Yan Lin *et al.*, 2020).

#### IV.4.4. Test d'histamine

La sécrétion de l'histamine par les mastocytes est nécessaire pour l'enchaînement et le maintien du processus de l'inflammation, de ce faite l'inhibition de l'histamine est élaborée par utilisation son antagoniste Loratadine.

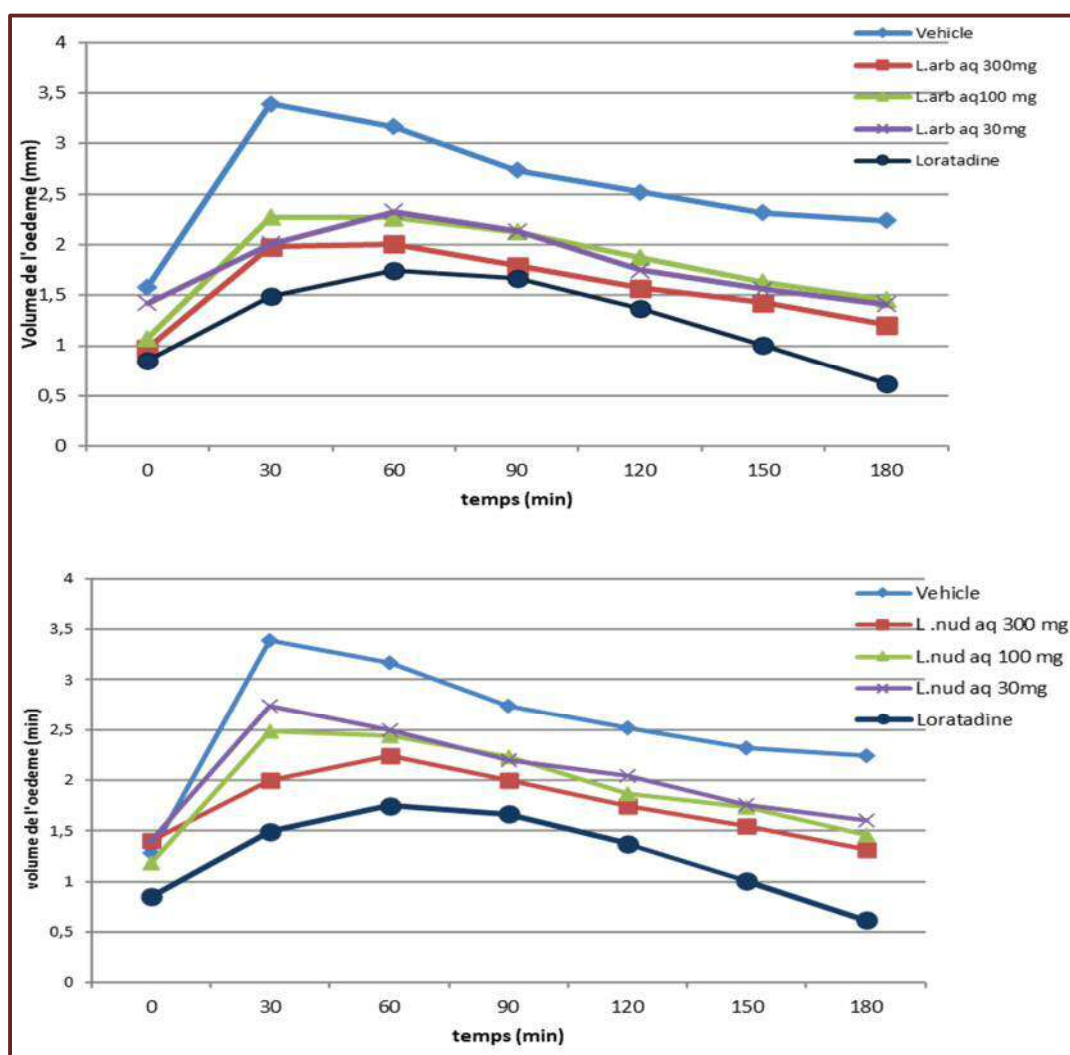


Figure 34: Représentation de la cinétique de l'inhibition d'histamine par les extraits aqueux de *L. arborescens* (Larb.aq) et *L. nudicaulis* (L.n aq).

Les résultats obtenus de l'inhibition d'histamine ont été dépendant de la dose. Les pourcentages d'inhibition des extraits aqueux de *L. arborescens* était 46%, 35% et 37% et celui de *L. nudicaulis* était (45%, 26% et 12%) respectivement 300mg, 100mg et 30mg, le pourcentage du contrôle Loratadine est de 72% (Figure 34).

Là où se situe l'inflammation, les mastocytes sont connus comme une source d'histamine, les monocytes / macrophages expriment également des récepteurs d'histamine (**Higuchi et al., 2001**) et (**Tanimoto et al., 2001**), dans l'expérimentation actuelle, l'extrait aqueux des plantes réduit sur volume l'œdème de la patte arrière environ 40% liée à l'histamine. La présence des flavonoïdes tel-que : Fisetin, kaempferol, myricetin, quercetin, et rutin réduit l'activation des mastocytes (**Hyo-Hyun et al. 2008**) et prévient les allergies (**Margarida et al., 2014**).

Ceci a amélioré le résultat de l'effet analgésique et anti-inflammatoire et explique d'une part la réduction des effets des tests acide acétique et de formaline. Par ailleurs, les tests sérotoninergique et histaminergique ont montré une inhibition dose-dépendante chez la souris.

#### IV.4.5. Test de capsaïcine

Les récepteurs TRPV1 (sigle anglais pour Transient Receptor Potential Vanilloïde 1) sont des récepteurs ionotropiques activés par des molécules de la famille des vanilloïdes (V) telle que la capsaïcine. Ces récepteurs interviennent dans les mécanismes nociceptifs et s'activent en réponse à un stimulus thermique supérieur à 44 °C (**Caterina & Julius, 2001**). La capsaïcine est un agent de libération de neuropeptide sélectif pour les neurones périphériques sensoriels primaires (**Caterina et al., 1997**).

Dans ce cadre il a été évalué l'efficacité des extraits aqueux des deux plantes : *L. arborescens* et *L. nudicaulis* sur les récepteurs vanilloïdes. Les résultats obtenus des extraits aqueux de *L. arborescens* montrent un taux d'inhibition de léchage de la patte droite varie entre 9% et 70% (30mg et 300mg/kg), et celui de *L. nudicaulis*, les meilleurs taux d'inhibition sont de 51% pour la dose 300mg ( $p < 0.001$ ) les valeurs de CE<sub>50</sub> pour *L. arborescens* et *L. nudicaulis* étaient égale à 55,18 et 70,92 mg/kg respectivement.

Les taux d'inhibition de la diclofénac et la capsazepin sont de 60%. Concernant l'ASA, un taux d'inhibition est de 27% (Figure 35).

Ainsi, la capacité des extraits aqueux pourrait être expliquer, au moins partiellement, par un effet anti-nociceptif induit par la capsaïcine. Il se peut que les métabolites secondaires existants dans

les extraits aqueux ayant empêché la phosphorylation de TRPV1 par les phosphokinases (Premku mar et Ahern, 2000 ; Calixto *et al.*, 2003 ; Ferreira *et al.*, 2004) ou ayant occupé le site du récepteur du TRPV, en réduisant ainsi la sensibilisation de ce récepteur sensible à la capsaïcine,

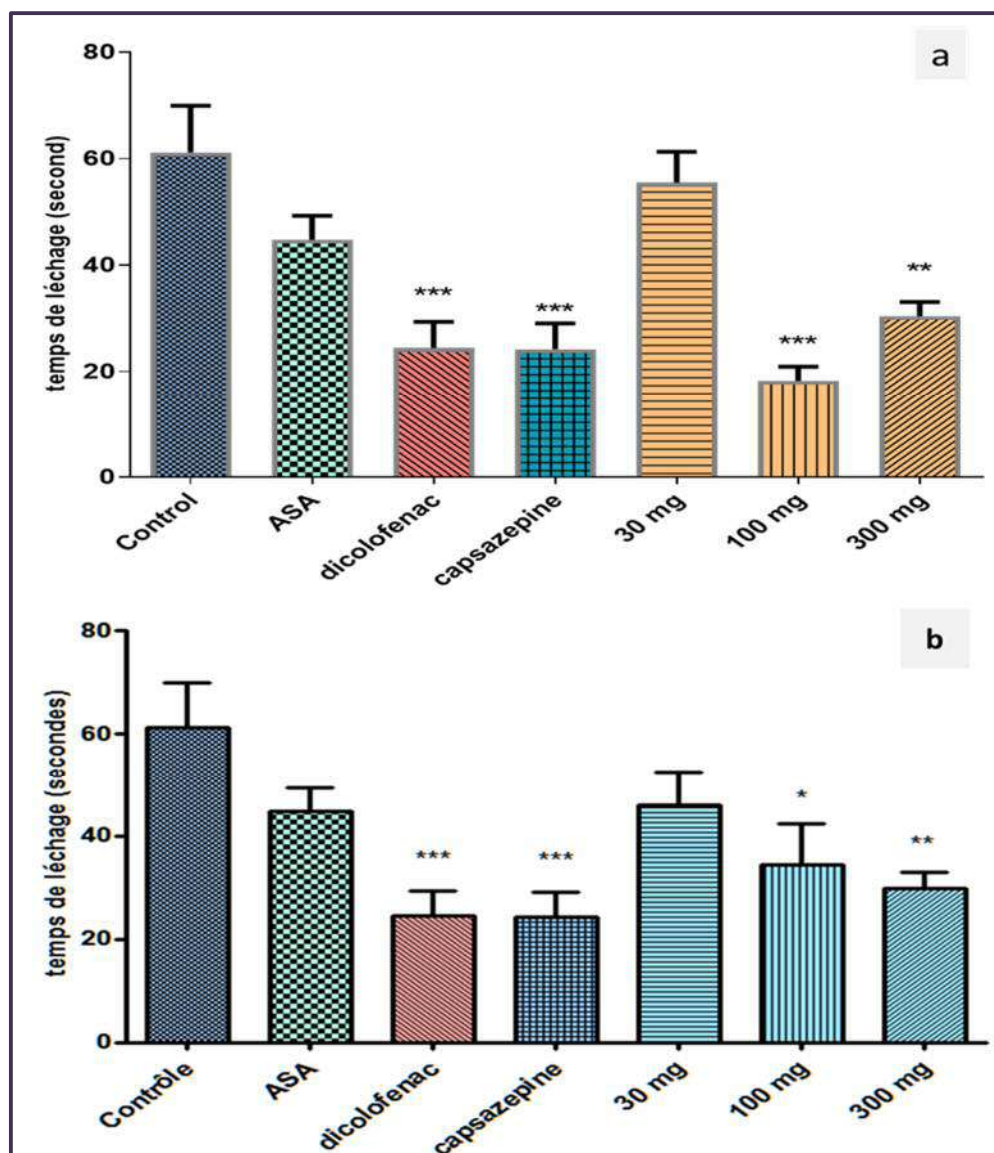


Figure 35: Test de capsaïcine sur les extraits aqueux de plantes ; a) Extrait aqueux de *L. arborescens*. b) Extrait aqueux de *L. nudicaulis* (\* :  $p < 0.05$  \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.0001$ )



## Conclusion

Cette étude a pu mettre en évidence plusieurs caractéristiques des plantes étudiées : *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*.

L'enquête ethnopharmacologique révèle que la population conserve ses habitudes d'utilisation des plantes pour traiter les maux quotidiens malgré l'amélioration du système de santé, de plus l'utilisation des plantes médicinales n'est plus une pratique réservée aux femmes illettrées mais actuellement même les personnes avec un niveau d'éducation utilisent et pour les deux sexes (homme et femme).

Les analyses qualitatives physicochimique des extraits méthanolique ont montré une présence de polyphénols, flavonoïde et absence d'amidon. D'autre part les analyses LC-MS-QToF concernant les polyphénols et flavonoïdes a révélé de la présence d'une liste significative de polyphénol et flavonoïdes certains d'eux n'ont été jamais signalés dans la littérature. L'analyse des produits volatils de l'extrait butanolique de *L. arborescens* par GC-MS a montré de nouvelles molécules n'ont pas était encore rapporté par la littérature. Suite à ces résultats les analyses physicochimiques obtenues contribuent à enrichir la banque de données en métabolites secondaires de ces deux espèces du genre *Launaea*.

En termes d'activité biologique, les analyses anti-inflammatoire et analgésique révèlent le potentiel pharmacologique des deux plantes pour le traitement des maladies liées à l'inflammation et la douleur d'une part et confirme l'utilisation traditionnel sous forme aqueuse des deux plantes (*L. arborescens* et *L. nudicaulis*).

Les analyses physicochimiques précédemment annoncées (LC-MS-QToF et GC-MS) ne fait confirmer l'activité anti-inflammatoire et analgésique. La présence de plusieurs classes de flavonoïdes : favonol (Quercitine, kaempférol), flavones (orientin), flavan-3-ols ((-)-epigallocatechin, catechin), anthocyanidine (cyanidin, chrysanthemine). Isoflavone (mirificin). Les extraits aqueux des deux plantes ont pu inhiber l'effet inflammatoire de l'acide acétique et celui de la formaline. D'autre part l'effet antihistaminique et anti-sérotonine étaient dose-dépendant et peu efficace. Cependant l'effet de l'extrait aqueux sur les récepteurs TRPV varie d'une plante à l'autre, *L. nudicaulis* efficace à la grande dose 300mg et *L. arborescens* était à la dose de 100 mg.

## CONCLUSION

L'extrait aqueux contient plusieurs métabolites secondaires qui a amélioré l'activité anti-inflammatoire et analgésique chez les souris par apport aux médicaments utilisés.

Pour conclure, les extraits aqueux de *L. arborescens* et *L. nudicaulis* ont montré un potentiel remarquable contre l'inflammation et la douleur.

En perspective, nos travaux sont une étape préliminaire et une prolongation de ce travail est souhaitable par des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- ✓ Des expériences ultérieures utilisant des extraits purifiés pour identifier précisément les composés responsables de l'activité pharmacologique.
- ✓ Des tests complémentaires sur l'évaluation des médiateurs proinflammatoire et algésique telle que Cyclooxygenase en utilisant des extraits des deux plantes *Launaea arborescens* et *Launaea nudicaulis*.
- ✓ Il serait également intéressant de réaliser d'autres études d'anti-inflammatoire et analgésique sur les maladies inflammatoires chroniques

## Références

- Thienhaus, O., & Cole, B. (2002). Classification of pain. In: Dans W. R, *Pain management: a practical guide for clinicians*. Boca Raton. CRC Press.
- Abul K. Abbas, A. H. (2015). *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Elsevier.
- Ahmed , Z., Ali, D., & Malik, A. (2006). Structure determination of ursene-type triterpenes by NMR techniques. <https://doi.org/>. *Magn. Reson. Chem.*, 44: 717-719.  
doi:10.1002/mrc.1803
- Ajaib , M., Ishtiaq, M., Bhatti, K., Hussain, I., Maqbool, , M., & Hussain, T. (2021). Inventorization of traditional ethnobotanical uses of wild plants of Dawarian and Ratti Gali areas of District Neelum. *Azad Jammu and Kashmir Pakistan. PLOS ONE.*, 16, e0255010.
- Ambrose, A. D. (2016). *Leafy medicinal herbs : botany, chemistry, postharvest technology and uses*. Boston: MA.CABI.
- Ashihara, H., & Crozier , A. (2001). Ashihara, H. and Crozier, A. (2001) Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends Plant Sci*, 6, 407–413.
- Bahadur, K. a. ( 1974.). *Proc. Natl.Acad. Sc. , India, Sect. A, (Chem.Abst. 84: 19232h*, 44, 264.
- Balentine, D., Wiseman, S., & Bouwnes, L. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Crit. Rev.Food Sci. Nutr.*, 37, 693–704.
- Barton, G. M. (2008). calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J. Clin. Invest.*, 118, 413–420.
- Behari, M., & Gupta, R. (1980). *J. Chem. Section B:*, 19B (10), 926.
- Belboukhari, , N., Cheriti, A., Roussel, C., & Vanthuynne , N. (2010 ). Chiral separation of hesperidin and naringin and its analysis in a butanol extract of Launaea arborescens. *Natural product research*, 24 (7): 669-681.
- Belboukhari, N., Cheriti, A., & Roussel, C. (2007). New flavonoids from butanol extract of Launaea arborescens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicines Journal*, 4 (S1), 55-58.
- Belboukhari, N., & Cheriti, A. (2006). Phytochemical investigation of the bioactive extract. *Pak J Biol Sci*, 2930-2932.

- Belboukhari, N., & Cheriti, A. (2008). Ethnomedical and antimicrobial studies of *Launaea nudicaulis*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(3), 2749–2753.
- Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. IBIS Press.
- Biesma, D. H. (2001). A family with complement factor D deficiency. *J. Clin. Invest.*, 108, 233–240.
- Bitam, F., Ciavatta, M., Manzo, E., Dibi, A., & Gavagnin, M. (2008). Chemical characterisation of the terpenoid constituents of the Algerian plant *Launaea arborescens*. *Phytochemistry*, 2008, 69 (17), 2984-2992.
- Bjorkman, R. (1995). Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta Anaesthesiol Scand*, 103:1–44.
- Bors, W., & Saran, M. (1987). Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radic Res Commun*, 2, 289-294.
- Bremer, K. (1994). *Asteraceae: Cladistics and Classification*. Portland: Timber Press.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris.
- Buckingham, J. (2004). *Dictionary of Natural Products*. Chapman and Hall/CRC.
- Burke Anne, S., & FitzGerald Garret, A. (2011). Analgesic antipyretic and antiinflammatory agents; pharmacotherapy of gout. Dans G. & Gilman, *the pharmacological basis of therapeutics*.
- Burns, J., Yokota, T., & Ashihara, H. (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J. Agric.Food Chem*, 50, 3337–3340.
- Buxeraud, J. (2007). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *ACTUALITÉS PHARMACEUTIQUES*, 460-02. doi:2007#10317
- Calixto, J., Otuki, M., & Santos, A. (2003). Antiinflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor-B (NF-B). *Planta Med.* 2003 Nov; 69(11), 973-83. doi:10.1055/s-2003-45141
- Calvino.B. (2007). Pain mechanisms. *Psycho-Oncologie*, 2, 81–87.
- Cashman, J. (1996). The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. *Drugs.*, 52 (5):13–23.
- Caterina, M., & Julius, D. (2001). The vanilloid receptor: A molecular gateway to the pain pathway. *Annu. Rev. Neurosci.*, 24, 487–517.

- Caterina, M., Schumacher, M., Tominaga, M., Rosen, T., Levine, J., & Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389, 816–824.
- CAVAILLON, J.-M. (2021, may 23). <https://www.universalis.fr/encyclopedie/reaction-inflammatoire/>. Récupéré sur encyclopaedia-universalis.fr: www.encyclopaedia-universalis.fr/
- Cervero, F., & Laird, J. (1991). One Pain or Many Pains? *Physiology*, , 6(6), 268–273. doi:10.1152/physiologyonline.1991.6.6.268
- Chandrasekharan, N., Dai, H., Roos, K., Evanson, N., Tomsik, J., Elton , T., & Simmons, D. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 13926-13931.
- Cheriti A, Saad A, Belboukhari N, & Ghezali S. (2006). Chemical composition of the essential oil of *Launaea arborescens* from Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 42(3), 360-361.
- Cheriti, A. B. (2012). Phytochemical and biological studies on *Launaea* Cass. genus (Asteraceae) from Algerian Sahara, . *Current Topics in Phytochemistry Review*, 11: 67. 42.
- Ciesla, L., Wojtunik-Kulesza K A, Oniszczyk A, & Waksmundzka-Hajnos M. (2016). Antioxidant synergism and antagonism between selected monoterpenes using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Flavour Fragrance Journal*, 31, 412-419.
- Clifford, M. (1986). Phenol–protein interactions and their possible significance for astringency. . Dans G. B. Lindley, *Interaction of Food Components*. (pp. 143–164). London: Elsevier Applied Science,.
- Coderre, , T. (2001). Noxious stimulus-induced plasticity in spinal cord dorsal horn: Evidence and insights on mechanisms obtained using the formalin test. . Dans I. M. (Eds.), *Spinal cord plasticity: Alterations in reflex function*. Boston.
- Cohen, M., Quintner, J., & Van Rysewyk, S. (2018). Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain Rep*, 3(2), e634. doi:10.1097/PR9.000000000000063
- Condeelis, J., & Pollard, J. W. (2006). Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell*, 124, 263–236.

- Croteau, R., Kutchan, T., & Lewis, N. (2000). Natural products (secondary metabolites). (eds), . Dans W. G. B.B. Buchanan, *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*. (pp. 1250–1). Rockville,: American Society of Plant Physiologists.
- Crozier, A., Clifford, M., & Ashihara, H. (2006). *Plant Secondary Metabolites*. Blackwell Publishing Ltd.
- Crozier, A., Lean, M., & McDonald, M. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Food Chem*, 45:590–595.
- De Ledingham, V., Heresbach, D., & Fourdan, O. (1999). Anti-inflammatory drugs and variceal bleeding: a case-control study. *Gut*, 44(2):270–3.
- Devi S, R. N. (2021). Anti-atherogenic effect of Nepitrin-7-O-glucoside: A flavonoid isolated from *Nepeta hindostana* via acting on PPAR -  $\alpha$  receptor. *Steroids*, 165, 108770. doi:10.1016/j.steroids.2020.108770
- Dewick, P. (2002). Dans *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. Chichester: John Wiley and Sons,.
- Dhingra, A. (2015). Dhingra, A.K An update on antiinflammatory compounds: a review. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med. Chem.*, 14 (2), 81–97.
- Dibi, A., Bitam, F., Ciavatta, M., Manzo, E., Mohamed Cherif Aberkan, M., & Gavagnin, M. (2013). Germacranolide Sesquiterpene Lactones from the Endemic Algerian Plante *Launaea Arborescens*,. *IRISET ICEMCE'2013 and ICHCES'2013*.
- Dubuisson, D., & Dennis, S. (1977). The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4, 161–174.
- Dworkin, R., Backonja, N., Rowbotham, M., Allen, R., Argoff, C., Bennett, G., & Bushnell, M. (2003). advance in neuropathic pain: mechanisms, and treatment recommendations. *Arch Neurol*, 60, 1524-34.
- Ekman, E., & Koman, L. (2005). Acute pain following musculoskeletal injuries and orthopaedic surgery: mechanisms and management. *Instr Course Lect*, 54: 21– 33.
- El-Newary, S., Afifi, S.M, Aly, M.S, Ahmed, R.F, El Gendy, A.-N., Abd-ElGawad, A., . . . Elgamal, A. (2021). Chemical Profile of *Launaea nudicaulis* Ethanolic Extract and Its Antidiabetic Effect in Streptozotocin-Induced Rats. *Molecules*, 1000, 26. doi:doi.org/10.3390/molecules26041000

- EMAN , R.-S., ABDELAZIZ , E.-D., & EMAD , M. (2017). 2017. Phytochemical, antimicrobial and antioxidant properties of *Launaea nudicaulis* and *Farsetia hamiltonii*. *Journal of Biological Control*, 2017. 31(2): 102-109.
- ENEBELI-EKWUTOZIAM, K. C., ARUAH, C., OGBONNA, B. O., & al, e. (2021). Ethnomedicinal survey of plants used in the treatment of skin-related ailments in the Northern Delta State of Nigeria. *ASIAN JOURNAL OF ETHNOBIOLOGY*, 4 (2), 76-85. doi:10.13057/asianjethnobiol/y040202
- Facchini, P. (2001). Alkaloid biosynthesis in plants: Biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Plant Mol. Biol, Annu. Rev. Plant Physiol*, 52, 29–66.
- Feng YL, L. L. (2020). Research progress on antitumor activity of quercetin derivatives. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 45 (15), 3565-3574. doi:10.19540/j.cnki.cjcm.20200428.602
- Ferreira, J., Da Silva , G., & Calixto , J. (2004). Contribution of vanilloid receptors to the overt nociception induced by B2 kinin receptor activation in mice. 2004;. *Br J Pharmacol*, 141, 787–94.
- Ferrfindiz, M., & Alcaraz, M. J. (1991). Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents and Actions*, 32(2), 283-288.
- Fiorucci, S., Meli , R., Bucci, M., & Cirino, G. (2001). Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? *Biochem Pharmacol.*, 1;62(11):1433-8).
- Friedman, , M., Roitman, , J., & Kozukue, N. (2003). Glycoalkaloid and Calystegine Contents of Eight Potato Cultivars. *J. Agric. Food Chem*, 51, 10, 2964–2973.
- Friedman, J., yasniva, Z., Dafnib, A., & Palewitch, D. (1986). A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *J.Ethnopharmacology*, 16, 275-287. doi:10.1016/0378-8741(86)90094-2
- Gaitan, E., Lindsay, R., & Reichert, R. (1989). Antithyroidic and gioterogenic effects of millet:role of C-glycosylflavones. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 68: 707–714.
- Giner, R., Diaz, J., Manez, S., & Recio, M. (1992). Phenolic of Spanish *Launaea* species. *Biochem. System. Ecol.*, 20, 187, 20:187–188.

- Gordon , S., Brahim , J., & Rowan, J. (2002). Peripheral prostanoid levels and nonsteroidal anti-inflammatory drug analgesia: replicate clinical trials in a tissue injury model. *Clin Pharmacol Ther.*, 72(2):175–83.
- Graser, , G., & Hartmann, T. (2000). Biosynthesis of spermidine, a direct precursor of pyrrolizidine alkaloids in root cultures of *Senecio vulgaris* L. *Planta*, 211, 239–245.
- Gross, G. (1992). Enzymes in the biosynthesis of hydrolysable tannins. Dans P. L. R.W. Heminway, *Plant Polyphenols*. (pp. 43–60.). New York,: Plenum Press,.
- Harborne, J. (1993). *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. London): Chapman & Hall.
- Harborne, J. (1998). *Phytochemical Methods, guides to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman & Hall.
- Harron , K., Mohammad , J., Mohammad , A., Alessandra, B., Jianbo , X., & Seyed , M. (2018). Evidence and prospective of plant derived flavonoids as antiplatelet agents: Strong candidates to be drugs of future. *Food Chem Toxicol*, 119, 355-367. doi:10.1016/j.fct.2018.02.014
- Hasegawa, S., Lam, L., & Miller, E. (2000). Citrus flavonoids: biochemistry and possible importance in human nutrition. Dans In F. Shahidi and C.-T. Ho (eds), *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*. (pp. 95-105). AOCS Press, Champaign, IL,.
- Heike, E., & Norbert, B. (2008). *Pathways of Spinal Pain, Fundamentals of Diagnosis and Treatment* . Verlag Berlin Heidelberg: Springer.
- Higgs, G., Moncada, S., & Vane, J. (1984). . Eicosanoids in inflammation. *Ann. Clin. Res.*, 16, 287–299.
- Higuchi, S., Tanimoto, A., & Arima, N. (2001). Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis. *FEBS Lett.*, 505, 217–222.
- <http://recap-ide.blogspot.com/2014/11/la-douleur-physiologie.html>. (2014, 11).
- Humphrey, A. J., & Beale, M. H. (2006). Terpenes. Dans M. N. Alan Crozier, *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Blackwell Publishing Ltd.
- Hyo-Hyun , P., Soyoung , L., Hee-Young , S., Seung-Bin , P., Mi-Sun , K., & Eun-Ju , C. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch Pharm Res*, 10, 1303-11. doi:10.1007/s12272-001-2110-5



- Ichikawa, M., Ryu, K., & Yoshida, J. (2003). Identification of six phenylpropanoids from garlic skins as major antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, 7313–7317.
- Islam, A., Hellman, B., Nyberg, F., Amir, N., Jayaraj, R.L., Petroianu, G., & Adem, A. (2020). Myrcene Attenuates Renal Inflammation and Oxidative Stress in the Adrenalectomized Rat Model. *Molecules*, *25*(19), 4492. doi:10.3390/molecules25194492
- Jamila, A.-M., Jamal Nasser , A.-S., & Mohammed , S. (2011). Essential oil composition and antimicrobial screening of *Launaea nudicaulis* grown in oman. *IJPSR*, *2*(12): 3166-3169.
- Jegadeeswari P, Nishanthini A, Muthukumaraswamy S, & Mohan VR. (2012;). GC-MS analysis of bioactive components of *Aristolochia krysagathra* (Aristolochiaceae). *J Curr Chem Pharm Sci*, *2*, 226-36.
- Ji , Y., Yu , M., Wang , B., & Zhang, Y. (2014). The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. (1, Éd.) *J. Chem. Pharm. Res*, *6*, 338-345.
- Johnston, K., Clifford, M., & Morgan, L. (2002). Possible role for apple juice phenolic compounds in the acute modification of glucose tolerance and gastrointestinal hormone secretion in humans. *J. Sci. Food Agric*, *82*, 1800–1805.
- JOUZEAU, J., DAOUPHARS , M., BENANI , A., & NETTER , P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, *28* (3): 7-17.
- Karasawa, K., Uzuhashi, Y., Hirota, M., & Otani, H. A. (2011). Matured Fruit Extract of Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.) Stimulates the Cellular Immune System in Mice. *J. . .*, *59*,. *Agric. Food Chem*, *15*, 11287–11293.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Basic & Clinical of pharmacology*. McGraw-Hill Companies.
- Kehlet , H., Jensen, T., & Woolf , C. (2006). Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet*, *367*, 1618– 25.
- Kim , H., Seo, H., Abdi , S., & Huh, B. (2020). All about pain pharmacology: what pain physicians should know. *The Korean journal of pain*, *2*, 108-120. doi:10.3344/kjp.2020.33.2.108
- Kishan , G., & Jean-Michel, M. (2013). *Natural Products Pharmaceutical Phytochemistry alkaloids Terpens Penolic*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer-.
- Koes, R., Quattrocchio, F., & Mol, J. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*, *16*: 123–132.

- Koster, R., Anderson, M., & De-Beer, E. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed.Proc.* , 18, 412–418.
- Kroin , J., Buvanendran, A., & McCarthy , R. (2002;.). Cyclooxygenase-2 inhibition potentiates morphine antinociception at the spinal level in a postoperative pain model. *Reg Anesth Pain Med.*, 27(5):451–5.
- Kuby, J., Richard, G., Thomas, K., & Osborne, B. A. (2000.). *Immunology*, (éd. 4th ed.;). (W. Freeman, Éd.) New York: W.H. Freeman & Co.
- Kumar, S., & Pandey, A. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *he Scientific World Journal*, 16. doi:10.1155/2013/162750
- Kumar. , V., Abul K, A., Jon C, A., James , A., & Perkins, S. (2018). *Robbins Basic Pathology* (éd. 10th ). Elsevier.
- Laine, L. (2001;). Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. *Gastroenterology.*, 120(3):594–606.
- LANDRY, Y., & GIES, J. (2009). Voies complexes de signalisation,. Dans Dunod (Éd.), *Pharmacologie, des cibles vers l'indication thérapeutique* (éd. 2, pp. 139-165). Paris: Dunod.
- Liggins, J., Bluck, L., & Runswick, S. (2000). Daidzein and genistein contents of vegetables. . *Br. J. Nutr.*, 84:717–725.
- Lynch , S., & Brogden , R. (1986;). A preliminary review of its pharmacodynamic activity and therapeutic use. *Drugs.*, 31(4):288–300.
- Majno, G. &. (2004). *Cells, Tissues and Disease*. Oxford : Oxford Univ. Press.
- Majumdar, P., & Laha, S. (1982). *Journal of Indian Chemical Society*, 59, PP. 881-883.
- Marchese A, Arciola C R, Barbieri R, Silva A S , Nabavi S F, Tsetegho Sokeng A J, . . . Nabavi S M. (2017). Update on Monoterpenes as Antimicrobial Agents: A Particular Focus on p-Cymene. *Materials*, 10, 947. doi:10.3390/ma10080947
- Margarida , C., Francisco , J.-C., Mar , A.-G., & Àngels , F. (2014). Flavonoids on allergy. *Curr Pharm Des*, 6, 973-87. doi:10.2174/13816128113199990041
- Marques F M, Figueira MM , & Schmitt E F P. (2019). In vitro anti-inflammatory activity of terpenes via suppression of superoxide and nitric oxide generation and the NF-κB signalling pathway. *Inflammopharmacol*, 27, 281–289. doi:10.1007/s10787-018-0483-z

- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454.  
doi:10.1038/nature07201
- Mrinmoy, G., & Muthiah, R. (2021). Ameliorative potential of flavonoids of *Aegle marmelos* in vincristine-induced neuropathic pain and associated excitotoxicity. *Nutr Neurosci*, 4, 296-306. doi:10.1080/1028415X.2019.1627768
- Muir, W., & Woolf, C. J. (2001). Mechanisms of pain and their therapeutic implications. *J Am Vet Med Assoc*, 219, 1346-56.
- Musk, A., & DE KLER, N. (2003). History of tobacco and health. *Respirology*, 8: 286–290.
- Nasser, B., Cheriti, a., Khaled, s., Rahmani, S., & Habbab, A. (2016). Triterpenoid and flavonoid from aerial part of *Launaea arborescens*. *Der Pharma Chemica*, 8(2), 17-21.
- Ness, A., & Powles, J. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol*, 26, 1-13.
- Ober, D., & Hartmann, T. (1999). Homospermidine synthase, the first pathway-specific enzyme of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis, evolved from deoxyhypusine synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 14777–14782.
- Olusegun, A., Nour Hamid, A., Rosli, M., & Oluwaseun, R. (2018). Data article on elemental and metabolomic-based alkaloidal composition in black pepper oleoresin using a positive ESI-mode LC-QToF and ICP-mass spect. *Data in Brief*, 19:1627-1630.  
doi:10.1016/j.dib.2018.06.034
- Ozenda, P. (2004). *Flore et végétation du sahara*. paris: CNRS.
- Panche, A., Diwan, A., & Chandra, S. (2016). Flavonoids: an overview. *JOURNAL OF NUTRITIONAL SCIENCE*, 5, 1-15. doi:10.1017/jns.2016.41
- Patel, P., Patel, N., & Patel, P. (2011). WHO GUIDELINES ON QUALITY CONTROL OF HERBAL MEDICINES. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(4), 1148-1154.
- Pathologistes, C. F. (2011). *La réaction inflammatoire. Les inflammations*.
- Pober, J. S. & Sessa, W. C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. (2007). *Nature Rev. Immunol*, 7, 803–815.
- Po-Yi Chen, Celeste Yin-Chieh Wu, Garrett A, Alexandre C S, Harlee E, Nathan E F, . . . Shashanka R. (2020). Stearic acid methyl ester affords neuroprotection and improves functional outcomes after cardiac arrest. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 159, 102-138. doi:10.1016/j.plefa.2020.102138

- Praveen Rao, P., & Edward, E. (2008). Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 11 (2): 81s-110s,. Récupéré sur (www. cspsCanada.org)
- Premkumar, L., & Ahern, G. (2000;). Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature*, 408, 985–90.
- Punt, J., Stranford, S. A., Jones, P. P., & Owen, J. A. (2018). *Immunology* (éd. 8). Macmillan Higher Education.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*,. Paris: CNRS.
- Ragaa, M. A., Mansour, A., Ahmed, A., & Nabel, A. (1983). Flavone glycosides of some *Launaea* species. *Phytochemistry*, 26-30.
- Rahbar, I., Abbasnejad M, Haghani J, Raouf M, & Kooshki R E. (2019). The effect of central administration of alpha-pinene on capsaicin-induced dental pulp nociception. *International Endodontic Journal*, 52, 307– 317. doi:10.1111/iej.13006
- Ronaldo A. Ribeiro, Mariana L. Vale, Sara M. Thomazzi, Adriana B.P. Paschoalato, Steve Poole, Sergio H. Ferreira, & Fernando Q. Cunha. (2000). Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology*, 387, 111–118.
- Ruiz, M., & Sotelo, A. (2001). Chemical composition, nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *J. Agric. Food Chem*, 49, 5336–5339.
- Russo CM, B. W. (1998). Chronic pain. *Annu Rev Med*, 49:123– 33.
- Salaritabar A, D. B. (2017). Therapeutic potential of flavonoids in inflammatory bowel disease: A comprehensive review. *World J Gastroenterol.*, 23(28), 5097-5114. doi:10.3748/wjg.v23.i28.5097
- Samad, T., Sapirstein, A., & Woolf, C. (2002). Prostanoids and pain: unraveling mechanisms and revealing therapeutic targets. *Trends Mol Med.*, 8(8):390–6.
- Sarg, T., Omar, A., Ateya, A., & Hafiz, S. (1986). Phenolic constituents of *Launaea nudicaulis* (L.). *Egypt J Pharm Sci*, 25:35–40.
- Sawynok, J., & Liu, X. (2003). The formalin test: Characteristics and usefulness of the model. *Reviews in Analgesia.*, 7, 145–163.
- Scholl, Y., Hoke, D., & Drager, B. (2001). Calystegines in *Calystegia sepium* derived from the tropanealkaloid pathway. *Phytochemistry*, 58: 883–889.

- Scholz , J., & Woolf , C. (2002). Can we conquer pain? *Nat Neurosci*, 5, 1062– 7.
- Seddiki, L., Belboukhari, N., Ouldelhadj khelil, a., Mohd, R., Yakoubi, M., Sekoum, K., & Cheriti, A. (2019). investigation of the analgesic an anti-inflammatory activities of launaea nudicaulis from southwest of algeria. *Biomedical Journal science &Technology Research*, 17173-17178.
- Seibert , K., Zhang , Y., & Leahy, K. (1994). Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91(25):12013–17.
- Sekkoum, K., Belboukhari, N., & Cheriti , A. (2014). 2014. New flavonoids from bioactive extract of Algerian medicinal plant Launaea arborescens. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(4): 267-271.
- Serhan, C. N. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunol*, 6, 1191-1197.
- Serhan, C. N. (2007). Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu. Rev. Immunol*, 25, 101–137.
- Serhan, C., Ward , P., & Gilroy, D. (2010). *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.
- Sherrington, C. S. (1906). *The Integrative Action of the Nervous System*. New York,: Charles Scribner's Sons.
- Shu-Chen G, R. G.-T.-X.-Y.-K. (2020). Quantitative analysis of fermented aerial part of Bupleurum chinense and prediction of their antimicrobial activity. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 45(17), 4238-4245. doi: . doi:10.19540/j.cnki.cjcm.20200622.305.
- Siriaux, P. (1977). Diclofenac (voltaren) for the treatment of osteoarthritis: a double-blind comparison with naproxen. *Journal of International Medical Research*,. 5, 169–174.
- Soyocak , A., Kurt, H., Turgut Cosan, H., & Saydam , F. (2019). Tannic acid exhibits anti-inflammatory effects on formalin-induced paw edema model of inflammation in rats. *Hum Exp toxicity*, 11, 1296-1301. doi:10.1177/0960327119864154
- Steinhoff, M., Vergnolle, N., Young, S., Tognetto, M., Amadesi, S., Ennes, H. S., & Trevisani, M. e. (2000 ). Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med*, 6(2), 151-158. doi:10.1038/72247
- Steinmeyer, J. (2000). . Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arthritis research*, 5, 379–385. doi:10.1186/ar116

- Strack, D. (1997). Phenolic metabolism. Dans P. D. Harborne, *Plant Biochemistry* (pp. 387–416.). London: Academic Press.
- Strack, D., Vogt, D., & Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62, 247–269.
- Sudhanshu S, Sanjeev K, Sachin N, Sumit G, & Satyendra G. (2021). ‘BhAVI-23’-A spice-herb based dietary infusion possessing in-vitro anti-viral potential. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. doi:10.1016/j.jaim.2020.11.005
- Sulaiman, M., Perimal, E., & Zakaria, Z. (2009). Preliminary study of the antinoceptiveactivity of zerombone. . *Fitoterapia* , 80, 230–232.
- Svensson , C., & Yaksh , T. (2002). The spinal phospholipase-cyclooxygenaseprostanoid cascade in nociceptive processing. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 42:553–83.
- Tanimoto, A., Murata, Y., & Nomaguchi, M. (2001). Histamine increases the expression of LOX-1 via H2 receptor in human monocytic THP-1 cells. *FEBS Lett.*, 508, 345–349.
- Tjølsen, A., Berge, O., Hunskaar, S., & Rosland, J. (1992). The formalin test: An evaluation of the method. *Pain*, 52, 5-17.
- Turnbull, A., & Rivier, C. (1999). Regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.*, 79, 1–71.
- Unno, T. S. (2000). Scavenging effect of tea catechins and their epimers on superoxide anion radicals generated by hypoxanthine and xanthine oxidase. *J. Sci. Food Agric*, 80: 601–606.
- Van der Fits, L., Zhang, H., & Menke, F. (2000). Catharanthus roseus BPF-1 homologue interacts with an elicitor-responsive region of the secondary metabolite biosynthetic gene Strand is induced by elicitor via a JA-independent signal transducti. *Plant Mol Biol* , 44, 675–685.
- Verri, W. A., Cunha, T. M., Magro, D. A., Domingues, A. C., Vieira, S. M., Souza, G. R., . . . Cunha, F. Q. (2008). Role of IL-18 in overt pain-like behaviour in mice. *European Journal of Pharmacology*, 588, 207–212.
- Ward., P. A. (2010). Acute and Chronic Inflammation chapter the inflammatory response – An overview. Dans P. a. Charles n. Serhan., *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press.
- Wink, M. (1998). A Short History of Alkaloids. . Dans M. R. (eds), *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*. (pp. 11–44). New York,: Plenum Press.

- Woolf, C. (1995). Somatic pain – pathogenesis and prevention. *Br J Anaesth*, 75, 169– 76.
- Woolf, C. J., & Mannion, R. J. (1999). Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management.
- Woolf, C., & Max, M. (2001). Mechanism-based pain diagnosis: issues for analgesic drug development. *Anesthesiology*, 95, 241-9.
- Yan, L., Nan, Y., Bin, B., & Lu, W. (2020). Luteolin reduces fat storage in *Caenorhabditis elegans* by promoting the central serotonin pathway. *Food Funct*, 1, 730-740. doi:10.1039/c9fo02095k
- Yao, L., Jiang, Y., Shi, J., Tomas-Barberan, F., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. (2004). Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 59 (3), 113–122. doi:10.1007/s11130-004-0049-7.
- Yu L, Yan J, & Sun Z. (2017). D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. *Molecular Medicine Reports*, 15, 2339-2346. doi:10.3892/mmr.2017.6241
- Yu, Y. Y., Nur Kartinee, K., Khalid, H., & Amin, A. (2016). (2016) Measurement of Antioxidant Activity and Structural Elucidation of Chemical Constituents from *Aglaia oligophylla* Miq. *International Proceedings of Chemical, Biological and environmental engineering*, 95.
- Zeck Oikos, M. (1970). *CA*, 21(2) PP. 341, C.A., 75:4795a.
- Zimmermann, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2):109-110. doi:10.1016/0304-3959(83)90201-4
- Zulak, K., Liscombe, D., & Ash, H. (2006). *Alkaloids. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Alan Crozier, Michael N. Clifford, Hiroshi Ashihara.

# Annexe



**Annexe : I****Questionnaire de l'enquête ethnopharmacologique**

**Question 1 :** Contient des informations sur les personnes en question, à savoir l'âge, le sexe, et la zone dans laquelle ils vivent.

**Question 2 :** Que préfèrent-ils ? La médecine traditionnelle ou la médecine moderne et pour quoi ?

**Question 3 :** Nom locale ou vernaculaire cette plante.

**Question 4 :** Comment préfèrent-ils utiliser la plante, frais ou séché ?

**Question 5 :** Méthode de séchage à l'abri de la lumière ou exposée à la lumière.

**Question 6 :** Quelles sont les parties de la plante utilisées : racines, fleur, graines, fruits, tiges ou une autre partie est le quelle ?

**Question 7 :** Quel motif d'utilisation ? Pour le traitement ou pour le cosmétique.

**Question 8 :** Quelles sont les pathologies, les maladies ou les symptômes traités par la plante ?

**Question 9 :** Le dosage utilisé par personne (Adulte et Enfant).

**Question 10 :** Nombre de doses par jour par personne (Adulte et Enfant).

**Question 11 :** Méthode de préparation de la plante.

**Question 12 :** Mode d'emploi.

**Question 13 :** La durée de traitement : un jour, une semaine, un mois ou jusqu'à la guérison.

**Question 14 :** Méthode de conservation.

## Annexe II

### Sample 1 : *Launaea nudicaulis*

#### RESULTS FOR SAMPLE 1

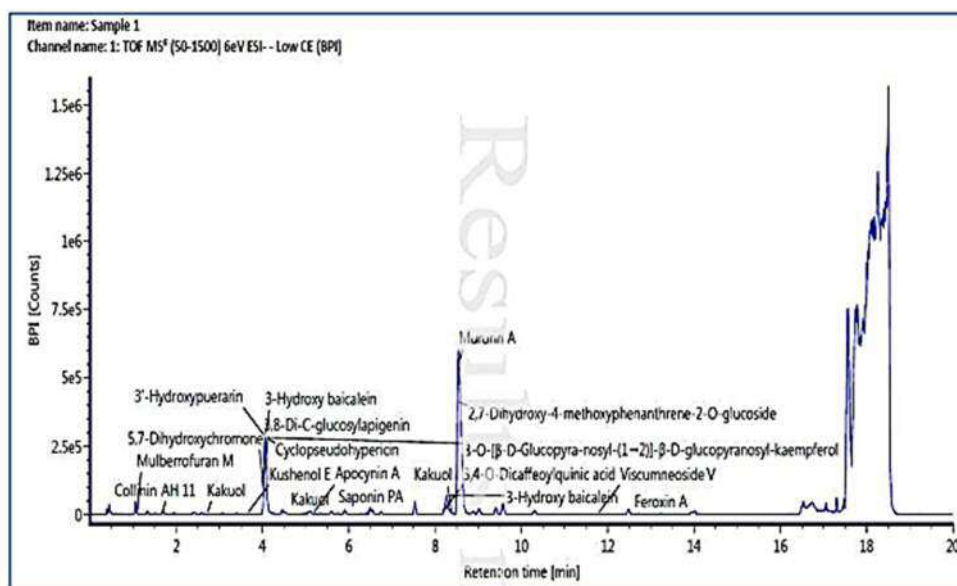


Figure 1: Base Peak Plot (BPI) Chromatogram obtained from the ESI negative (-ve) Ionization Mode for Sample 1

Table 3: Detailed of identified phenolic and flavonoids metabolites in sample 1

S/N	Component name	Formula	Observed RT	Observed m/z	Adduct
1	(-)-Epigallocatechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	1.945	305.0696	-H
2	(-)-Epigallocatechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	1.334	351.0716	+HCOO
3	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	8.386	307.0453	+HCOO
4	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	7.517	307.0453	+HCOO
5	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	5.337	307.0455	+HCOO
6	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	4.955	307.0455	+HCOO
7	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	6.054	307.0452	+HCOO
8	2,3',4,4',6'-Pentahydroxybenzophenone	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	7.372	307.0451	+HCOO

## Annexe II

### Sample 2 : *Launaea arborescens* RESULTS FOR SAMPLE 2

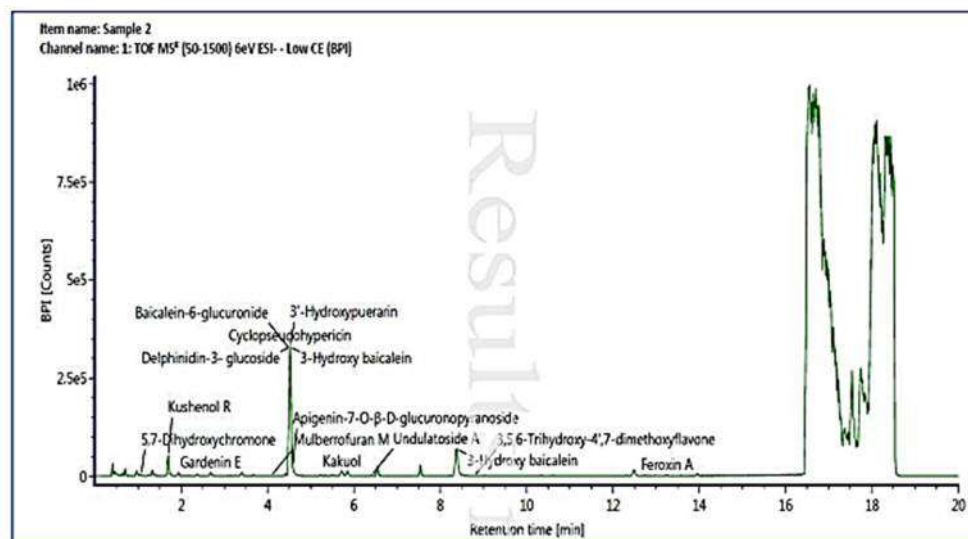


Figure 2: Base Peak Plot (BPI) Chromatogram obtained from positive (+ve) and negative (-ve) Ionization Mode for Sample 2

Table 4: Detailed of identified phenolic and flavonoids metabolites in sample 2

S/N	Component name	Formula	Observed RT	Observed m/z	Adduct
1	(-)-Epigallocatechin	C15H14O7	1.937	305.0697	-H
2	(3R,4R)-3,4-trans-7,2'-Dihydroxy-4',5'-dimethoxy-4-[(3R)-2',7-dihydroxy-4'-methoxy-isoflavan-5'-yl]-isoflavan	C33H32O9	2.358	631.2206	+CH3COO
3	(3R,4R)-3,4-trans-7,3'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-4-[(3R)-2',7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavan-5'-yl]-isoflavan	C33H32O9	2.358	631.2206	+CH3COO
4	2,3',4,4',6'-Pentrahydroxybenzophenone	C13H10O6	7.510	307.0455	+HCOO
5	2,3',4,4',6'-Pentrahydroxybenzophenone	C13H10O6	5.327	307.0455	+HCOO
6	2,4,4',6'-Tetrahydroxybenzophenone	C13H10O5	1.937	305.0697	+CH3COO
7	2-Hydroxy-4-methyl acetophenone	C9H10O2	5.752	209.0795	
8	2-Hydroxy-5-methyl-hypnone	C9H10O2	5.752	209.0795	+CH3COO

### Annexe III

## Article scientifique publié

### **Pharmacological studies on aqueous extract of *Launaea arborescens* from southwest Algeria**

Lamia Salima Seddiki, Nasser Belboukhari; Aminata Ould El Hadj-Khelil; Mohd Roslan Sulaiman; Khaled Sekkoum ; Abdelkarim Cheriti.  
J Ethnopharmacol. 2021 Jul15;275:114137. doi: 10.1016/j.jep.2021.114137. Epub 2021 Apr 26.PMID: 33915133

**Nom du journal : Journal of Ethnopharmacology**

**Publication :Volume 275, 15 July 2021, 114137**

**Impact Factor 2021 : 3.69**

**h-index :192**

**Overall Rank/Ranking: 5260**

**Impact Score: 4.27**

**Publisher: Elsevier Ireland Ltd**

**Pays: Ireland**

**ISSN : 03788741, 18727573**



## Pharmacological studies on aqueous extract of *Launaea arborescens* from southwest Algeria

Lamia Salima Seddiki<sup>a,b,c,\*</sup>, Nasser Belboukhari<sup>a</sup>, Aminata Ould el hadj-khelil<sup>a,c</sup>, Mohd Roslan Sulaiman<sup>b</sup>, Khaled Sekkoum<sup>a</sup>, Abdelkarim Cheriti<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Bioactives Molecules & Chiral Separation Laboratory, University Tahri Mohamed, Bechar, 08000, Algeria

<sup>b</sup> Inflammatory and Pain Group, Faculty of Bioscience and Health, University Putra Malaysia, 43400, Serdang, Selangore Darul Elhsan, Malaysia

<sup>c</sup> Faculty of Science of Nature and Life, University of Kasdi Merbah, Ouargla, 30000, Algeria

<sup>d</sup> Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory, University Tahri Mohamed, Bechar, 08000, Algeria

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

*Launaea arborescens*  
Anti-inflammatory  
Analgesic  
Histamine  
Serotonin  
TRPV1  
Opioid receptors

### ABSTRACT

**Ethnopharmacological relevance:** *Launaea arborescens*, its vernacular name is Mol-albina belonging to asteraceae family origin of the southwest of Algeria. This plant is used in folk medicines to treat gastroenteritis, diabetes, child ailment and other diseases; it is taken macerated or boiled.

**Aim:** This study aims to evaluate the anti-inflammation and analgesic activity of the aqueous extract of *Launaea arborescens* (AqELA) and its pathway of action.

**Methods:** the investigation of anti-inflammatory and analgesic effects were done using formalin test, acetic acid test. For mechanism investigation, it was used hot plate test to induce opioid receptors, a histamine and serotonin test to induce edema paw, finally, for the TRPV1 receptor, it was used the capsaicin test.

**Results:** The aqueous extract of *Launaea arborescens* showed a significant inhibition of abdominal writhing test 95% and 100% inhibition of licking paw using acid acetic test and formalin test respectively (EC: 47 mg/kg and 104 mg/kg). The analgesic effect of the aqueous extract of *Launaea arborescens* showed inhibition of sensation of pain after 120 min compared to morphine effect. The aqueous extract of *Launaea arborescens* reduced paw volume after 180 min and 120 min for histamine and serotonin respectively with dose-dependent. Concerning of TRPV1 receptors, the inhibition was showed at doses 100 mg and 300 mg.

**Conclusion:** Our results contribute towards validation of the traditional use of *Launaea arborescens* for inflammation ailment.

### 1. Introduction

Asteraceae is a large family, among of many genera belonging to this family Launaea; it is composed of 54 *Launaea* species, including 12 species are located in Algeria (Ozenda, 2004). *Launaea arborescens* (Batt) Murb is endemic and widespread in southwest of Algeria; it has a several geometrics branches, the leaves are reduced onto alternate spines and has a yellow flower. It can grow in salty soil and support high temperature in the arid environment (Fig. 1).

The population of southwest Algerian is facing several chronic illnesses despite the ease of access to health services; however, a part of the population still uses of traditional treatment using local medicinal plants.

Both the aerial and the root parts of *L. arborescens* are used in traditional medicines by the local people for treating diarrhea, gastrointestinal tract discomfort (Cheriti et al., 2012), and some child's ailments, it is taken macerated or boiled way and for child, it just put some drops of sap on the skin or under the nose to treat kind of ailment called locally "Shem". The phytochemical investigation on *L. Arborescens* is still limited, where is isolated and identified few compounds from it; triterpenes, hesperidine and narginin (Belboukhari et al., 2010) and sesquiterpenes (Ammar et al., 2013), tannin and free flavonoids where is identified in the aqueous extract (Belboukhari et al., 2006); other compounds were revealed a variety of flavonoids (flavanone, flavones, flavonol) (Sekkoum et al., 2014) and cardinols (Cheriti et al., 2005) flavone glycosides as apigenin 7-glucoside and 7-gentiobioside, luteolin 7-glucoside (Ragaa et al., 1983) and sesquiterpenoids.

\* Corresponding author. Inflammatory and Pain Group, Faculty of Bioscience and Health, University Putra Malaysia, 43400, Serdang, Selangore Darul Elhsan, Malaysia.

E-mail address: [seddiki.lamia@univ-bechar.dz](mailto:seddiki.lamia@univ-bechar.dz) (L.S. Seddiki).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114137>

Received 29 January 2021; Received in revised form 15 April 2021; Accepted 16 April 2021

Available online 26 April 2021

0378-8741/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

**List of abbreviation**

<b>L.A</b>	Launaea arborescens
<b>AqELA</b>	Aqueous extract of Launaea arborescens
<b>TRPV1</b>	Transient Receptor Potential Vanilloid 1
<b>EC50</b>	Half of effective concentration
<b>IC50</b>	Half of inhibit concentration
<b>NSAID</b>	NonSteroidal Anti-Inflammatory Drugs
<b>PGE 1</b>	Prostaglandin E1
<b>PGI 2</b>	Prostaglandin I2



Fig. 1. *Launaea arborescens*.

The present study was carried out to investigate the anti-inflammatory and anti-nociceptive and mechanisms of action of aqueous extract of *Launaea arborescens* using animal model.

## 2. Material and methods

### 2.1. Plant materials

The aerial part of plants was collected in spring 2014, from Bechar environment (southwest of Algeria: GPS coordinates: DMS coordinates: latitude 31.6167 N; Longitude: -2.1360 W), the specimen was deposited in Herbarium of Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory (POSL. University of Tahri Mohamed. Bechar, Algeria) under the code CA: 00/25. the plant was dried in a dark and ventilated place. The dried powdered plant 50g was extracted using 300 ml distilled water which was refluxed for 2 h. The aqueous extract of *Launaea arborescens* (AqELA) was filtered and lyophilized to obtain the crude dried extract (yield is  $\approx$  15%). The extract was prepared in 4 doses 10, 30, 100, 300 mg/kg for anti-inflammatory and anti-nociceptive essay, the rest of AqELA was stored at 4°C.

Preparation of the aqueous extract of L.A (AqELA) was diluted in vehicle were made up of 5% ethanol, 5% tween 20, and 90 % distilled water for anti-inflammatory and anti-nociceptive studies.

### 2.2. Animals

Mal BalB/c mice (20–25g) were procured from Pasteur Institute (Algiers). All animal were housed in polypropylene cages in a temperature-controlled room at 25 °C (standard conditions) and with access to food and water *ad-libitum*. **Respecting the ethical approval # 943–19 (2017).**

### 2.3. Drugs and chemicals

The following drugs and chemicals were used: morphine

hydrochloride, formaldehyde, acetic acid, ethanol and diclofenac (Frater Razers), histamine, serotonin, loratadine, mianserine, Capsazepin, capsaicin from Aldrich sigma. All drug used were around 97 to 99% purity.

### 2.4. Acetic acid test

The Acetic acid test was described by [Koster et al., \(1959\)](#) ([Koster et al., 1959](#)). Mice were grouped into 6 groups each group contain 6 mice, they are treated by intraperitoneal with AqELA at different doses: 10, 30, 100, 300 mg/kg, diclofenac (100 mg/kg) or vehicle (10 ml/kg).

Each mouse was injected 0.8 % aqueous solution acetic acid (10 ml/kg) intraperitoneal (i.p) 30 min after the treatment. The mice were placed in a separate individual chamber. The abdominal writhing was counted after 5 min following acetic acid injection. The number of writhing inducing was recorded for the treated mice and compared to untreated ones.

The inhibition was calculated by the following formula:

$$((\text{Negative mean} - \text{treated mean})/\text{negative mean}) \times 100$$

### 2.5. Formalin test

The formalin test described for the first time by [Dubuisson and Dennis \(1977\)](#) ([Dubuisson and Dennis, 1977](#)), using the formalin induced mouse paw edema test. Thirty minutes after injection of AqELA (10, 30, 100, 300 mg/kg) or diclofenac (100 mg/kg) or vehicle (10 ml/kg), 20  $\mu$ l of formaldehyde solution (2.5 % concentration: v/v in distilled water) was injected intra-planta of the right hind paw.

The measure method used of the time spent licking or biting the injected paw ([Hunnskaar et al., 1985](#)). The duration of nociceptive behavioral responses to including biting and licking of the injected paw were observed and recorded up to 30 min. The first 5 min is the first phase (neurogenic phase) followed by a quiescent interval of 10 min, and a subsequent second phase of activity is observed up to 15 min.

Tests were carried out in triplicate samples concentration providing 50% inhibition IC<sub>50</sub> was obtained plotting the inhibition percentage against sample concentration ([Seddiki et al., 2019](#)).

### 2.6. Hot plate test

The mice were placed in a glass chamber equipped with a hot plate temperature control (50  $\pm$  2°C) ([Sulaiman et al., 2009](#)). The hot plate was used to assess the thermal-induced central nociceptive activity of AqELA (10, 30, 100, 300 mg/kg), morphine (10 m/kg) or vehicle (10 ml/kg) were administrated by intraperitoneal injection (i.p) 30 min before. The latency defined as the time from a contact of the hind paw of the mouse with the hot plate to discomfort reaction (licking, shaking, or jumping). It was recorded every 30 min, starting at 0, 30, 60, 90, 120, 180 min after substance administration the cut-off time was 20 s maximum.

### 2.7. Histamine and serotonin test

Histamine and serotonin-induced mice paw edema induce vascular permeability. The mice were treated with an aqueous extract of *L. Arborescens* (AqELA) using three doses (30, 100, 300 mg/kg) by intraperitoneal injection. After 30 min the mice underwent subplantar injection of histamine or serotonin (10 $\mu$ g/1 ml). Loratadine and mianserine (1mg/1 ml) are positive control elements ([Amman et al., 1995](#)). The edema paw was assessed every 30 min during 180 min ([Seddiki et al., 2019](#)).

$$\% \text{inhibition} = [Vc - (Vt/Vc)] \times 100$$

Where Vc represents the mean edema in the control group and Vt represents the mean edema in the group treated with vehicle or extract.

## 2.8. Capsaicin test

The mice were treated with an aqueous extract of *L. Arborescens* (AqELA) using three doses (30, 100, 300 mg/kg) by means of intraperitoneal injections. After 30 min the mice had a subplantar injection of capsaicin (10µl/1 ml); capsazepine (0.17 mmol/kg) is a positive control, the substance injected in an intraperitoneal way (Perimal et al., 2011; Seddiki et al., 2019)]

## 2.9. Statistical analysis

The statistical analysis using the one-way ANOVA, this was followed by Tukey and Dunnet's post-test and Bonferoni post-test. The results were expressed as mean ± SEM.

## 3. Results

The acetic acid test, formalin, and hot plate allowed us to explore part of the effect of the aqueous extract of *Launaea arborescens*. Which are widely used in the investigation of inflammatory and nociceptive activities. Histamine and serotonin are phlogistic compounds and the TRPV receptors involved in the mechanism of inflammation and pain.

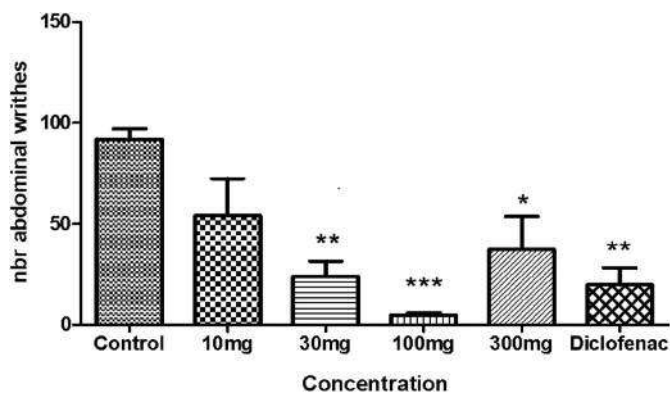


Fig. 2. Effect of AqELA on acetic acid-induced writhing in mice. Each column represents the mean ± SEM of 6 mice. The mice were pre-treated with vehicle (control), AqELA, or diclofenac, 30 min before intraperitoneal injection of acetic acid 0.8%; (\*:  $p < 0.5$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

## 3.1. Acid acetic test

The Intra-peritoneal administration of AqELA to the mice with previous doses cited, demonstrated high significant ( $p < 0.0001$ ) dose-dependent suppression of abdominal writhing, the inhibition percentage represented in graph showed in Fig. 2, the extract of AqELA produce percentage inhibition of writhe with 74%, 95%, 59% corresponding to doses of 30, 100, 300 mg/kg respectively and 78% for diclofenac (Fig. 2) and the effective concentration (EC = 47.01 mg/kg).

## 3.2. Formalin test

The process of edema in the mouse's paw is a biphasic event of formalin-induced mediators (Tjølsen et al., 1992). The treated mice don't show a significant decrease of biting, shaking behavior for all doses, compared to the control group during the first 5 min (Fig. 3a).

However, the formalin induces inflammation in the second phase, the licking and biting were showed a significant ( $p < 0.0001$ ) inhibition, excepted the lowest dose. The percentage of inhibition of 57%, 70%, 100%, 74% was demonstrated for the doses of 30, 100, 300 mg/kg and diclofenac (100 mg/kg) respectively and effective concentration is EC = 104.9 mg/kg (Fig. 3b).

## 3.3. Hot plate test

The hot plate test allowed observing paw licking and jumping behaviors. The pain sensation induced by the heat ( $50 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and has been measured by reaction time. The results of the hot plate test showed that the AqELA significant ( $p < 0.001$ ) resistance to thermal sensation at the timing 120 min with 100 mg/kg (Table 1)

## 3.4. Histamine and serotonin

Histamine is known to increase vascular permeability mainly by acting on postcapillary venules where the opening of endothelial gaps leads to increased extravasation of plasma proteins (Grega et al., 1981). 30 min after injection of histamine (10µg/1 ml) the paw volume was significantly increased as is shown in control mice (vehicle). After 180 min of observation, the AqELA caused a slight decrease in paw volume at dose 30 and 100 mg/kg less significant than 300 mg/kg ( $p < 0.05$ ) (Fig. 4). Loratadine had more efficient 50% compared to the control group. The results of the experiments are summarized in Fig. 4.

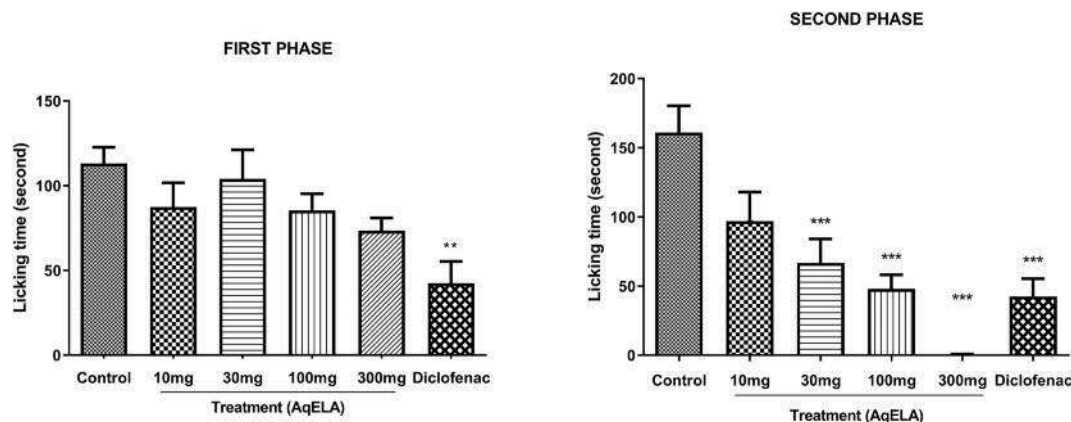
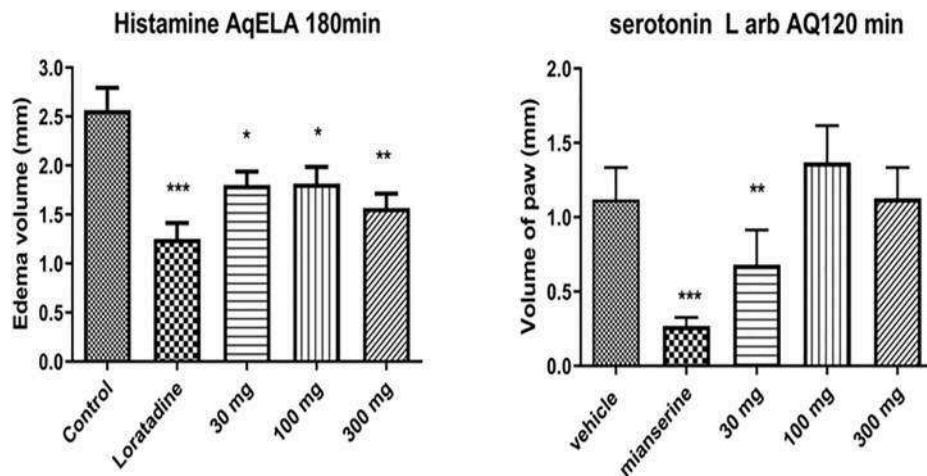


Fig. 3. Effect of aqueous extract of *Launaea arborescens* (AqELA) in formalin induced paw licking test in mice (first phase (a) and second phase (b)). Each column represents the mean ± SEM of 6 mice. The mice were pre-treated with vehicle (control), AqELA, or diclofenac, 30 min before intraplanta injection of formalin (\*:  $p < 0.5$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

**Table 1**

Effect of Aqueous extract of *Launaea Arborescens* on the hot-plate test. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM in seconds (n = 6), (a =  $P < 0.05$ , b =  $P < 0.01$ ,  $\mu$  =  $P < 0.001$  compared to the control, (Bonferoni post-test).

	Time (minutes)	0	30	60	90	120	150	180
Aqueous extract	Control	4,76 $\pm$ 0,56	5,94 $\pm$ 0,53	4,46 $\pm$ 0,74	5,11 $\pm$ 0,66	5,04 $\pm$ 0,61	4,12 $\pm$ 0,33	6,63 $\pm$ 0,65
	10 mg/kg	4,14 $\pm$ 1.00	4,22 $\pm$ 1.46	3,99 $\pm$ 0.95	6,81 $\pm$ 1.43	5,11 $\pm$ 1.23	3,17 $\pm$ 0.58	7,8 $\pm$ 0.52
	30 mg/kg	4,68 $\pm$ 1.45	a	a	5,22 $\pm$ 0.77	5,47 $\pm$ 1.27	4,185 $\pm$ 0.83	5,07 $\pm$ 0.65
	100 mg/kg	8,22 $\pm$ 1.27	4,48 $\pm$ 1.18	3,23 $\pm$ 0.86	8,52 $\pm$ 1.05	9,98 $\pm$ 1.25	9,14 $\pm$ 1.00	a
	300 mg/kg	2,84 $\pm$ 0.72	5,44 $\pm$ 1.04	5,44 $\pm$ 0.94	b	b	7,96 $\pm$ 0.93	9,47 $\pm$ 1.38
Morphine 10 mg/kg	$\mu$	$\mu$	$\mu$	$\mu$	$\mu$	$\mu$	$\mu$	$\mu$
		15,79 $\pm$ 2.79	19,59 $\pm$ 1.91	16,70 $\pm$ 1.6	16,59 $\pm$ 1.77	12,68 $\pm$ 1.37	19,97 $\pm$ 1.46	11,03 $\pm$ 1.76



**Fig. 4.** Effect of AqELA on histamine and serotonin -induced edema hind paw in mice. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 mice. The mice were pre-treated with vehicle (control), AqELA, or loratadine or mianserine, 30 min before hind paw injection of histamine or serotonin (\*:  $p < 0.5$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.0002$ ).

### 3.5. Capsaicin test

A capsaicin is a compound found in chili peppers and responsible for their burning and irritant effect. The capsaicin selectively stimulates nociceptive neurons and has been widely used to study pain-related events.

The result observed that pain-related licking behaviors in mouse hind paws given capsaicin was reduced by the used drugs: the antagonist capsazepine, and by the aqueous extract of *L. arborescens* at 100 mg/kg and 300 mg/kg; the half-maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) was calculated: 55,18 mg/kg (Fig. 5)

## 4. Discussion

In the current study, the administration of AqELA showed a dose-dependent of inhibition for the most test was done. The acetic acid test is the valid model for peripheral and central pain testing, furthermore, acetic acid is a strong irritant of the epithelial wall, and in fact, it will induce an inflammatory and painful process that could release of substance P (Laduron, 2013), bradykinin stimulates the formation and the release of prostanoids (PGE1, PGI2) from C fibers (Garret et al., 1991), the bradykinin as being an endogenous transmitter of pain could be an irritant too (Emele et al., 1963; Burns et al., 1968). However, diclofenac is non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), which is widely used in the treatment and/or management of rheumatoid arthritis, osteoarthritis and ankylosing spondylitis (Sigmeth et al., 1980; Brooks et al., 1980; Small, 1989) for its anti-inflammatory and analgesic effects (Macpherson et al., 2007).

The AqELA inhibited abdominal writhing and twists in mice treated (100 mg/kg i.p) 95% has a potent as diclofenac (78%) to reduce the pain

and inflammation, that suggest the AqELA might inhibit cyclooxygenase and other mediators like bradykinin given the high percentage of inhibition (95%). We, therefore, continued analysis using the formalin test, it characterized by two phases; the first is more nociceptive and connected to neurogenic effect, activation of C-fiber afferent (Coderr, 2001). The second phases characterized by inflammation and the release of mediators algogenics such as histamine and bradykinin (Sawynok and Liu, 2003; Siraux, 1977).

At the first phase of the formalin test, the crude aqueous extract of *L. A* (AqELA) had no effect on the neurogenic phase. Whereas, the licking and biting behavior decreased at the highest dose (300 mg/kg) in the second phase, this suggests that EqALA has a significant anti-inflammatory activity whereby inhibits proinflammation mediators or potential receptors. However, the mechanism of AqELA analgesic and anti-inflammatory activities *in-vivo* has yet to be reported. We further used the hot-plate test; it is an established and reliable test of nociception. Thermal stimulus-induced hyperalgesia is specific for central-mediated nociception (Khan et al., 2011). Opioid analgesics whose mechanism of action involves interaction with opioids receptors located in the central nervous system.

Morphine is an opioid receptor antagonist modulating the pain system. Morphine is major opiate alkaloid, is the prototypic analgesic, and serves as the reference standard against which the analgesic activity of pain treatments. The observation of the result of AqELA (100 mg/kg, i.p) in hot-plate test indicate a dose-dependent and significant ( $P < 0.001$ ) delayed reaction times of the mice, although the morphine has the best delayed time reaction. Under this observation can suggest that AqELA has the ability to antagonize the opioids receptors type  $\mu$  on afferent C fiber.

The assay was completed by illustrating the activity of AqELA on the



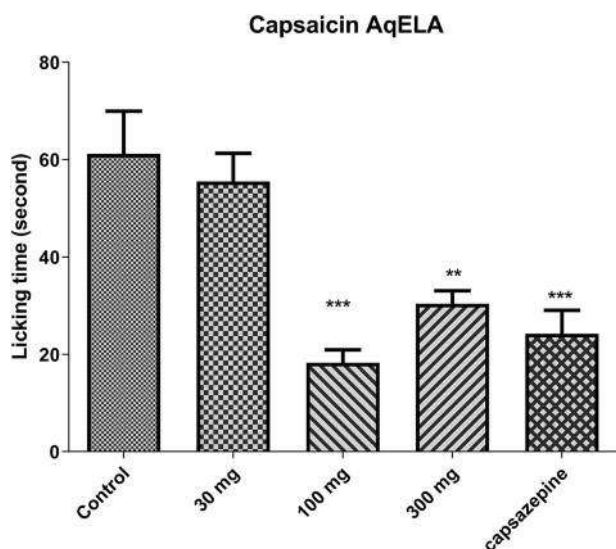


Fig. 5. Effect of AqELA on anti-TRPV1 induced licking paw in mice. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 mice. The mice were pre-treated with vehicle (control), AqELA, Capsazepin; (\*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

secretion of serotonin and histamine and on the other hand the activity on TRPV1 receptors.

Where is inflammation the mast cells are known as a source of histamine, monocytes/macrophages also express histamine receptors (Higuchi et al., 2001; Tanimoto et al., 2001), in current experimentation the AqELA reduce the histamine effect onto hind paw edema around 40%. That enhanced the result the analgesic and anti-inflammatory effect of AqELA when the acid acetic test and formalin test were used In another sight, the serotonin test showed a dose-dependent inhibition of algic response in mice.

The injection of capsaicin hind paw exerts pain related to behaviors as biting and licking. The capsaicin stimulates vanilloid-sensitive neurons. The capsaicin effects are mainly associated with the stimulus of unmyelinated and poorly-myelinated A $\delta$  primary sensory afferent fibers, termed C-polymodal nociceptors, which are abundant in nociceptive neurons (Holzer, 1988). Using the capsazepine is selectively antagonizing responses mediated by capsaicin. Our present result showed for the first time the effect of AqELA on the TRPV1 receptor. The administration of AqELA to mice reduced significantly neurogenic nociception caused by capsaicin.

Our result is supported by other plants from the same genus like *Launaea nudicaulis* (Seddiki et al., 2019) and *Launaea sarmentosa* (Nguyen et al., 2020).

In previous studies, demonstrated wide secondary metabolites have an anti-inflammatory effect like triterpenes has mast cell stabilization (Janaki et al., 1999), and flavonoids and steroids (Fernanda et al., 2002).

## 5. Conclusion

It is the first scientific work was dedicated to studying the anti-inflammatory and analgesic activities of *Launaea arborescens*. Following the present results, provide the potential anti-inflammatory and anti-nociceptive activities and the mechanism of action of *Launaea arborescens*. The aqueous extract of *Launaea arborescens* might activate and/or modulate pro-inflammatory mediators and nociceptors. This study supports the traditional use of the plant by the southern-west of Algerian people.

## Acknowledgement

The fund was provided by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria

## References

- Amann, R., Schuligoi, R., Lanz, I., Donnerer, J., 1995. Histamine-induced oedema in the rat paw-effect of capsaicin denervation and a CGRP receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 279, 227–231.
- Ammar, D., Fatma, B., Maria, L.G., Emiliano, M., Mohamed, C.B., Margherita, G., 2013. Germacranolide Sesquiterpene lactones from the Endemic Algerian *Plante Launaea Arborescens*. IRISSET ICEMCE. March 15-16, Pattaya, Thailand.
- Belboukhari, N., Cheriti, A., 2006. Phytochemical investigation of the bioactive extract from *Launaea arborescens*. *Pakistan J. Biol. Sci.* (9), 2930–2932, 15.
- Belboukhari, N., Cheriti, A., Roussel, C., Vanthuyne, N., 2010. Chiral separation of hesperidin and naringin and its analysis in a butanol extract of *Launaea arborescens*. *Nat. Prod. Res.* 24 (7), 669, 6.
- Brooks, P.M., Hill, W., Geddes, R., 1980. Diclofenac and ibuprofen in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Med. J. Aust.* 1, 29–30.
- Burns, R.B.P., Alioto, N.J., Hurlley, K.E., 1968. Modification of the bradykinin-induced writhing test for analgesia. *Arch Int Pharmacodyn* 175, 41–55.
- Cheriti, A., Belboukhari, N., Hacini, S., El abdel, D., 2005. Plantes medicinale de la region de Bechar, teneur en flavonoids et evaluation antibacterienne. Seminaire international sur valorization des plantes medicinales dans les zones arides. Ouargla. Algeria.
- Cheriti, A., Belboukhari, M., Belboukhari, N., Djeradi, H., 2012. Phytochemical and biological studies on *Launaea* cass. Genus (*Asteraceae*) from Algerian Sahara. *Curr. Top. Phytochemistry Rev.* 11, 67, 42.
- Coderre, T.J., 2001. Noxious Stimulus-Induced Plasticity in Spinal Cord Dorsal Horn: Evidence and Insights on Mechanisms Obtained Using the Formalin Test. In: Patterson, M.M., Grau, J.W. (Eds.), *Spinal Cord Plasticity: Alterations in Reflex Function*. Kluwer Academic, Boston, pp. 163–183.
- Dubuisson, D., Dennis, S.G., 1977. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4, 161–174.
- Emele, J.F., Shanaman, J., 1963. Bradykinin writhing: a method for measuring analgesia. *Proc Soc Exp Biol Med* 114, 680–682.
- Fernanda, L.B., Victor, A.K., Amelia, T.H., Elizabetsky, E., 2002. Analgesic properties of Umbellatone from *Psychotria umbellata*. *Pharmaceut. Biol.* 44, 54–56.
- Garret, C.A., Carriette Fardin, V., Moussaoui, S.M., Peyronel, J.F., Blanchard, J.C., Laduron, P., 1991. Pharmacological properties of potent and selective nonpeptide substance P antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 10208–10212.
- Gregg, G.J., Svensj, E., Haddy, F.J., 1981. Macromolecular permeability of the microvasculature membrane: physiological and pharmacological regulation. *Microcirculation* 1, 325.
- Higuchi, S., Tanimoto, A., Arima, N., et al., 2001. Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis. *FEBS Lett.* 505, 217–222.
- Holzer, P., 1988. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 24, 739–768.
- Hunskar, S., Fasmer, O.B., Kjell, H., 1985. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J. Neurosci. Methods* 14, 69–76.
- Janaki, S., Vijayasekaran, S., Viswanathan, S., Balakrishna, K., 1999. Anti-inflammatory activity of *Aglaia roxburghiana* var. *beddomei* extract and triterpenes-*roxburghiana* A and B. *J. Ethnopharmacol.* 67, 45–51.
- Khan, H., Saeed, M., Gilani, A.U., Khan, M.A., Khan, I., Ashraf, N., 2011. Antinociceptive activity of aerial parts of *Polygonatum verticillatum*: attenuation of both peripheral and central pain mediators. *Phytother. Res.* 25 (7), 1024–1030.
- Koster, R., Anderson, M., De-Beer, E.J., 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18, 412–418.
- Laduron, P., 2013. *l'inflammation Neurogenique, livre l'inflammation*. John Libbey eurotext., pp. 172–185
- Macpherson, L., Xiao, J.B.K., Kwan, Y., Petrus, M.J., Dubin, A., Hwang, S.W., Cravatt, B., Corey, D.P., Patapoutian, A., 2007. An ion channel essential for sensing chemical damage. *J. Neurosci.* 27, 11412–11415.
- Nguyen, T.Q.C., Binh, T.D., Kusunoki, R., Pham, T.L.A., Nguyen, Y.D.H., Nguyen, T.T., Kanaori, K., Kamei, K., 2020. Effects of *Launaea sarmentosa* extract on Lipopolysaccharide-induced inflammation via suppression of NF- $\kappa$ B/MAPK Signaling and Nrf2 activation. *Nutrients* 12, 2586.
- Ozenda, P., 2004. *Flore et Végétation du Sahara*. CNRS, Paris, p. 662.
- Perimal, E.K., Akhtar, M.N., Sulaiman, M.R., 2011. Zerbombone-induced Antinociception: involvement of the l-Arginine-Nitric Oxide-cGMP-PKC-K+ATP channel pathways. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 108, 155–162.
- Ragaa, M.A., Ahmed, A.A., Saleh, N.A.M., 1983. Flavone glycosides of some *Launaea* species. *Phytochemistry* 22 (11), 2630–2631.
- Savynok, J., Liu, X.J., 2003. The formalin test: characteristics and usefulness of the model. *Rev. Analg.* 7, 145–163.
- Seddiki, L.S., Belboukhari, N., Ould el hadj khelil, A., Sulaiman, M.R., Yakoubi, M., Sekkoum, K., Cheriti, A., 2019. Investigation of the analgesic and anti-inflammatory activities of *Launaea nudicaulis* from southwest of Algeria. *Biomed J Sci & Tech Res* 23 (1). BJSTR. MS.ID.003858.

- Sekkoum, K.N., Belboukhari, N., Cheriti, A., 2014. New flavonoids from butanol extract of *Launaea arborescens*. *Asian Pac J Trop Biomed* 4 (4), 267–271.
- Sigmeth, W., Sieberer, W.A., 1980. Comparison of the short-term effects of ibuprofen and diclofenac in spondylosis. *J. Int. Med. Res.* 6, 369–374, 1980.
- Siroux, P., 1977. Diclofenac (voltaren) for the treatment of osteoarthritis: a double-blind comparison with naproxen. *J. Int. Med. Res.* 5, 169–174.
- Small, R.E., 1989. Drug reviews: diclofenac sodium. *Clin. Pharm.* 8, 545–558.
- Sulaiman, M.R., Perimal, E.K., Zakaria, Z.A., 2009. Preliminary study of the antinociceptive activity of zerombone. *Fitoterapia* 80, 230–232.
- Tanimoto, A., Murata, Y., Nomaguchi, M., et al., 2001. Histamine increases the expression of LOX-1 via H2 receptor in human monocytic THP-1 cells. *FEBS Lett.* 508, 345–349.
- Tjølsen, A., Berge, O.G., Hunnskaar, S., Rosland, J.H., Hole, K., 1992. The Formalin Test: an Evaluation of the Method, vol. 51, pp. 5–17. Pain.