

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière : Biochimie
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de la toxicité et des activités
anti-inflammatoire et analgésique des
composés phénoliques de *Matricaria
pubescens***

Présenté par :
OUZANI Malek & TOUATI Yasmina

Soutenu le : **27 mai 2015**

Devant le jury composé de :

M ^{elle}	SEBAIHI Salima	MAA	President
M ^{me}	AMIR Hassiba	MAA	Promotrice
M ^{me}	KHAMTACHE Sabiha	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciement

Nous remercions Dieu le tout puissant qui nous à donner le courage et la foi pour pouvoir terminer ce présent travail, nous remercions tout particulièrement notre promotrice, M^{me} AMIRH. pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour sa disponibilité et sa gentillesse. pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportées, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail, qu'elle trouve ici l'expression de toute notre gratitude. Nous remercions également la présidente de jury M^{elle} SEBAIHI S. d'avoir accepté de présider le jury, qu'elle soit assurée de notre respectueuse et très sincère gratitude. Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à l'examinatrice M^{me} KHAMTACHE S. pour nous avoir honoré d'examiner ce travail qu'elle trouve ici nos sincères remerciements et notre profond respect.

A tous ceux qui nous on soutenu d'une manière ou d'une autre tout au long de notre formation. On vous dit merci, et merci du fond de nos cœurs.

OUZANI. M

TOUATI. Y

Dédicace

A mes très chers parents, aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle ne saurais exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte. Ce travail représente le fruit de votre soutien vos sacrifices et vos encouragements, que dieux vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mes très chers frères Hakim et Samy.

A mes très chères sœurs

A mes oncles et tantes en particulier Mokrane.

A mes grands parents Rabia, Djaouhara et Zahra.

A la mémoire de mon grand père Méziane.

A mes beaux parents et mes beaux frères.

A toute la famille TOUATI et OUZANI.

A mes enseignants du primaire jusqu'à l'université.

A mes amies.

A mes collègues.

TOUATI Y.

Dédicace

Comment parler de moi sans parler de vous, mes chers parents je vous dois tant. Et c'est pour cette raison que je débute en vous remerciant. Tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de ma vie.

A mes très chers frères M. Amoukrane et Foudil.

A mes oncles et tantes.

Mes cousins et cousines.

A ma grande mère.

A la mémoire de mes défunts grands-parents.

A mes chers amis Nabil A., Massi I., Mouloud I. et Soufiane B.

A toute la famille OUZANI, HADI et TOUATI.

A tout mes collègues et Amis.

A tous mes Enseignants.

OUZANI M.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

CHAPITRE I : *Synthèse bibliographique*

I.1. Présentation de la plante étudiée2

I.1.1. Description botanique.....2

I.1.2. Taxonomie.....2

I.1.3. Noms vernaculaires.....3

I.1.4. Utilisation traditionnelle de la plante.....3

I.1.5. Composition chimique de *Matricaria pubescens*.....3

I.2. Les composés phénoliques.....4

I.2.1. Définition.....4

I.2.2. Les principales classes des composés phénoliques.....4

I.2.2.1. Les acides phénoliques.....4

I.2.2.2. Les flavonoïdes5

I.2.2.3. Les tannins.....5

I.2.3. Activités biologiques des composés phénoliques.....5

I.3. Généralités sur la toxicité.....6

I.3.1. Définition.....6

I.3.2. Classification.....6

I.3.2.1. Toxicité aigüe.....6

I.3.2.2. Toxicité sub-chronique.....7

I.3.2.3. Toxicité chronique.....7

I.3.3. Principaux organes cibles des toxiques.....	7
I.3.3.1. Reins.....	8
I.3.3.2. Foie.....	9
I.4. Généralités sur l'inflammation.....	10
I.4.1. Définition.....	10
I.4.2. Notions de l'inflammation aiguë et de l'inflammation chronique.....	11
I.4.2.1. Inflammation aiguë	11
I.4.2.2. Inflammation chronique.....	11
I.4.3. Les phases de l'inflammation aiguë et les mécanismes impliqués.....	11
I.4.3.1. La phase vasculaire.....	11
I.4.3.2. La phase cellulaire.....	12
I.4.3.3. La phase de cicatrisation.....	12
I.4.4. Traitement de l'inflammation.....	13
I.4.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	13
I.4.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou Glucocorticoïdes.....	13
I.5. Généralités sur la douleur.....	14
I.5.1. Définition.....	14
I.5.2. Les médiateurs de la douleur.....	14
I.5.2.1. Les médiateurs chimiques de la douleur.....	14
I.5.2.2. Les fibres nociceptives.....	15
I.5.3. Mécanisme de genèse de la douleur.....	15
I.5.4. La transmission du message douloureux.....	15
I.5.5. Traitement de la douleur.....	17
I.5.5.1. Les antalgiques.....	18
I.5.5.2. Les différentes classes d'antalgiques.....	18

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	20
II.1.1. Matériel végétal	20
II.1.2. Matériel animal et conditions d'hébergement.....	20
II.2. Méthodes.....	20
II.2.1. Étapes d'extraction des composés phénoliques.....	20
II.2.2. Préparation du matériel végétal.....	21
II.2.3. Délipidation.....	21
II.2.4. Extraction des composés phénoliques.....	21
II.2.5. Taux d'extraction.....	21
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	22
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	22
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	22
II.4. Etude de la toxicité aigüe.....	22
II.5. Etude de la toxicité subaigüe.....	23
II.6. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	24
II.7. Etude de l'activité analgésique périphérique	25
II.8. Etude de l'activité analgésique centrale.....	27
II.9. Etude statistique.....	28

CHAPITRE III : Résultats et discussion

III.1. Extraction des composés phénoliques.....	29
III.2. Détermination de la toxicité de l'extrait phénolique de <i>M. pubescens</i>	29
III.2.1. Toxicité aigüe.....	29
III.2.1.1. Evaluation de la mortalité et des signes de toxicité.....	29
III.2.1.2. Evolution pondérale.....	30

III.2.1.3. Evaluation du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés.....	31
III.2.1.4. Evaluation de la masse relative des organes.....	33
III.2.2. Toxicité subaigüe.....	34
III.2.2.1. Evolution pondérale	34
III.2.2.2. Evaluation du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés.....	35
III.2.2.3. La masse relative des organes.....	37
III.3. Détermination des activités anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait phénolique de <i>M. pubescens</i>	39
III.3.1. Activité anti-inflammatoire.....	39
III.3.2. Activités analgésiques.....	42
III.3.2.1. Activité analgésique périphérique	42
III.3.2.2. Activité analgésique central.....	45
Conclusion et perspectives.....	49
Références bibliographiques.....	51

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

ALAT : Alanine aminotransférase.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

ASAT : Aspartate aminotransférase

CGRP : Peptide associé au gène de la calcitonine.

COX1 : Cyclo-oxygénase1.

COX2 : Cyclo-oxygénase2.

DL50 : Dose létal 50.

DME : Dose maximale sans effet toxique

EAG : Equivalant acide gallique.

EQ : Équivalent de quercétine.

ERG : Elément de réponse aux glucocorticoïdes.

GC : Glucocorticoïdes.

IL-1 : Interleukine 1.

iNOS :Oxyde nitrique synthase inductible.

MS : Matière sèche.

NaCl : Chlorure de sodium.

NGF : Facteurs de croissance neuronale.

NRM : Noyau du raphé magnus.

OCDE : Organisation pour coopération et développement économique.

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

PA : Phosphatases alcalines.

PC : Poids corporel.

SEM : Écart moyen standard.

SGPA : Substance grise périaqueducule.

TGO : Transaminase glutamate-oxaloacétate.

TGP : Transaminase glutamate-pyruvate.

TNF α : Facteur de nécrose tumoral α .

UDP : Uridine diphosphate.

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Photographie de <i>Matricaria pubescens</i>	2
Figure 02: Structures chimiques de principaux acides phénoliques.....	4
Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes	5
Figure 04: Anatomie du rein.....	8
Figure 05 : Face diaphragmatique du foie.....	9
Figure 06: Les principaux phénomènes de l'inflammation aiguë.....	12
Figure 07: Voies de la douleur : de l'agression périphérique à l'intégration cérébrale et modulation descendante.....	16
Figure 08 : Structures cérébrales impliquées dans la perception de la douleur	17
Figure 09: Photographie représentative de l'élevage des souris.....	20
Figure 10: Photographie de rotavapor (à droit) et de lyophilisateur (à gauche).....	21
Figure 11: Photographie de l'administration intra- gastrique des échantillons (à droite) et l'injection de la carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte des souris (à gauche).....	25
Figure 12: Photographie de l'œdème inflammatoire (à droite) et mesure du volume de la patte de souris par le pléthysmomètre (à gauche).....	25
Figure 13 : Photographie de l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique (à droite) et de l'étirement des pattes postérieures et torsion de la musculature dorso-abdominale d'une souris (à gauche).....	26
Figure 14 : Photographie de l'immersion de la queue de souris dans l'eau à 54°C.....	28
Figure 15: Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aiguë.....	31
Figure 16: Évaluation du volume d'eau consommé durant le test de la toxicité aiguë.....	32

Figure 17: Évaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité aigüe.....	33
Figure 18 : Évaluation du rapport poids d'organe/100 g de poids corporel de toxicité aigüe.....	34
Figure 19: Évolution pondérale des souris des groupes témoin et traités durant le test de la toxicité subaigüe.....	35
Figure 20: Évaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité subaigüe.....	36
Figure 21: Évaluation du volume d'eau consommé durant le test de la toxicité subaigüe.....	37
Figure 22: Évaluation du poids d'organe/100 g de poids corporel de toxicité subaigüe.....	38
Figure 23: Teneurs en composés phénoliques des doses utilisées dans la détermination des activités anti-inflammatoire et analgésique de <i>M. pubescens</i>	39
Figure 24: Pourcentage d'inhibition de l'œdème par l'extrait phénolique de <i>M. pubescens</i> et le diclofénac en fonction du temps.....	41
Figure 25: Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales chez les souris.....	43
Figure 26 : Pourcentage de l'effet maximal possible d'extrait phénolique de <i>Matricaria pubescens</i> et de l'aspirine chez les souris.....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Classification taxonomique de <i>Matricaria pubescens</i>	2
Tableau II : Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner.....	7
Tableau III: Évaluation de la mortalité et des signes de toxicité après l'administration de l'extrait phénolique de <i>M. pubescens</i>	30
Tableau IV: Évolution de l'œdème (mL) induit par la carragénine en fonction du temps.....	40
Tableau V: Nombre de contorsions abdominales induit par l'acide acétique chez la souris.....	43
Tableau VI: Effets de l'extrait phénolique de <i>M. pubescence</i> et de l'aspirine sur la latence de retrait de la queue de souris.....	45

INTRODUCTION

Introduction

Pour se soigner, l'homme a recours à son environnement immédiat (**Fleurentin et al., 2007**), depuis fort longtemps, les ressources naturelles constituent la source principale de remèdes pour soigner différentes maladies et infections, et demeure jusqu'au présent, la source principale pour l'obtention des nouvelles molécules actives dans le domaine pharmaceutique. Les recherches modernes ne font que redécouvrir ce savoir acquis au cours des siècles (**Kemassi et al., 2014**).

La flore africaine réputée pour sa richesse comprend des milliers d'espèces végétales parmi lesquelles certaines ont été scientifiquement étudiées et ont abouti à des médicaments utilisables dans les soins de santé primaire selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (**Kéita et al., 1993**). De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée.

Vue cette richesse du monde végétal, notre travail s'intéresse à *Matricaria Pubescens* (astéracée) qui est une plante médicinale peu connue, utilisée dans le sud à l'ouest de l'Algérie contre les maux rhumatismaux et les douleurs articulaires, les toux, les allergies, les affections oculaires, les piqûres de scorpion, déshydratation, et maux de dents (**Maiza et al., 1995**).

Parmi les plantes médicinales traditionnelles il y en a celles qui peuvent être toxiques à de fortes doses ou après administration prolongée, en même temps qu'elles sont une source de molécules naturelles actives douées de propriétés pharmaceutiques. C'est dans ce contexte, que notre travail va s'inscrire dans cet axe de recherche consacré principalement sur l'étude *in vivo* des activités anti-inflammatoire, analgésique centrale et analgésique périphérique de *M. pubescens*. En égard à la large utilisation de cette plante, la détermination des paramètres toxicologiques s'impose, pour optimiser son utilisation.

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- ✓ Extraction et dosage des polyphénols et des flavonoïdes de *Matricaria pubescens* ;
- ✓ Etude de la toxicité aiguë et subaiguë des composés phénoliques de cette plante ;
- ✓ Et objectiver l'utilisation traditionnelle de *Matricaria pubescens* dans le traitement de l'inflammation et de la douleur.

CHAPITRE I :
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Présentation de la plante étudiée

I.1.1. Description botanique

Matricaria pubescens est une plante spontanée très utilisée en médecine et préparations traditionnelles, elle pousse en abondance dans les régions sahariennes (Ozenda, 2004) (Figure 01).

La plante possède des tiges nombreuses couchées puis redressées sous forme de touffes, les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre, involucre à bractées et ayant une marge membraneuse large, les fleurs toutes en tubes de coloration jaune sont groupées en capitules dont le diamètre est de 6 à 7 mm (Greger et al., 1984).



Figure 01: Photographie de *Matricaria pubescens* (Makhloufi et al., 2012)

I.1.2. Taxonomie

La classification botanique de *Matricaria pubescens* est décrite dans le tableau ci-dessous :

Tableau I: Classification taxonomique de *Matricaria pubescens* (Judd et al., 2002)

Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotyledones
Sous-classe	Compositae
Ordre	Asterales
Famille	Astéraceae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Pubescens</i>

I.1.3. Noms vernaculaires

Le nom scientifique de la matricaire, *Matricaria pubescens*, dérive du latin *Matricaria* désignant matrice, *pubescence* signifiant velu.

- ✓ En arabe: Ouazouaza, Guertoufa;
- ✓ En tamasheq: Ainesnis ;
- ✓ En français : Camomille ;
- ✓ En anglais: Hairy camomile (**Hammiche et Maiza., 2006**).

I.1.4. Utilisation traditionnelle de la plante

Matricaria pubescens est une plante employée traditionnellement comme préparation médicinale et pharmaceutique, en raison de ses propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques (**Harbourne et al., 2009**), elle est utilisée dans les affections oculaires, démangeaison, dysménorrhée, inflammation des plaies (**Hammiche et Maiza, 2006**), rhumatismes, toux, calculs bbiliaires et affection gastro-intestinales, maux d'estomac et pour les piqûres des scorpions (**Kolodziejczyk-Czepas et al., 2015**).

Elle est également utilisée dans la saveur des soupes. Le beurre fondu des chèvres lorsqu'il est filtré à travers les tiges et les feuilles de la plante devient très parfumé et se conserve mieux, elle peut être également ajoutée au thé (**Bellakhdar, 1997; Makhloufi et al., 2012**).

I.1.5. Composition chimique de *Matricaria pubescens*

Les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des Compositae et ont trouvés une grande variété de métabolites secondaires (coumarines, flavonoïdes, amides, terpènes, hétérosides, sesquiterpènes, lactones) (**Makhloufi et al., 2012**).

En effet les propriétés de cette plante sont partiellement due à son contenu phénolique se composant en flavonoïdes, y compris des glycosides de flavone (par exemple glucoside d'apigénine) et des flavonols (par exemple des glycosides de quercétine) (**Harbourne et al., 2009**).

I.2. Les composés phénoliques

I.2.1. Définition

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire, ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considéré (**Motamed et Texier, 2000**).

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (**Bahorun, 1997; Bamforth, 2000**). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tannins (**Hagerman et al., 1998; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

I.2.2. Les principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base ensuite par le degré de modification de ce squelette, enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (**Herbert, 1989; Beta et al., 2005**).

I.2.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils se divisent en deux catégories :

- **Les acides hydroxy-benzoïques** : dérivés de l'acide benzoïque ayant une structure générale de base de type (C6-C1). Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables (**Balasundram et al., 2006**).

- **Les acides hydroxy-cinnamique** : dérivés de l'acide cinnamique ayant une structure générale de base de type (C6-C3) ; les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique (**Balasundram et al., 2006**).

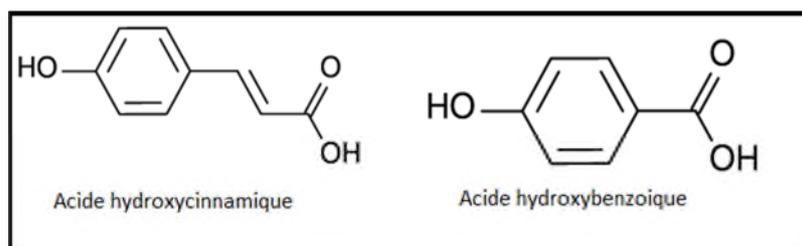


Figure 02: Structures chimiques de principaux acides phénoliques (**Tsao et Deng, 2004**).

I.2.2.2. Les flavonoïdes

Ils constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels ayant une structure chimique commune ; c'est une grande famille de métabolites secondaires polyphénoliques de faible poids moléculaire. Ce sont des pigments végétaux jaune orangés formés par un squelette à 15 carbones (structure en C6-C3-C6). (Tsao et Deng, 2004 ; Kovacik et al., 2008).

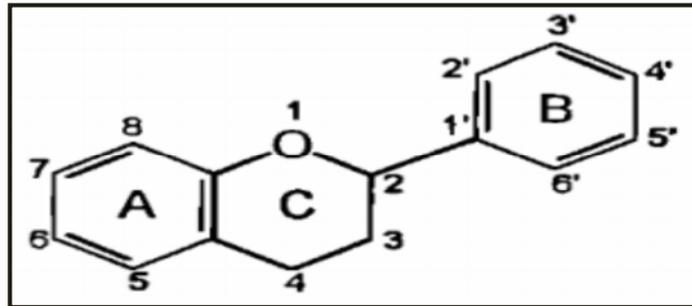


Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes (Tsao et Deng, 2004).

Selon les modifications du C3, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes structurales tel que les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavanols, les catéchines et les anthocyanidines (Bovy et al., 2007).

I.2.2.3. Les tannins

Groupes de substances phénoliques polymériques à poids moléculaire relativement élevé 500 à 30000 Dalton. Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines, ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités on distingue deux groupes de tanins différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition: les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Frutos et al., 2004).

I.2.3. Activités biologiques des composés phénoliques

L'importance des composés phénoliques est bien connue; ce sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles telles que l'amertume et l'astringence (Ojeil et al., 2010).

Plusieurs études ont souligné que beaucoup de polyphénols montrent des activités biologiques liées à leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires. Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés en particulier les radicaux peroxydes (ROO·), alkoxydes (RO·), superoxydes (O₂^{·-})

et les hydroxyles ($\cdot\text{OH}$), générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (**Xuan et al., 2014 ; Ojeil et al., 2010**).

En effet, leur rôle d'antioxydants naturels permet à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène qui sont à l'origine d'un grand nombre de maladies. Cependant, les plantes riches en composés phénoliques possèdent plusieurs effets biologiques comprenant les actions d'antibactérien, antivirales, anti-inflammatoires, analgésiques et vasodilatatoires (**Martin et Andriantsitohain, 2002**).

I.3. Généralités sur la toxicité

Pour qu'une drogue possédant des effets pharmacologiques puisse éventuellement être utilisée comme médicament, il est d'abord nécessaire que l'activité apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable (**Bensimon et al., 2006**).

I.3.1. Définition

Dans son sens général, la toxicité d'une substance peut être définie comme sa capacité de produire des effets nocifs à un organisme vivant. C'est ainsi qu'une substance hautement toxique entraînera des effets nocifs à de faibles doses tandis qu'une substance faiblement toxique n'entraînera de tels effets que si elle est administrée à de fortes doses (**Derache, 1986**).

I.3.2. Classification

En fonction de l'intensité et de la rapidité des effets, on distingue une toxicité aiguë, une toxicité subaiguë et une toxicité à long terme (**Bensimon et al., 2006**).

I.3.2.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'une substance a été définie comme les effets adverses survenant dans un court laps de temps après administration d'une dose unique ou de multiples doses réparties sur 24 heures (**Derache, 1986; Claverie et Hedde, 2008**).

L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose létale 50 (DL 50) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin (**Bensimon et al., 2006**).

La DL 50 désigne la dose d'une substance qui peut causer la mort de 50% d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. De ce fait, sa mesure peut établir un classement pour ces substances plus qu'elle est faible, plus que la substance est toxiques, et l'inverse est juste (**Reichi, 2004**).

Tableau II : Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner (**Hodge et Sterner, 1949**).

DL 50	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg/kg	extrêmement toxique
1 à 50mg/kg	hautement toxique
50 à 500mg/kg	modérément toxique
500 à 5000mg/kg	légèrement toxique
5000 à 15000mg/kg	presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	relativement inoffensif

I.3.2.2. Toxicité sub-chronique

La toxicité subaiguë est la mise en évidence d'effets toxiques après l'administration répétée quotidienne ou fréquente d'une ou de plusieurs doses à la substance à tester. La durée est de 28 aux 90 jours (**Derache, 1986**). Elle apporte des informations sur les effets toxiques principaux d'une substance et les organes cibles concernés (**Dangoumau et al., 2006**).

I.3.2.3. Toxicité chronique

La toxicité chronique est la mise en évidence d'effets toxiques après l'administration ou l'application répétée quotidienne ou fréquente d'une ou plusieurs doses de la substance à tester pendant une période de temps supérieure à 90 jours (**Derache, 1986**).

Les études doivent permettre de révéler les effets toxiques qui demande un long temps de latence ou qui sont cumulatifs (**Dangoumau et al., 2006**).

I.3.3. Principaux organes cibles des toxiques

Le foie et les reins servent à l'excrétion des déchets et des substances étrangères, par ailleurs ils sont en mesure de modifier les résidus propres du métabolisme ou des substances étrangères (xénobiotiques) pour les éliminer très rapidement, cela rend ces deux organes vulnérables aux toxiques (**Silbernagl et Despopoulos, 2001**).

I.3.3.1. Reins

Les reins sont des organes sécrétant l'urine, ils sont au nombre de deux, un dans chaque fosse lombale, ils maintiennent l'homéostasie hydroélectrolytique et excrètent des métabolites toxiques (urée, créatinine), ils sécrètent la rénine, l'érythropoïétine et de la vitamine D (Delmas et al., 2008).

Les modifications importantes de débit des urines et de leur composition traduisent les capacités du rein à s'adapter à une situation physiologique ou pathologique donnée (Lüllmann et al., 1998).

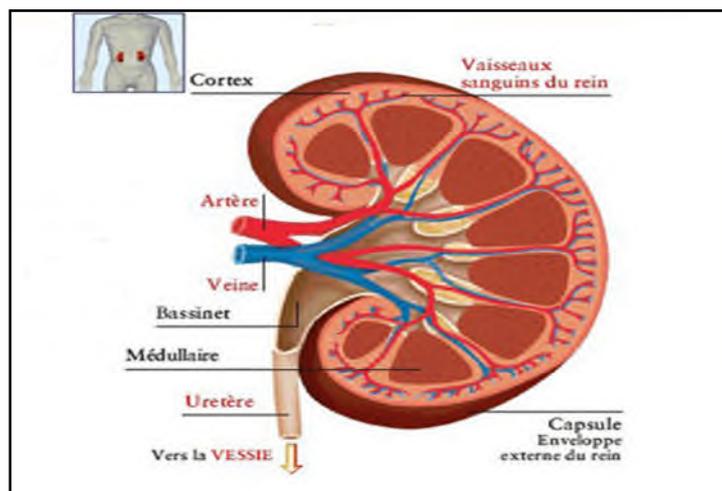


Figure 04: Anatomie du rein (Drake et al., 2006)

Les deux reins sont de couleur rouge-brun, mesurent environ 10 cm de long, 5 cm de large et 2.5 cm d'épaisseur. Ils comprennent trois parties : le cortex, la médullaire et le bassinets. Le cortex contient des pelotons de vaisseaux filtrant le sang, le médullaire contient des millions de petits tubes produisant l'urine et le bassinets est en forme de tunnel récupérant et canalisant l'urine (Drake et al., 2006)

➤ **Principaux marqueurs biochimiques de la fonction rénale**

A. La créatinine : Est une molécule physiologiquement inerte, cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme, elle est strictement éliminée par les reins (Dangoumau et al., 2006), son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (Loichot et Grima., 2005).

B. L'urée : Elle représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire. (Friedman et Young, 2001).

I.3.3.2. Foie

Le foie est un organe central qui assure des fonctions essentielles à l'homéostasie de l'organisme, il s'agit de fonctions de synthèse (par exemple de protéines), de métabolisme (par exemple du glucose), de dégradation (par exemple de médicaments) et d'excrétion (par exemple de bilirubine) (Drake et al., 2006).

De plus, le foie constitue une station intermédiaire incontournable pour presque toutes les substances absorbées à partir de l'intestin (veine porte), et il intervient dans la détoxification de nombreuses substances étrangères (biotransformation) et de sous-produits du métabolisme pour ensuite les éliminer (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

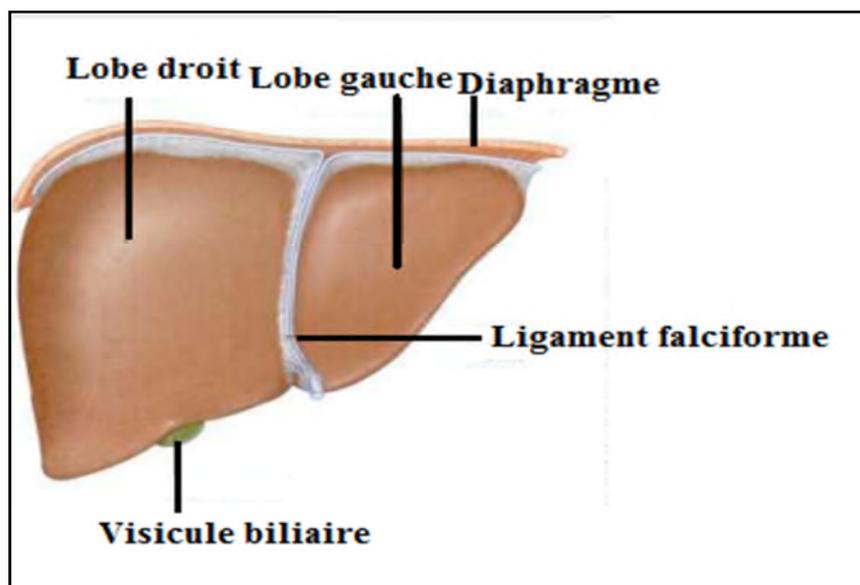


Figure 05: Face diaphragmatique du foie (Drake et al., 2006).

➤ **Tests hépatiques**

Les dosages des enzymes hépatiques sont nécessaires pour le diagnostic et le suivi du traitement des maladies impliquant le foie (Brakch et Kessler, 2011).

A. Les transaminases

Sont représentées par l'aspartate aminotransférase (ASAT, aussi appelée transaminase glutamate-oxaloacétate TGO) et l'alanine aminotransférase (ALAT, aussi appelée transaminase glutamate-pyruvate TGP). Ces deux enzymes sont présentes dans le cytoplasme

des hépatocytes et sont libérées en cas de lyse cellulaire hépatique. La cytolyse hépatique correspond à l'élévation d'une ou des deux enzymes dans le plasma (**Drake et al., 2006 ; Overbeck-Rezaeian et Helbling, 2014**).

B. Les phosphatases alcalines (PA)

Ces enzymes transportant des métabolites à travers les membranes cellulaires ce trouvant dans de nombreuses cellules en particulier dans les zones de croissance des os, la muqueuse intestinale, le rein, le foie, le cerveau, les leucocytes. Leur élimination se fait par la bile. Cependant l'augmentation des PA est un signe de cholestase, ces dernières sont augmentées dans les cancers primitifs du foie et lors des calculs des voies biliaires (**France et al., 2000**).

C. La bilirubine

Est le produit de la dégradation de l'hémoglobine dans le système réticulo-endothélial. La bilirubine non conjuguée, hydrosoluble, est transportée dans le foie, où elle est conjuguée par l'UDP-glucuronyl transférase avant d'être éliminée dans la bile (**France et al., 2000**). Une hyperbilirubinémie est la plupart du temps le reflet d'une insuffisance hépatique (ascension de la bilirubine dès que le foie a perdu plus de 50% de sa capacité excrétrice) ou d'une obstruction biliaire (**Overbeck-Rezaeian et Helbling, 2014**).

I.4. Généralités sur l'inflammation

I.4.1. Définition

L'inflammation est un mécanisme de défense contre certaines agressions, d'origine infectieuse ou non infectieuse. L'inflammation est une réaction des tissus vascularisés, permettant l'accumulation de plasma et de cellules spécialisées au site de l'agression. Dans ce processus, interviennent principalement les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, macrophages et de nombreux médiateurs (**Seignalet, 2004**).

Ce processus de défense de l'organisme peut être aiguë, subaiguë ou chronique (**Abul et Andrew, 2008**).

I.4.2. Notions de l'inflammation aiguë et de l'inflammation chronique**I.4.2.1. Inflammation aiguë**

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines) d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante **(Seignalet, 2004 ; Raynaud, 2008)**.

I.4.2.2. Inflammation chronique

Ce sont des inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années **(Seignalet, 2004 ; Raynaud, 2008)**.

Les inflammations aiguës évoluent en inflammations chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées **(Raynaud, 2008)**.

Lorsque la phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue, c'est souvent le cas de maladies auto-immunes, ou d'affections où les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants **(Seignalet, 2004 ; Rousselet et al., 2005)**.

I.4.3. Les phases de l'inflammation aiguë et les mécanismes impliqués

Quelle que soit son siège et la nature de l'agent pathogène, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs qui peuvent être résumé en trois phases **(Rousselet et al., 2005)** :

I.4.3.1. La phase vasculaire

Le processus inflammatoire débute le plus souvent par une phase vasculaire caractérisé par l'augmentation de la perméabilité vasculaire entraînant une vasodilatation prolongée (rougeur et gonflement) **(Seignalet, 2004 ; Rousselet et al., 2005)**.

Cette vasodilatation est à la fois initiée et entretenue par des médiateurs chimiques comme l'histamine ou la sérotonine, libérés par des mastocytes et des polynucléaires, et est maintenue par des substances à action plus lente ou plus prolongée comme les kinines et les prostaglandines et certaines fractions du complément **(Ravat et al., 2011)**.

I.4.3.2. La phase cellulaire

Cette phase correspond à l'afflux extravasculaire des leucocytes. Elle débute avec les polynucléaires neutrophiles, suivis dans un second temps par les cellules mononuclées, principalement les macrophages qui permettent le nettoyage du foyer inflammatoire et l'élimination des débris cellulaires et tissulaires et la libération des médiateurs chimiques : kinines, système de la coagulation et de la fibrinolyse, glycoprotéines d'origine hépatique, histamine, sérotonine, composants lysosomiaux et granulaires, prostaglandines, leucotriènes (Seignalet, 2004 ; Ravat et al, 2011).

Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés, et cela par la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des enzymes et radicaux libres qui sont bactéricides (dans le cas d'une attaque bactérienne) (Seignalet, 2004 ; Abul et Andrew, 2008).

I.4.3.3. La phase de cicatrisation

La réparation tissulaire peut prendre deux formes : la régénération et la cicatrisation. Lorsque la destruction du tissu est partielle, il peut retrouver ses fonctions : c'est la régénération. La cicatrisation, elle, aboutit à un tissu conjonctif néoformé qui remplace le tissu détruit (Henrotin et al., 2005).

L'inflammation peut parfois évoluer de façon anormale et déclencher des maladies auxquelles on oppose des médicaments dites anti-inflammatoires (Abul et Andrew, 2008).

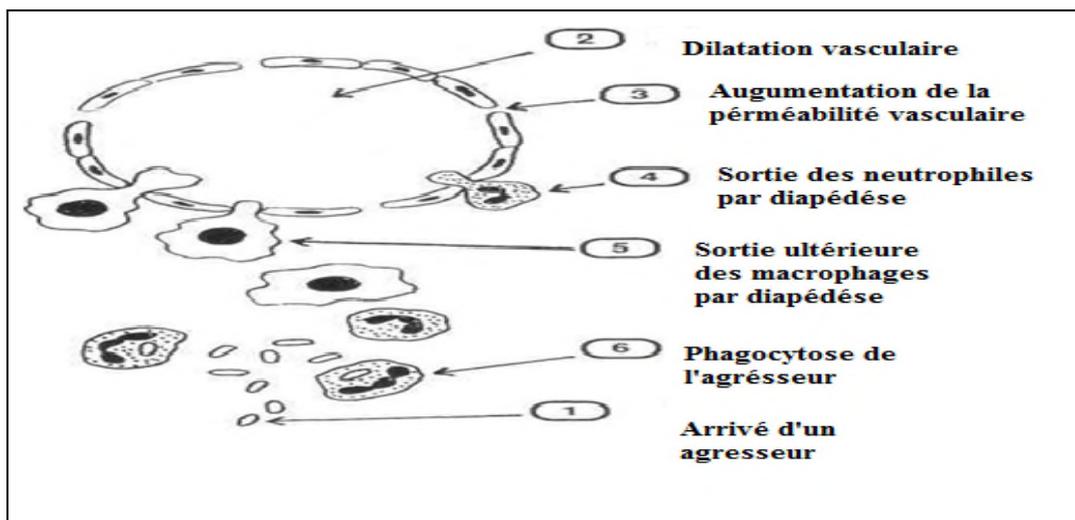


Figure 06: Les principaux phénomènes de l'inflammation aiguë (Seignalet, 2004).

I.4.4. Traitement de l'inflammation

Les anti-inflammatoires sont les médicaments destinés à prévenir ou à contenir les manifestations inflammatoires, ils agissent sur la physiopathologie de l'inflammation, en atténuant ou supprimant les symptômes, sans agir sur leur étiologie (**Dangoumau et al., 2006**).

Selon le mode d'action des anti-inflammatoires et l'origine de leurs biosynthèses on distingue deux classes principales :

I.4.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Sont des acides faibles lipophiles et regroupent des molécules ayant, malgré une hétérogénéité structural, un même mode d'action (**Vaubourdolle, 2007**).

Les AINS agissent tous en inhibant une enzyme membranaire, la cyclo-oxygénase (COX), l'inhibition de cette enzyme est responsable d'une diminution de production des prostaglandines E2 et I2, médiateurs importants des phénomènes inflammatoires (**Dangoumau et al., 2006**).

L'enzyme COX 1 se charge de la production de prostaglandines avec des fonctions physiologiques importantes. Sous l'influence d'un stimulus inflammatoire tel que des endotoxines ou de l'IL-1, les monocytes, les macrophages, les cellules endothéliales et synoviales produisent l'enzyme COX 2 qui est ainsi responsable d'une synthèse accrue de prostaglandines lors d'une réaction inflammatoire (**Bensimon et al., 2006**).

L'inhibition des cyclo-oxygénases par les AINS a donc, d'une part, un effet anti-inflammatoire mais inhibe, d'autre part, les effets physiologiques des prostaglandines synthétisées par COX 1 (**Burmester et Pezzutto, 2000**).

I.4.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou Glucocorticoïdes

Les AIS sont des précurseur ou analogue de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales, agissant selon plusieurs mécanismes (**Muster, 2005**).

Les glucocorticoïdes (GC) traversent librement les membranes cellulaires, dans le cytoplasme, ils se fixent sur un récepteur spécifique qui appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires aux stéroïdes (**Burmester et Pezzutto, 2000**).

Après fixation du glucocorticoïde, le complexe GC-récepteur migre vers le noyau et va agir directement sur l'ADN en se fixant sur des séquences spécifiques, dites ERG (élément de

réponse aux glucocorticoïdes), intervenant ainsi dans la régulation de la transcription des gènes cibles. C'est par ce dernier mécanisme que les GC inhiberaient la production de la phospholipase A2 et de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-2, TNF α ou interféron- γ) (Dangoumau *et al.*, 2006).

I.5. Généralités sur la douleur

I.5.1. Définition

Le terme de douleur désigne un spectre de sensations désagréable associée à des lésions tissulaires présentes ou potentielles ou décrites en ces termes, les caractéristiques de la douleur peuvent être très différentes et dont l'intensité peut aller du désagréable à l'insupportable (Lüllmann *et al.*, 1998).

La nociception est le phénomène qui permet à l'individu de percevoir des stimuli péjoratifs pour l'organisme et d'y répondre. C'est donc un mécanisme de protection de l'intégrité de l'organisme (Tranquilli *et al.*, 2007).

Les stimuli douloureux sont enregistrés par des récepteurs physiologiques, peu différenciés sur le plan morphologique (récepteurs sensitifs) qui sont en fait des terminaisons nerveuses libres (Lüllmann *et al.*, 1998).

I.5.2. Les médiateurs de la douleur

I.5.2.1. Les médiateurs chimiques de la douleur

Les substances impliquées dans la genèse des messages nociceptifs sont très nombreuses. Certaines activent directement les nocicepteurs tels que la bradykinine, la sérotonine, l'histamine, les ions potassium ou hydrogène (Guirimand, 1998).

Par ailleurs, des neuropeptides tels la substance P, les prostaglandines, le CGRP (peptide associé au gène de la calcitonine), contenus dans certaines cellules des ganglions spinaux peuvent être libérés au niveau périphérique (Mann, 2006).

En dehors de ces substances qui pour la plupart sont libérées assez précocement lors de l'installation d'une lésion, d'autres facteurs tels les cytokines (interleukines, interféron, facteur de nécrose tumorale (TNF), facteurs de croissance neuronale (NGF)) sont libérés par les phagocytes ou les cellules du système immunitaire, surtout lorsqu'il s'agit d'un processus persistant (Guirimand, 1998).

I.5.2.2. Les fibres nociceptives

Les messages nociceptifs sont générés au niveau des terminaisons libres de fibres sensibles A delta et C, qui sont classées selon leur diamètre et l'existence ou non d'une gaine de myéline (**Tranquilli et al., 2007**):

- Les fibres C sont des fibres dépourvues de myéline avec un fin diamètre, et une vitesse de conduction lente.
- Les fibres A delta faiblement myélinisées, de conduction relativement rapide, au sein desquelles plusieurs sous-classes ont été distinguées.

Les fibres A delta et C sont des nocicepteurs polymodaux particulièrement excités par les substances algogènes et les stimulations thermiques.

I.5.3. Mécanisme de genèse de la douleur

Les dégâts tissulaires provoquent l'activation du système nociceptif, transmet rapidement les informations relatives au site et au degré de dommages au système nerveux central (**Boccard et Deymier, 2007**).

Le message nociceptif part de la périphérie au niveau de nocicepteurs, chemine le long des fibres nerveuses, puis pénètre à l'étage médullaire. Ensuite il va monter le long de la moelle épinière et informer le tronc cérébral, l'hypothalamus et le thalamus, le système limbique et le cortex cérébral. Ceci va permettre une analyse de ce message pour en reconnaître ses composantes et pouvoir y répondre autant au niveau comportemental que physiologique (**Guirimand et Le Bars, 1996**).

I.5.4. La transmission du message douloureux

Une stimulation nociceptive d'origine mécanique, chimique ou thermique recrute des nocicepteurs qui conduisent l'information par le neurone primaire jusqu'aux cornes postérieures de la moelle épinière. Dans cette zone, le neurone primaire, est en contact avec un neurone secondaire de projection supraspinale ou deutoneurone (**Tranquilli et al., 2007**).

Le neurone secondaire décusse immédiatement dans la moelle en passant sous le canal de l'épendyme pour former la voie spinothalamique et conduit l'information jusqu'à différentes régions du thalamus somatosensoriel. A ce niveau, il établit un contact synaptique avec un troisième neurone ou neurone tertiaire qui, lui conduit les informations nociceptives vers le cortex (**Tranquilli et al., 2007**) (**Figure 07**).

La voie spinothalamique se subdivise en deux principaux faisceaux : le faisceau spinothalamique latéral et le faisceau spinoréticulaire en position médiane (Tranquilli et al., 2007) :

- Le faisceau spinothalamique latéral se projette directement vers les noyaux thalamiques, il est principalement impliqué dans la composante sensori-discriminative de la douleur et la localisation précise du stimulus douloureux.
- Le faisceau spinoréticulaire se projette vers les noyaux médians du thalamus et certaines structures du tronc cérébral dont la substance grise périaqueducale (SGPA). Le faisceau spinoréticulaire et le système limbique sont impliqués dans la composante émotionnelle de la douleur.

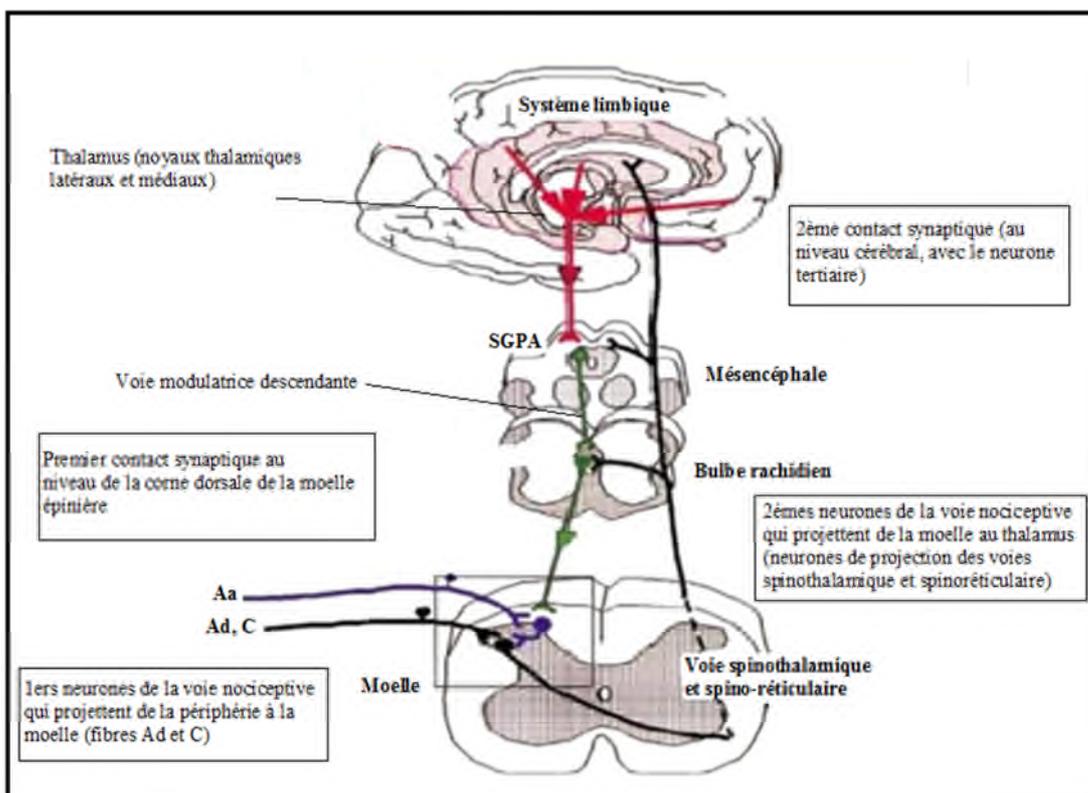


Figure 07: Voies de la douleur : de l’agression périphérique à l’intégration cérébrale et modulation descendante. SGPA : Substances Grises Périaqueducale, Aa, d, C : afférences nociceptives de type A alpha, A delta, C (Boccard et Deymier, 2007).

En effet, tout au long du trajet de la genèse du message nociceptif, il existe des points de modulation et des possibilités d’amorcer une lutte contre ce phénomène douloureux par le

biais de voies descendantes au niveau du tronc cérébral et probablement au niveau du thalamus (Mann, 2006).

La substance grise périaqueducale (SGPA), le noyau du raphé magnus (NRM), l'aire parabrachiale, le locus coeruleus et l'hypothalamus y sont impliqués. La sérotonine et la noradrénaline jouent un rôle prépondérant dans ces contrôles. Les endomorphines et d'autres peptides sont impliqués dans ces mécanismes (Guirimand, 1998).

- La stimulation du Raphé Magnus du bulbe entraîne une diminution de la sensation douloureuse, c'est une voie sérotoninergique. Elle entraîne la sécrétion d'endomorphines par les inter-neurons de la corne dorsale, mais il semble que la sérotonine ait aussi une action directe à ce niveau (Mann, 2006).

- La stimulation de la SGPA et du locus coeruleus diminue la sensation douloureuse. Ce sont des voies noradrénergiques (Mann, 2006).

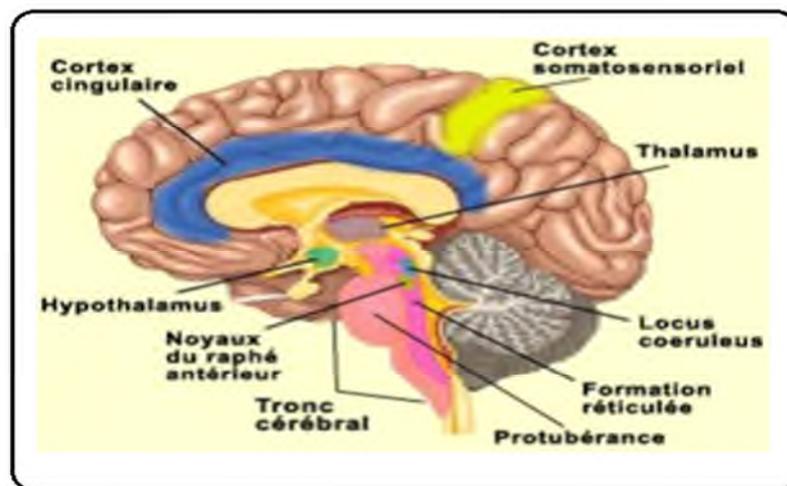


Figure 08 : Structures cérébrales impliquées dans la perception de la douleur (Institut des Neurosciences [site internet]).

I.5.5. Traitement de la douleur

La douleur, qu'elle soit secondaire à une intervention ou symptôme d'un état pathologique, est aujourd'hui de plus en plus difficilement admise par le malade et le soulagement rapide de sa souffrance apparaît comme une priorité thérapeutique (Boccard et Deymier, 2007).

I.5.5.1. Les antalgiques

Ce sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations (**Benoist et Le Bars, 1995**).

Ils constituent une famille hétérogène du point de vue chimique et pharmacologique mais possèdent en commun des effets régiosélectifs sur les influx nociceptifs avec dans certains cas une action centrale dans les hyperthermies (**Benoist et Le Bars, 1995**).

I.5.5.2. Les différentes classes d'antalgiques

Bien qu'une large variété de médicaments différents de divers groupes aient des activités analgésiques, les opioïdes et les non opioïdes sont les deux groupes principaux qui sont employées pour combattre la douleur (**Bahmani et al., 2014**).

- **Les antalgiques périphériques ou non opioïdes**

Les antalgiques non opioïdes regroupent des médicaments appartenant au palier I de l'OMS (organisation mondiale de la santé) tels que le paracétamol, l'acide acétylsalicylique et les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Ils sont généralement destinés à traiter des douleurs d'intensité légère à modérée (**Vuillet-a-ciles et al., 2013**).

En dehors de leur action anti-inflammatoire et antipyrétique, les AINS ont une réelle efficacité analgésique non narcotique. Le mécanisme d'action passe encore par l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, puisqu'elles ont la propriété de sensibiliser les récepteurs nociceptifs périphériques à l'action des substances algogènes (bradykinine, histamine, sérotonine, substance P) et des autres stimuli (thermiques, mécaniques) (**Ponvert et Scheinmann, 2006**).

Certains AINS, comme l'acide acétylsalicylique, les propioniques et le parecoxib (coxib) notamment, auraient une action antalgique centrale par inhibition de la synthèse des prostaglandines dans le cortex sensoriel et dans la corne dorsale de la moelle. En effet, les prostaglandines spinales faciliteraient la transmission des messages nociceptifs en favorisant la libération de la substance P et de glutamate, et en réduisant le taux de sérotonine participant aux contrôles inhibiteurs descendants (**Vergne-Salle et al., 2004**).

- **Les antalgiques centraux ou opioïdes**

Selon leur efficacité antalgique les opiacés appartiennent soit au palier II (opiacés faibles) de l'OMS, (codéine, dextropropoxyphène, tramadol), soit au palier III (opiacés forts), (morphine, buprénorphine, méthadone, hydromorphone, fentanyl...) (**Laval et al., 2002**).

Plusieurs récepteurs opioïdes ont été identifiés et différenciés dans le système nerveux central, trois classes principales sont distinguées : μ (mu), κ (kappa), δ (delta). Une substance opioïde donnée peut interagir avec les trois récepteurs différents et se comporter comme un agoniste, comme un agoniste partiel et enfin comme un antagoniste (**Bensimon et al., 2006**).

CHAPITRE II :
MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal qui est constitué de la plante *Matricaria pubescens* a été récolté dans la région de Hassi Messaoud (wilaya d'Ouargla) durant le mois d'avril 2014.

II.1.2. Matériel animal et conditions d'hébergement

La présente étude a été réalisée sur des souris mâles et femelles de masse comprise entre 18 et 27g, de variété *Swiss albinos*. Ces animaux ont été fournis par l'institut pasteur de Bab Ezzouar (Alger).

L'élevage des animaux a été fait au niveau de l'animalerie de la faculté de biologie de l'université de Bejaia, où la température moyenne varie entre $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Les animaux ont été logés aléatoirement dans des cages en plastique, chacune porte des souris de même sexe qui ont un accès libre à la nourriture (aliments pour bétails) et à l'eau (eau de robinet) (**Figure 09**). La litière utilisée est la sciure, renouvelée deux à trois fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux, les souris ont bénéficié d'une période d'adaptation de 15 jours avant leur utilisation.



Figure 09: Photographie représentative de l'élevage des souris (**originale**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Etapes d'extraction des composés phénoliques

L'extraction des polyphénols totaux a été réalisée selon la méthode décrite par **Metrouh-Amir et al. (2015)** dans le but d'extraire le maximum de composés phénoliques et sans altérer leur structure chimique.

II.2.2. Préparation du matériel végétal

La plante entière a été séchée à une température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière. La matière sèche obtenue a été broyée puis tamisée. La poudre obtenue a été conservée à l'abri de la lumière.

II.2.3. Délipidation

Avant l'extraction; la poudre a été délipidée en ajoutant 100 mL d'hexane à 10g de poudre. Après 48h de macération le mélange est filtré, ensuite la poudre est récupérée et le solvant est jeté (hexane +lipides).

II.2.4. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques de *M. pubescens* a été réalisée en utilisant le méthanol 50% comme solvant d'extraction.

Une prise d'essai de la poudre délipidée (4g) est mise en contact avec 500mL de solvant d'extraction, le mélange est soumis à une agitation magnétique. Après trois heures et demie de macération le mélange est filtré. Le solvant est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur, l'extrait obtenu est lyophilisé pendant 72 heures pour éliminer l'eau, permettant ainsi d'obtenir un extrait sec (**Figure 10**).



Figure 10: Photographie de rotavapeur (à droite) et de lyophilisateur (à gauche) (**originale**).

II.2.4.1. Taux d'extraction

Le taux d'extraction de la plante étudiée par le méthanol 50% a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction(\%)} = (M_1/M_0) * 100$$

M_0 : Masse de la poudre avant extraction.

M_1 : Masse de l'extrait sec après extraction.

II.3. Dosage des composés phénoliques

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux de *M. pubescens* ont été dosés en utilisant la méthode d'Asimovic *et al.* (2013).

500µl du réactif de Folin–Ciocalteu sont ajoutés à 100µL d'extrait. Après 3 minutes, 400µL de la solution de carbonate de sodium (7.5%) sont ajoutés. Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 740nm. La teneur en composés phénolique a été exprimée en gramme équivalent acide gallique par 100g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe).

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes de *M. pubescens* a été déterminé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) adaptée par Lamaison et Carnet, (1990); 1mL de l'extrait a été mélangé à 1mL de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). L'absorbance du mélange a été mesurée à 410nm après 15 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine par 100g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe).

II.4. Etude de la toxicité aigüe

Afin d'estimer la toxicité aigüe de l'extrait phénolique de *M. pubescens* une étude de deux semaines a été réalisée, la méthode utilisée est celle décrite par l'OCDE (2001).

Le but de cette méthodes est d'évaluer les effets toxiques d'une substance dans un court laps de temps (de 1 à 14 jours) après l'administration par voie oral d'une dose élevée et unique à des souris en utilisant un essai préliminaire à 2500mg/kg et un essai limite à 5000mg/kg de poids corporel (Protocole 425 de l'OCDE, 2001).

➤ Traitement des souris

Un effectif de 18 souris femelles sont répartis selon l'homogénéité de leurs poids sur 3 lots de 6 souris chacun. Après une nuit de jeûne (environ 16h), l'administration de l'extrait s'est effectuée par voie orale et en une seule dose (0.5 mL par souris):

- **Lot témoin:** reçoit la solution du sérum physiologique (NaCl à 0.9%).
- **Lots traités (I et II) :** reçoivent respectivement les doses 2500 et 5000mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* dissous dans du NaCl (0.9%).

➤ **Observation clinique et de survie**

Pendant les quatre premières heures après l'administration de l'extrait, les souris privées de nourriture (pendant deux heures), avec un libre accès à l'eau ont été observées afin de noter les phénomènes d'intoxications immédiates. Les animaux ont été ensuite observés 30 minutes chaque jour pendant 14 jours.

Les observations ont porté sur les comportements anormaux à savoir les tremblements, les convulsions, la diarrhée, la léthargie et le sommeil. Elles ont aussi porté sur les modifications de la peau, des poils, des muqueuses, des yeux et surtout la mortalité.

➤ **Examen macroscopique des organes**

A la fin du traitement, les souris ont été sacrifiées par décapitation, ensuite les organes (reins, foie, cœur, poumons, estomac et rate) ont été prélevés, observés macroscopiquement *in situ*, débarrassés de l'excès de graisse, séchés et pesés.

II.5. Etude de la toxicité subaiguë

L'étude de la toxicité subaiguë de l'extrait phénolique de *M. pubescens* a été évaluée durant une période de 28 jours, et a été déterminée à partir de la ligne directrice **407 de l'OCDE (2008)**.

Le principe de l'étude de la toxicité subaiguë est la détermination des effets toxiques principaux d'une substance administrée quotidiennement pendant une durée de 28 jours (**Claverie et Hedde, 2008**).

➤ **Traitement des souris**

Un effectif de 24 souris femelles ont été réparties sur 4 groupes de 6 chacun selon l'homogénéité de leur poids corporel. Après avoir soumis les animaux à un jeûne de 16h, l'extrait a été administré par gavage (0.5mL par souris) dans la même période de la journée (matin) et cela durant 28 jours:

- **Lot témoin:** reçoit la solution du sérum physiologique (NaCl à 0.9%).
- **Lots traités (I, II et III) :** reçoivent respectivement les doses 200, 400 et 800mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* dissous dans du NaCl (0.9%).

➤ **Poids corporel et consommation de nourriture et d'eau**

Pendant toute la période de l'étude de la toxicité aigüe et subaigüe, un suivi du poids corporel des animaux a été effectué chaque semaine, la consommation de nourriture et d'eau est mesurée quotidiennement.

➤ **Prélèvement des organes**

A la fin de la quatrième semaine, toutes les souris ont été sacrifiées et les organes vitaux (cœur, foie, reins, cerveau, estomac, poumons et rate) ont été déplacés, lavées avec de l'eau physiologique, pesés et observés macroscopiquement *in situ*, afin de noter tout changement de couleur ou de forme des organes.

II.6. Etude de l'activité anti-inflammatoire

Afin de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait phénolique de *M. pubescens*, une étude *in vivo* a été réalisée, la méthode utilisée est celle de l'œdème de la patte de souris décrite par Winter et ses collaborateurs en 1962 (**Dieng et al., 2013**).

Un œdème aigü est provoqué au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris par injection d'une solution de carragénine.

Les souris ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérimentation et répartie en 5 lots de 8 chacun (mâle et femelle), ensuite on mesure pour chaque souris le volume initial (V_0) de la patte arrière gauche, avec l'aide d'un pléthysmomètre (**Figure 12**).

Les différents produits sont administrés par voie intra-gastrique (0.5mL par souris) à l'aide d'une sonde gastrique selon les posologies suivantes:

- **Lot témoin:** reçoit du l'eau physiologique (NaCl à 0.9%).
- **Lot contrôle:** reçoit la solution du Diclofénac à la dose de 50mg/kg dissous dans du NaCl (0.9%).
- **Lots traités (I, II et III) :** reçoivent respectivement les doses 50, 100 et 200mg/Kg de l'extrait de *M. pubescens* dissous dans du NaCl (0.9%).

Après une heure, toutes les souris reçoivent une injection de 20 μ L de la solution de carragénine à 1% fraîchement préparée (**Figure 11**). Le volume des pattes a été mesuré toutes les heures jusqu'à la sixième heure après injection de la carragénine.

Les résultats obtenus sont comparés à ceux d'un médicament de référence et à ceux d'un contrôle physiologique (**Dieng et al., 2013**).



Figure 11: Photographie de l'administration intra- gastrique des échantillons (à droit) et de l'injection de la carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte des souris (à gauche) (**originale**).

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traité par rapport au lot témoin. Il est donné par la formule suivante (**Ouédraogo et al., 2012**):

$$\% \text{ D'inhibition de l'œdème} = [(V_n - V_0) \text{ témoin} - (V_n - V_0) \text{ traité}] / (V_n - V_0) \text{ témoin} * 100$$

V_0 : volume moyen de la patte mesuré avant l'injection de la carragénine.

V_n : volume moyen de la patte mesuré aux heures de relevé $n = 1$ à 6 heures après l'injection de la carragénine.



Figure 12: Photographie de l'œdème inflammatoire (à droite) et de la mesure du volume de la patte de souris par le pléthysmomètre (à gauche) (**originale**).

II.7. Etude de l'activité analgésique périphérique

Le test de contorsion par l'acide acétique est réalisé en suivant la technique inspirée de la méthode de **Koster et al. (1959)** et modifiée par **Collier et al. (1968)**.

Le principe de ce test est le suivant : l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique à 0.6% chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se traduit par des contorsions

caractéristiques de type de mouvement d'étirement des pattes postérieures et du muscle dorso-ventral (Tianga et al., 2009) (Figure 13).

Les souris sont réparties en cinq lots homogène de huit souris chacun (mâle et femelle), et mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation.

L'eau physiologique, l'aspirine et les doses de l'extrait de *M. pubescens* ont été administrés par voie intra-gastrique, à raison de 0.5mL par souris de la manière suivante :

- **Lot témoin** : reçoit la solution du sérum physiologique (NaCl à 0.9%).
- **Lot contrôle** : reçoit la solution de l'aspirine à la dose de 200 mg/kg dissous dans du NaCl (0.9%).
- **Lots traités (I, II et III)**: reçoivent respectivement les doses 50, 100 et 200mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* dissous dans du NaCl (0.9%).

Une heure après l'administration des différents traitements, l'acide acétique à 0.6% a été administré par voie intra-péritonéale à la dose de 10mL/Kg.

Après l'injection de l'acide acétique, les animaux sont aussitôt placés en cage individuelle, pour comptabiliser le nombre de crampes durant 30 minutes. Généralement les torsions commencent à 5 minutes après la provocation de la douleur.

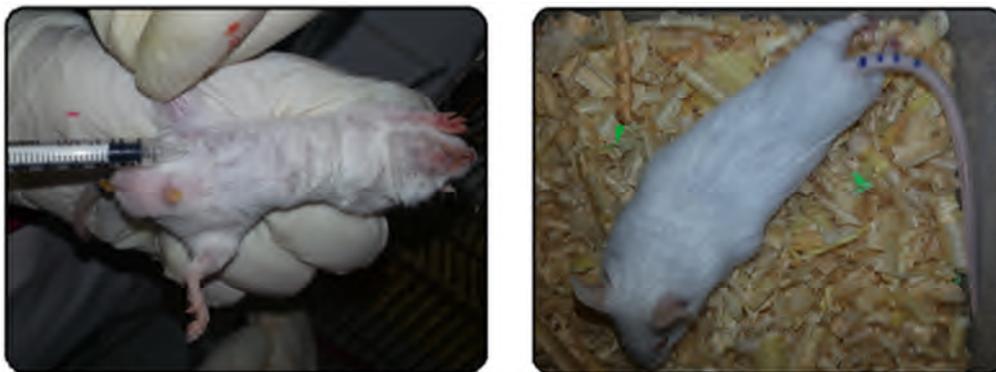


Figure 13 : Photographie de l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique (à droite) et de l'étirement des pattes postérieures et torsion de la musculature dorso-abdominale d'une souris (à gauche) (originale).

Le pourcentage d'inhibition des crampes par rapport au témoin pour chaque dose a été déterminé selon la formule suivante (Kouakou-Siransy, 2010) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Mc}_{\text{témoin}} - \text{Mc}_{\text{traité}}) / \text{Mc}_{\text{témoin}} * 100$$

Mc : moyenne du nombre de contorsions abdominales.

II.8. Etude de l'activité analgésique centrale

L'étude de l'activité analgésique centrale de *M. pubescens*, a été réalisée en utilisant le test de l'immersion de la queue, ce test vise à rechercher et à mesurer l'efficacité des analgésiques (Mohsin et al., 2012). La technique utilisée est inspirée de la méthode décrite par D'Amour et Smith, (1941) citée par Tianga et al. (2009).

Le principe de cette méthode est d'explorer l'activité analgésique centrale des substances à tester, en utilisant un stimulus thermique (l'eau chaude), l'immersion de la queue de l'animal dans l'eau chaude provoque une réaction douloureuse. Le temps (en secondes) que met l'animal pour retirer sa queue est mesuré et est considéré comme délai d'apparition de la réponse (Mohsin et al., 2012).

Un effectif de 40 souris ont été réparties en 5 lots de 8 chacun (mâle et femelle), et ont été mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation.

Les différents produits (l'eau physiologique, aspirine et les doses de l'extrait de *M. pubescens*) sont administrés par voie intra-gastrique (0.5 mL par souris) selon les posologies suivantes :

- **Lot témoin** : reçoit la solution du sérum physiologique (NaCl à 0.9%).
- **Lot contrôle** : reçoit la solution de l'aspirine à la dose de 200 mg /kg dissous dans du NaCl (0.9%).
- **Lots traités I, II et III** : reçoivent les doses 50, 100 et 200 mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* dissous dans du NaCl (0.9%).

Ces différentes administrations ont été effectuées 30 minutes avant l'utilisation du dispositif expérimental.

Le bout de la queue de chaque souris est placé dans de l'eau chaude maintenue à 54°C. Le temps que met l'animal pour retirer sa queue est mesuré et est considéré comme temps de réaction (latence) (**Figure 14**).

Le temps limite maximum d'immersion de la queue a été de 15 secondes après l'administration des produits, afin d'éviter les brûlures de la queue qui rendraient la suite des essais aléatoires.

Au total, Six essais sont successivement réalisés par intervalle de 30 minutes : un essai contrôle à 0 minute avant les différents traitements et cinq essais à 30 min, 60 min, 90 min, 120 min et 180 min après les différents traitements.

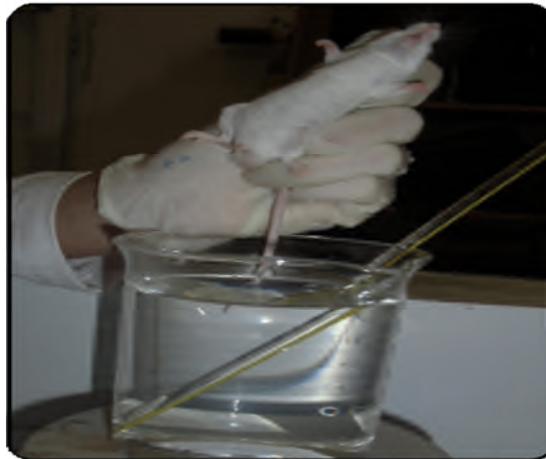


Figure 14 : Photographie de l'immersion de la queue de souris dans de l'eau à 54°C
(original).

Le pourcentage d'effet maximal possible (EMP) est calculé pour chaque groupe de souris traité par rapport à l'essai contrôle. Il est donné par la formule suivante (Le Bars *et al.*, 2001) :

$$\% \text{ EMP} = (\text{Ln} - \text{L}_0) / (15\text{s} - \text{L}_0) * 100$$

L_0 : latence contrôle observée (0min).

L_n : latence observée aux heures de relevé ($n = 30\text{min}$ à 180min après les différents traitements).

II.9. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité $P < 0.05$.

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Extraction des composés phénoliques

Dans le présent travail, l'extraction des composés phénoliques de *Matricaria pubescens* a été réalisée en utilisant le méthanol 50% comme solvant d'extraction. Cependant un taux de rendement égal à 23 % a été obtenu. L'extrait méthanolique (50%) obtenu présente une teneur en composés phénoliques de 1.22g EAG/100g de matière sèche (MS) et une teneur en flavonoïdes de 0.37g EQ/100g de MS.

Suite à une étude faite par **Debnath et al. (2013)** sur *Nymphaea pubescens*, une plante appartenant à la même espèce que *M. pubescens*, un rendement égale à 22.3% a été trouvé en utilisant le même solvant d'extraction, ce résultat est similaire à celui de la présente étude.

Haghi et al. (2014) ont trouvé un rendement de 15.2% en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction à partir de *Matricaria chamomilla* une plante du même genre que *M. pubescens*, ce taux est inférieur à celui obtenu dans la présente étude. Cette variation pourrait être due à différents facteurs comme la variété de la plante étudiée, la concentration du solvant d'extraction, la différence de la période et la région de la récolte (**Asimovic et al., 2013**).

III.2. Détermination de la toxicité de l'extrait phénolique de *M. pubescens*

III.2.1. Toxicité aigüe

III.2.1.1. Evaluation de la mortalité et des signes de toxicité

L'étude de la toxicité aigüe de l'extrait phénolique de *M. pubescens* a été réalisée par l'administration orale d'une dose unique de 2500 et 5000mg/kg à des souris femelles.

Après l'administration des différentes doses de l'extrait de *M. pubescens*, les souris des différents lots sont observées 4 heures durant le premier jour du traitement et 30 minutes tous les jours pendant 14 jours. Durant cette période, le nombre de morts ainsi que les troubles symptomatologiques observés sont représentés dans le **tableau III**.

Pendant toute la durée du traitement, les souris des groupes traités avec 2500 et 5000mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* n'ont présenté aucun comportement anormal. Il n'y a eu aucun changement au niveau de la nature des selles, des urines, ni encore moins, des modifications de l'aspect général des souris (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche). Les souris n'ont pas fait de diarrhée, ni de constipation, ni de mouvements non coordonnés, ni de détresses respiratoires durant la période de l'étude.

Tableau III : Evaluation de la mortalité et des signes de toxicité après l'administration de l'extrait phénolique de *M. pubescens*.

	Témoin	2500mg/Kg	5000mg/Kg
Comportement anormal	/	/	/
aspect général	Normal	Normal	Normal
Nature des selles et des urines	Normal	Normal	Normal
Diarrhée et constipation	/	/	/
Rythme respiratoire	Normal	Normal	Normal
Saignement	/	/	/
Désorientation et tremblements	/	/	/
Convulsions	/	/	/
Mortalité	0/6	0/6	0/6

(/) : Rien à signaler.

Toutes les souris ont survécu à l'issue des 14 jours de l'étude de la toxicité aiguë, au regard de ces résultats, nous pouvons dire que les souris testées ont une forte tolérance à l'égard de l'extrait phénolique de la plante étudiée et que la dose létale 50 de *M. pubescens* est supérieure à 5000mg/kg.

Selon l'échelle de toxicité décrite par **Hodge et Sterner (1949)**, un extrait dont laquelle une DL50 orale est supérieure à 5000mg/kg du poids corporel, serait considéré en tant qu'extrait pratiquement non-toxique (**Ateba et al., 2014**).

III.2.1.2. Evolution pondérale

Durant le test de la toxicité aiguë, le poids corporel des souris utilisées dans cette étude a été mesuré, peu de temps avant l'administration de l'échantillon et chaque 7 jour du début du test (7^{ème} et 14^{ème} jour), les résultats sont représentés sur la **figure 15**.

Aux cours des 14 jours de l'étude de la toxicité aiguë, une augmentation progressive dans le poids corporel a été observée chez tous les groupes testés. Avant le traitement, le poids moyen des souris des différents lots est compris entre 20.17 et 20.92g, après une semaine le poids augmente pour atteindre des valeurs allant de 25.92 à 26.88g. A la 2^{ème} semaine, les souris atteintes un poids de 28.26, 28.33 et 29.73g pour le groupe témoin et les groupes traités par les doses 2500 et 5000mg/kg du poids corporel, respectivement. Ces résultats montrent que les souris des lots témoin et traités ont présentés une évolution normale de leurs poids.

L'analyse statistique montre, que durant les 2 semaines de traitement, il n'y a pas eu de différence significative entre les poids corporels des souris du lot témoin et celles des deux lots traités avec l'extrait phénolique de *M. pubescens*.

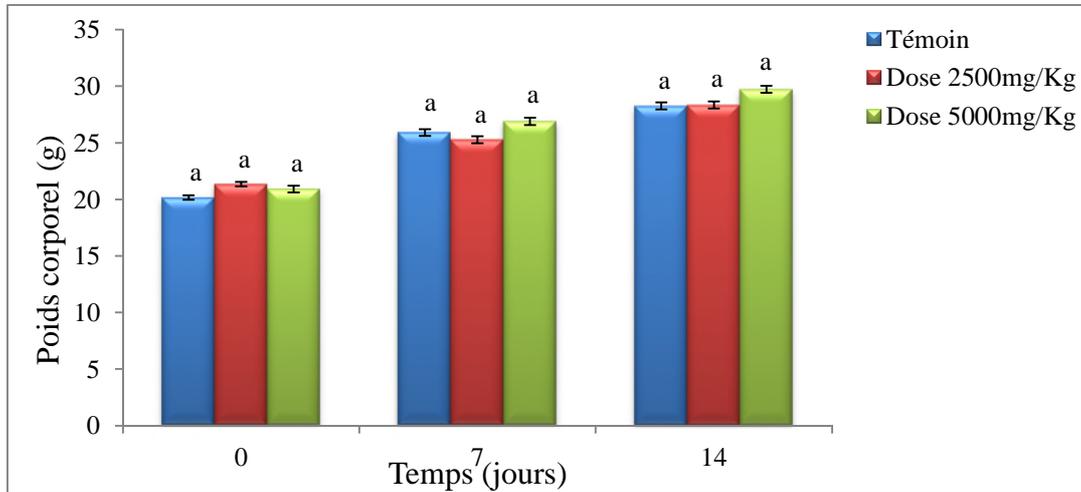


Figure 15: Variation du poids corporel des souris durant le test de la toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$

III.2.1.3. Evaluation du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

Durant les 14 jours de l'étude de la toxicité aigüe de l'extrait phénolique de *M. pubescens*, le volume d'eau et la quantité de la nourriture consommée sont notés quotidiennement.

L'analyse des données montre que le volume d'eau consommé chez les différents groupes est légèrement plus grand durant la 2^{ème} semaine par rapport à la 1^{ère} semaine (**Figure 16**). Les souris traitées avec les doses 2500 et 5000mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* ont consommé durant la 1^{ère} semaine un volume d'eau compris entre 31.29 et 36.43 mL/jour et durant la 2^{ème} semaine un volume compris entre 34.43 et 37.57 mL/jour. Concernant le groupe témoin, le volume consommé durant la 1^{ère} semaine est de 28.71 mL/jour et durant la 2^{ème} semaine il est de 31 mL/jour.

Des différences significatives ont été constatées entre les volumes d'eau consommés selon les groupes testés pendant la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine. Cependant le volume le plus élevé a été consommé par les souris traitées par la dose 5000mg/Kg, il est de 36.43 mL/jour pendant la 1^{ère} semaine et de 37.57mL/jour pendant la 2^{ème} semaine. Tandis que les souris du lot témoin ont consommés le volume le plus petit avec des volumes de 28.61 et 31mL/jour, pour

la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine respectivement. Cette différence pourrait probablement être liée à la nature des composés phénolique qui sont pour la plupart glycosylés (Li et al., 2007), ce qui pourrait provoquer l'augmentation des besoins des souris en eau.

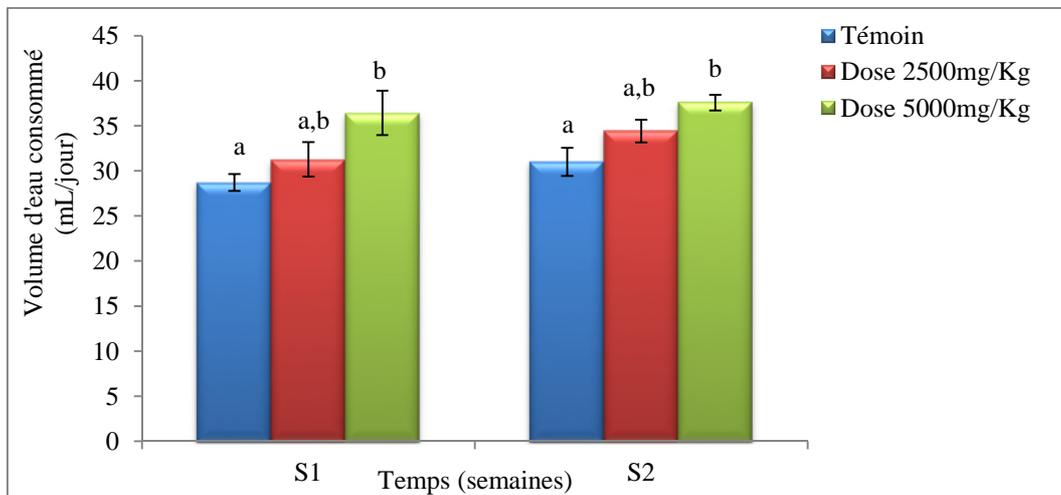


Figure 16: Evaluation du volume d'eau consommé durant le test de la toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, n=6.

Concernant la quantité de la nourriture consommée, la consommation moyenne de nourriture pour le groupe témoin était de 74.83g/jour durant la 1^{ère} semaine, et elle est de 56.60g/jour durant la 2^{ème} semaine (**Figure 17**). Pour les groupes traités avec des doses de 2500 et 5000mg/kg de l'extrait de *M. pubescens*, des quantités comprises entre 78.78 et 79.77g/jour ont été consommées durant la 1^{ère} semaine et entre 59.47 et 58.63g/jour durant la 2^{ème} semaine. Ces résultats indiquent que les souris des différents lots ont consommé durant la 1^{ère} semaine une quantité plus importante par rapport à la 2^{ème} semaine. La grande prise de nourriture durant la 1^{ère} semaine pourrait probablement être liée au facteur de stress.

L'analyse statistique de la quantité de la nourriture consommée n'a pas montré de différence significative entre les groupes de souris traitées et le groupe témoin au cours des deux semaines de l'administration de l'extrait phénolique ($p < 0.05$).

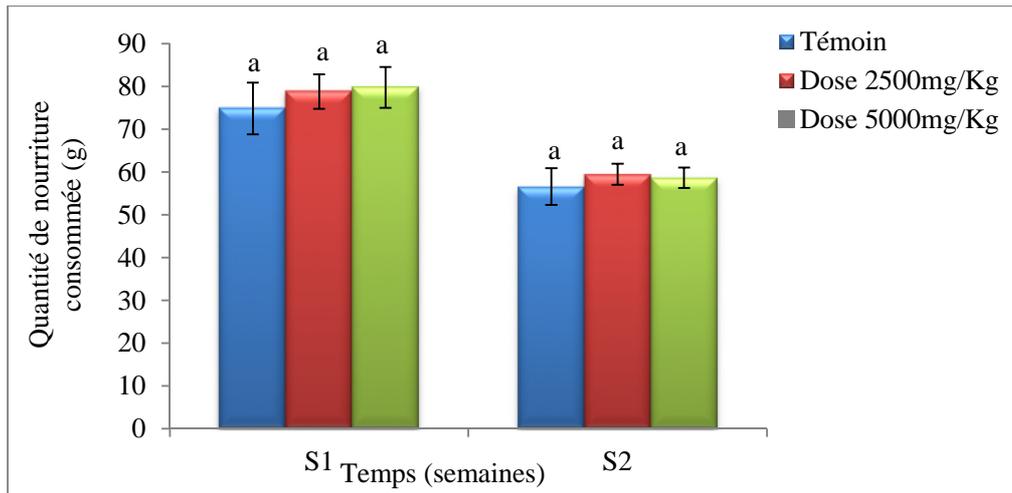


Figure17: Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité aigüe.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, n=6

III.2.1.4. Evaluation de la masse relative des organes

A la fin de la deuxième semaine de l'étude de la toxicité aigüe, les souris ont été sacrifiées, leurs organes ont été prélevés, pesés et observés minutieusement *in situ*. Cependant l'examen macroscopique des organes prélevés n'a montré aucune différence concernant la taille, l'aspect morphologique et la couleur des organes des souris des groupes traités par les doses 2500 et 5000mg/Kg d'extrait de *M. pubescens* par rapport à ceux du groupe contrôle.

L'étude statistique des masses des différents organes (rein, estomac, foie, rate, cœur et poumon) des groupes traités avec l'extrait de *M. pubescens* (2500 et 500mg/kg) n'ont montré aucune variation significative par rapport aux poids des différents organes du groupe témoin ($p < 0.05$) (**Figure 18**). Le rein et le foie sont les deux organes intervenant dans la détoxification des substances toxiques, ils sont généralement les plus susceptibles d'être touchés par les xénobiotiques (**Silbernagl et Despopoulos, 2001**).

Le rein et le foie des souris traitées n'ont pas présentés d'hypotrophie ni hypertrophie comparant au groupe contrôle, cela confirme davantage que les doses administrées de l'extrait ne sont pas toxiques.

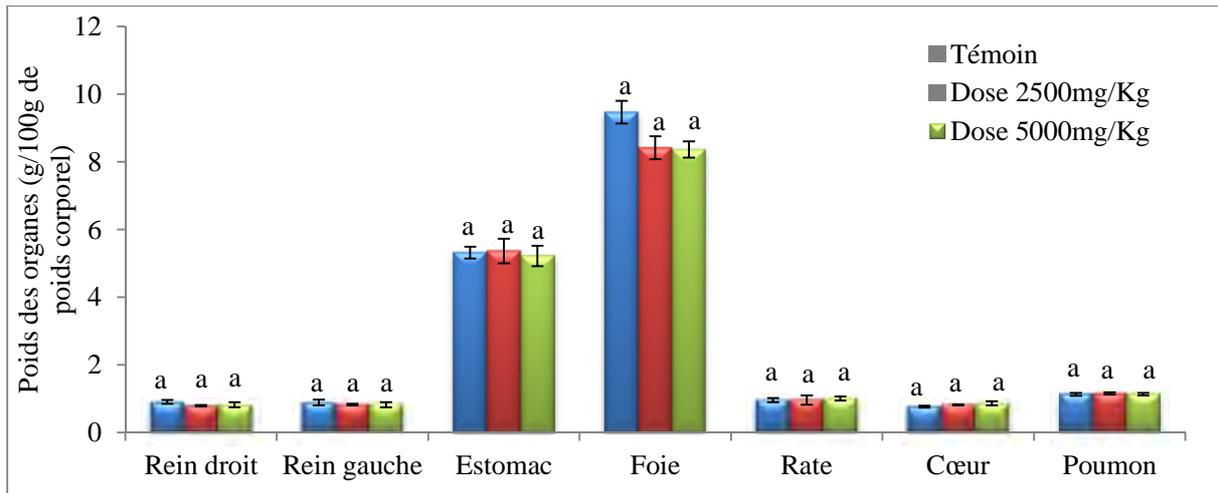


Figure 18 : Evaluation du rapport poids d'organe/100 g de poids corporel de toxicité aiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

L'absence de la mortalité et de signes cliniques chez les groupes traités durant les 14 jours d'observation, indique que l'extrait de *M. pubescens* aux doses 2500 et 5000mg/kg administré par voie orale est dépourvu de toxicité aiguë.

Cette absence de toxicité aiguë observée avec l'extrait de *M. pubescens* est aussi observée avec l'extrait éthanolique de *Xanthium srtumarium* Linn (Compositae) (Mithun Vishwanath et al., 2012) et avec l'extrait méthanolique de *Matricaria recutita* une plante du même genre (Chandrashekhar et al., 2011), dont les DL50 sont respectivement supérieures à 2000 et 3200mg/kg de poids corporel.

III.2.2. Toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë a été évaluée en administrant quotidiennement pendant 28 jours par voie orale à des souris femelles, des doses croissantes d'extrait de *M. pubescens* de 200, 400, 800mg/kg de poids corporel, pendant que le lot témoin a été traité avec du NaCl à 0.9%. Le long de la durée de l'étude plusieurs paramètres ont été étudiés, pour déceler les effets retardés de l'extrait.

III.2.2.1. Evolution pondérale

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques (Hilaly et al., 2004).

Pendant toute la période de l'expérience, un suivi du poids corporel des animaux a été réalisé chaque semaine, les résultats sont représentés ci-dessous :

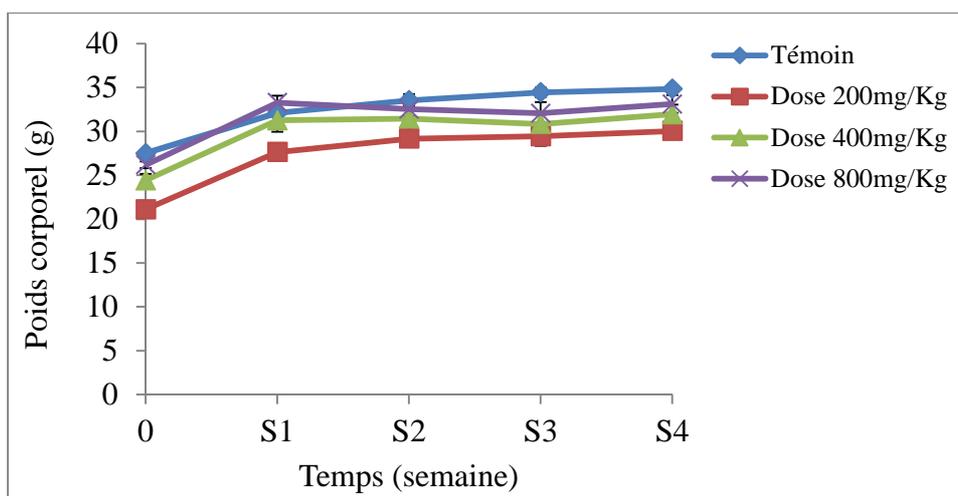


Figure 19: Evolution pondérale des souris des groupes témoin et traités durant le test de la toxicité subaiguë.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

Au début du traitement, les souris utilisées dans ce test présentent une masse corporelle moyenne allant de 21.10 à 27.50g, après une semaine elles atteignent une masse moyenne comprise entre 27.63 et 33.28g. A la fin du traitement (28^{ème} jour), les souris ont un poids moyen allant de 30.03 à 34.84g. L'analyse de ces résultats montre que le poids de tous les groupes testés présente une évolution pondérale normale. Cependant le poids des souris des lots témoin et traités par les différentes doses de l'extrait phénolique de *M. pubescens* a augmenté pendant la première semaine. A partir de la 1^{ère} semaine le poids des souris des différents groupes testés se stabilise jusqu'à la 4^{ème} semaine.

L'analyse statistique des résultats a montré que les gains de poids corporel chez les animaux traités avec les trois doses de l'extrait phénolique de *M. pubescens* et ceux du témoin étaient sensiblement les mêmes et n'ont pas présenté des différences significatives.

III.2.2.2. Evaluation du volume d'eau et de la quantité de nourriture consommés

Le volume d'eau et la quantité de nourriture consommés ont été mentionnés chaque jour durant toute la période expérimentale.

L'analyse des données montre que la quantité de la nourriture consommée chez les différents groupes durant les 4 semaines de l'étude de la toxicité subaiguë, diminue progressivement en fonction du temps (**Figure 20**). Cependant, les souris des différents groupes étudiés ont consommés des quantités comprises entre 77.22 et 95.15g/jour durant la

1^{ère} semaine, entre 35.85 et 67.15g/jour durant la 2^{ème}, entre 35.46 et 42.47g/jour durant la 3^{ème} et entre 32.01 et 40.59g/jour durant la 4^{ème} semaine.

L'étude statistique n'a révélé aucune différence significative pendant la 1^{ère} et la 3^{ème} semaine, entre les quantités de nourriture consommées par les souris du lot témoin et les souris des lots traités par les différentes doses de *M. pubescens*.

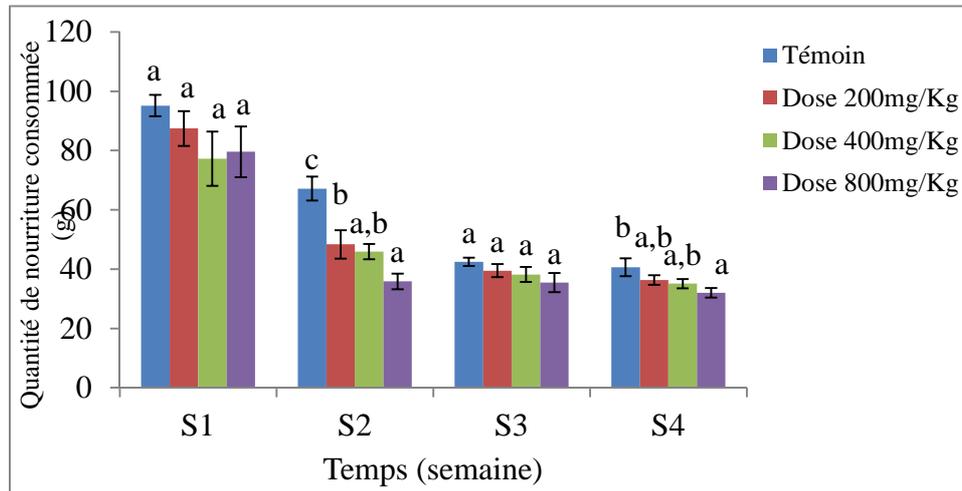


Figure 20: Evaluation de la quantité de la nourriture consommée durant le test de la toxicité subaiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

Des différences significatives ont été enregistrées entre les quantités de nourriture consommées durant la 2^{ème} et la 4^{ème} semaine ($p < 0.05$). Cependant le groupe témoin a consommé la quantité la plus importante suivi par les groupe traités par la dose 200 et 400mg/Kg, alors que le groupe traité par la dose 800mg/Kg a consommé la quantité la plus faible. Selon Li et al. (2007), pas moins de 90% des flavonoïdes isolés des plantes sont glycosylés, ainsi la faible consommation des groupes traités par l'extrait de *M. pubescens* par rapport au groupe témoin pourrait être due à la richesse de l'extrait méthanolique de la plante étudiée en composés phénoliques glycosylés, qui présentent une source d'énergie importante pour les souris.

Les résultats obtenue à partir de l'évaluation de la quantité de la nourriture consommée et de l'évolution pondérale des souris des groupes témoin et traités ont montré que l'évolution dans le poids corporel des souris est accompagné d'une diminution dans la quantité de la nourriture consommée pour toutes les souris testées, cela pourrait être due au facteur du stress qui a diminué avec le temps.

Les résultats de l'évaluation du volume d'eau consommé chez les différents groupes de souris durant les 4 semaines de l'étude de la toxicité subaiguë, montre une légère diminution de la consommation d'eau qui se stabilise au-delà de la 3^{ème} semaine (**Figure 21**).

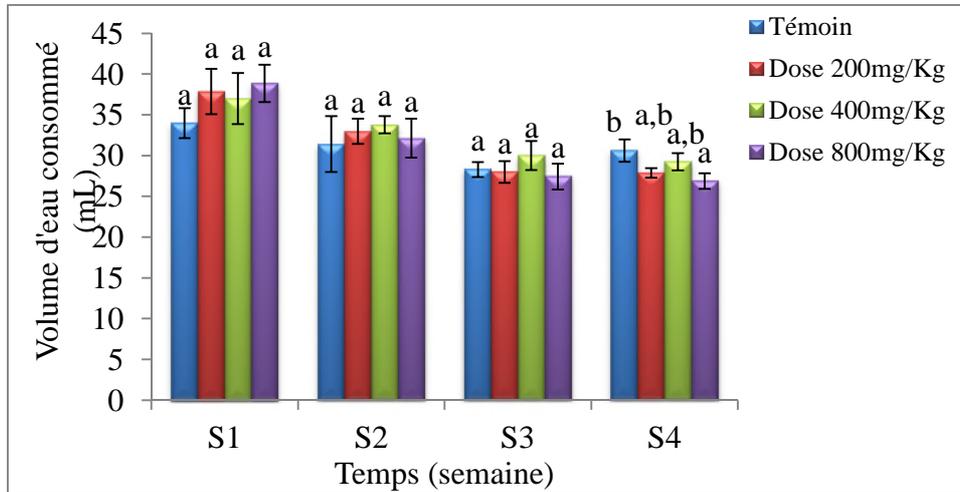


Figure 21: Évaluation du volume d'eau consommé durant le test de la toxicité subaiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

Les souris testées ont consommé le volume d'eau le plus élevé à la 1^{ère} semaine qui est compris entre 34 et 38.86 mL/jour. La consommation la plus faible a été observée pendant la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine avec des valeurs allant de 26.88 à 30.63mL/jour.

L'étude statistique n'a montré aucune différence significative entre les volumes d'eau consommés des groupe témoin et traités avec les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* durant les trois premières semaines, alors qu'une différence significative a été notée à la quatrième semaine ($p < 0.05$), cependant les groupes traités par la plante étudiée ont consommé moins d'eau par rapport au groupe témoin, cette différence est probablement due à d'autres facteurs plutôt que l'effet toxique de l'extrait.

III.2.2.3. La masse relative des organes

Après avoir sacrifié les souris du groupe témoin et traités avec les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens*, leurs organes (rein droit, rein gauche, estomac, foie, rate, cœur, poumon et cerveau) ont été prélevés, observés macroscopiquement et enfin pesés. Les résultats sont illustrés dans la figure ci-dessous :

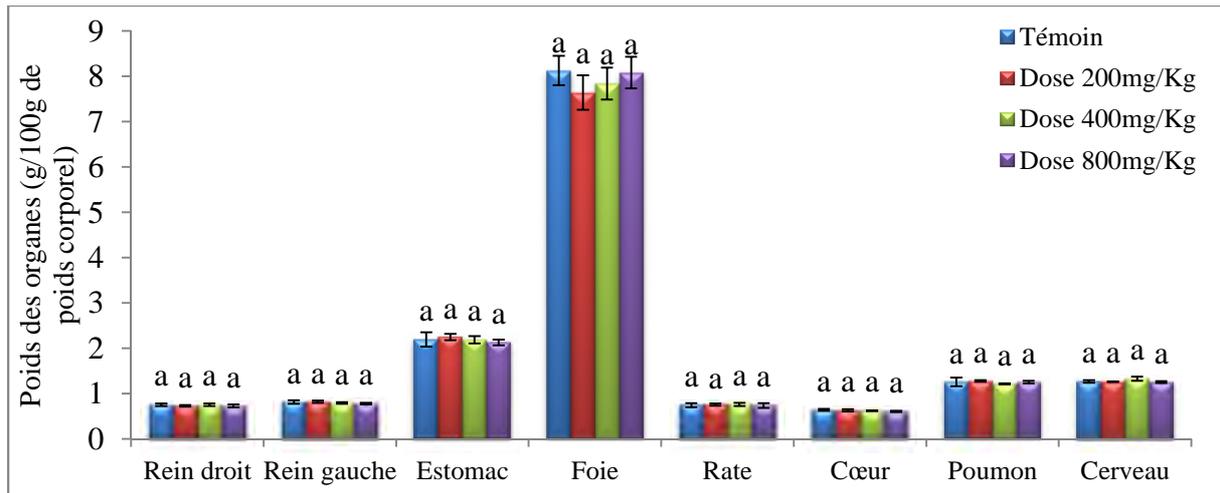


Figure 22: Evaluation du poids d'organe/100 g de poids corporel de toxicité subaiguë.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=6$.

L'observation macroscopique des différents organes prélevés à partir des souris de différents groupes n'a pas montré de variations morphologiques ni des changements dans leurs couleurs et volumes.

L'étude statistique n'a montré aucune différence significative concernant les poids des différents organes du groupe témoin et des groupes traités avec les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* ($p < 0.05$). Cependant les poids relatifs des organes prélevés à la fin du traitement n'ont pas varié par rapport à ceux des témoins.

En effet la toxicité d'une substance se reflète généralement sur le foie ou le rein en induisant des dégénérescences cellulaires et des nécroses, qui se traduisent par l'hypotrophie ou l'hypertrophie de ces deux organes, ce qui n'est pas le cas de l'extrait phénolique de la plante *M. pubescens*.

Au regard des résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'extrait phénolique de *M. pubescens* s'est avéré non toxique pour tous les paramètres testés après son administration répété par voie orale avec des différentes doses.

Cette absence de toxicité subaiguë est aussi observée avec *Matricaria chamomilla*, une plante du même genre, cependant l'extrait aqueux de cette plante aux doses de 300 et 600mg/kg n'ont montré aucun signe de toxicité subaiguë ou mortalité au cours de la période entière de l'expérience. Les animaux traités n'ont montré aucun gain significatif de poids corporel, et aucun changement des poids des organes par rapport au groupe témoin (Hajjaj et al., 2015). Ce qui concorde avec les résultats de la présente étude.

III.3. Détermination des activités anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait phénolique de *M. pubescens*

Afin d'étudier les activités anti-inflammatoire et analgésique des composés phénoliques de *M. pubescens* trois doses de 50, 100 et 200mg d'extrait sec /kg de poids corporel de souris, ont été testées. Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes dans ces doses ont été déterminées. Cependant l'étude statistique a révélé que la dose 200mg/kg présente les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes les plus importantes, suivie par la dose 100mg/Kg et en fin la dose 50mg/Kg (**figure 23 : (a) et (b)**).

Les teneurs en composés phénoliques trouvées dans les doses 50, 100 et 200mg/Kg sont de 1.30, 2.80 et 4.47mg respectivement. Concernant les flavonoïdes, les doses 50, 100 et 200mg/Kg présentent des teneurs de 0.43, 0.89 et 1.60mg, respectivement.

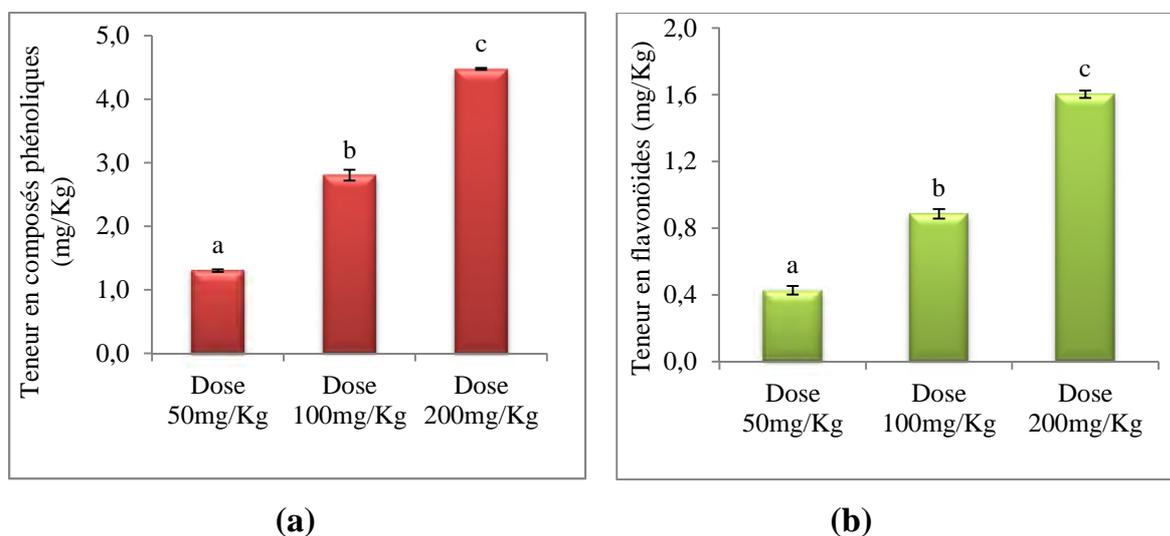


Figure 23: Teneurs en composés phénoliques des doses utilisées dans la détermination des activités anti-inflammatoire et analgésique de *M. pubescens*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

III.3.1. Activité anti-inflammatoire

Les expériences d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques de *M. pubescens*, ont été réalisées sur le modèle de l'œdème aiguë de la patte de souris induit par la carragénine. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de Diclofénac et à ceux du contrôle physiologique (**Tableau IV**).

Tableau IV: Evolution de l'œdème (mL) induit par la carragénine en fonction du temps.

	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Témoin							
Eau physiologique	0,17 ^a	0,22 ^a	0,25 ^a	0,26 ^b	0,23 ^b	0,23 ^b	0,22 ^b
Standard							
Diclofénac 50mg/Kg	0,17 ^a	0,22 ^a	0,23 ^a	0,24 ^a	0,21 ^{a,b}	0,19 ^a	0,18 ^a
Extrait <i>M. pubescens</i>							
Dose 50mg/Kg	0,17 ^a	0,21 ^a	0,23 ^a	0,24 ^{a,b}	0,22 ^{a,b}	0,21 ^{a,b}	0,19 ^a
Dose 100mg/Kg	0,17 ^a	0,21 ^a	0,23 ^a	0,24 ^{a,b}	0,22 ^{a,b}	0,20 ^a	0,19 ^a
Dose 200mg/Kg	0,17 ^a	0,21 ^a	0,23 ^a	0,24 ^a	0,21 ^a	0,20 ^a	0,18 ^a

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=8$.

L'analyse des résultats montre, que toutes les souris injectées par la carragénine développent un œdème. Cependant l'œdème de la patte des souris augmente pour atteindre des valeurs maximales à la 3^{ème} heure puis diminue, d'une façon significative ($p < 0.05$).

Avant et après 1 heure et 2 heures de l'injection de la carragénine, l'étude statistique n'a montré aucune différence entre le groupe témoin, le groupe traité par le Diclofénac et les trois autres groupes traités avec des différentes concentrations en composés phénoliques. Une différence significative a été révélée entre tous les groupes testés à 3, 4 et 5 heures après l'injection de la carragénine ($p < 0.05$). Tandis qu'à la 6^{ème} heure la différence existe qu'entre le groupe témoin et le reste des groupes.

L'œdème le plus important a été observé chez le groupe témoin tout au long de l'expérience, cependant le volume de la patte a augmenté de 0.17 pour atteindre un maximum de 0.26mL à la 3^{ème} heure, puis diminue jusqu'à 0.22mL à la 6^{ème} heure. L'administration du Diclofénac et les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* a diminué l'œdème d'une façon significative à partir de la 3^{ème} heure. Cependant le volume de la patte de souris a augmenté de 0.17 à 0.24mL à la 3^{ème} heure pour tous les groupes traités, puis diminue à 0.19, 0.19, 0.18 et à 0.18mL pour les groupes traités par des doses de 50, 100, 200mg de l'extrait de *M. pubescens*/Kg de poids corporel et de 50mg de Diclofénac /Kg de poids corporel, respectivement.

L'étude statistique a révélé que le Diclofénac et les doses 50, 100 et 200mg/Kg de l'extrait phénolique de *M. pubescens* ont inhibé d'une façon significative l'œdème induit par

la carragénine. Cependant le pourcentage d'inhibition le plus important a été obtenu avec le Diclofénac suivi par la dose 200mg/Kg puis la dose 100mg/Kg. Alors que la dose 50mg/Kg a permis d'exercer le pouvoir inhibant le plus faible (**Figure 24**).

Les activités anti-inflammatoires les plus importantes ont été constatées après la 6^{ème} heure. Cependant, le Diclofénac à la dose de 50mg/Kg a présenté l'activité anti-inflammatoire la plus élevée avec une valeur de 80.56%. En comparant les pourcentages d'inhibition des différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* (50, 100 et 200mg/kg), c'est la dose 200mg/kg qui a révélé l'activité anti-inflammatoire la plus importante avec un pourcentage d'inhibition de 72.22%, suivie par la dose 100mg/kg avec une valeur de 62.96% et en dernière position se trouve la dose 50mg/kg avec un pourcentage d'inhibition de 52.78%.

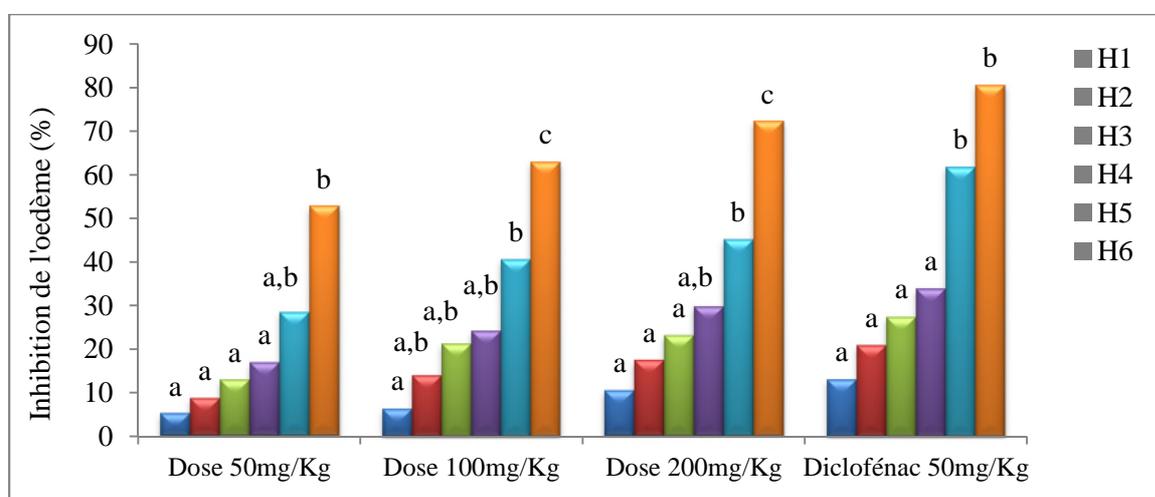


Figure 24: Pourcentage d'inhibition de l'œdème par l'extrait phénolique de *M. pubescens* et le Diclofénac en fonction du temps.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=8$.

Les faibles activités anti-inflammatoires des différentes doses de *M. pubescens* par rapport à celle de Diclofénac, pourrait s'expliquer par le fait que le Diclofénac est une molécule pure contrairement à l'extrait phénolique de *M. pubescens*, cependant la plus grande dose 200mg/kg de l'extrait sec de *M. pubescens* présente que 4.47 mg de composés phénoliques.

La méthode de l'œdème induit par l'injection de la carragénine est largement utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des substances (**Ouédraogo et al., 2012**). L'injection de la carragénine provoque une inflammation locale causée par une lésion

tissulaire, qui résulterait de l'action de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire (Joachim et al., 2011).

La réponse inflammatoire est un phénomène qui se déroule en trois phases distinctes (Wantana et al., 2009): une première dite initiatrice, qui dure environ une heure, et qui fait intervenir l'histamine et la sérotonine, qui favorisent la vasodilatation et la transsudation plasmatique, une seconde phase (1,5 à 3 heures) qui fait appel aux kinines comme médiateurs augmentant la perméabilité vasculaire et la formation de l'œdème (Sanogo et al., 2006), et une troisième phase dont le médiateur est la prostaglandine qui intervient au-delà de la troisième heure, associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée. (Ouédraogo et al., 2012 ; Sanogo et al., 2006).

Le Diclofénac, utilisé comme médicament de référence est un anti-inflammatoire non stéroïdien, il réduit l'inflammation, en empêchant la synthèse des prostaglandines par inhibition des cyclo-oxygénases (COX₁ et COX₂) (Bolante Ibrahima, 2012). Ainsi, l'extrait phénolique de *M. pubescens* pourrait avoir une action antagoniste à l'histamine, à la bradykinine, à la sérotonine et à la biosynthèse des prostaglandines.

Mahmoudi et al. (2008) ont étudié l'activité anti-inflammatoire de *Thymus pubescens*, une plante de la même espèce que celle de ce présent travail, l'extrait méthanolique de cette plante aux doses de 200 et 400mg/kg a montré respectivement des pourcentages d'inhibition de l'œdème de 64.3 et 66.9%, ces résultats sont relativement faibles, par rapport à celui de notre étude qui est de 72.22%, obtenue avec la dose de 200mg/kg.

III.3.2. Activités analgésiques

III.3.2.1. Activité analgésique périphérique

L'activité antalgique périphérique a été évaluée en provoquant une douleur à des souris par administration intra-péritonéale d'une solution d'acide acétique. Cette douleur se traduit par des étirements des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (Timbo, 2003).

L'étude statistique de l'activité antalgique périphérique de l'extrait phénolique de *M. pubescens* a montré une différence significative entre les lots étudiés selon le nombre de contorsions, alors qu'aucune différence significative n'a été constatée entre le groupe traité par l'aspirine à 200mg/Kg et le groupe traité par l'extrait de *M. pubescens* à la dose de 200mg/Kg (Tableau V). Le nombre de contorsions le plus important a été observé chez le

groupe témoin avec une valeur de 108.5 contorsions, tandis que le nombre de contorsion le plus bas a été enregistré chez les groupes traités avec l'aspirine et l'extrait de *M. pubescens* à la dose de 200mg/kg, dont les nombres sont de 55 et 55.75 contorsions, respectivement.

Tableau V : Nombre de contorsions abdominales induit par l'acide acétique chez la souris.

		Nombre de contorsions
Témoin	Eau physiologique	108,5±2,31 ^d
	Standard	
	Aspirine 200 mg/Kg	55±1,26 ^a
Extrait <i>M. pubescens</i>		
	Dose 50 mg/Kg	64,285±4,44 ^c
	Dose 100 mg/Kg	58,875±6,70 ^b
	Dose 200 mg/Kg	55,75±3,34 ^a

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM, n=8.

L'analyse statistique des résultats, montre que les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens* (50, 100 et 200mg/kg) et l'aspirine (200mg/kg) administrées par voie oral, 30min avant l'injection de l'acide acétique, réduisent le nombre de contorsion abdominal d'une façon significative (**Figure 25**).

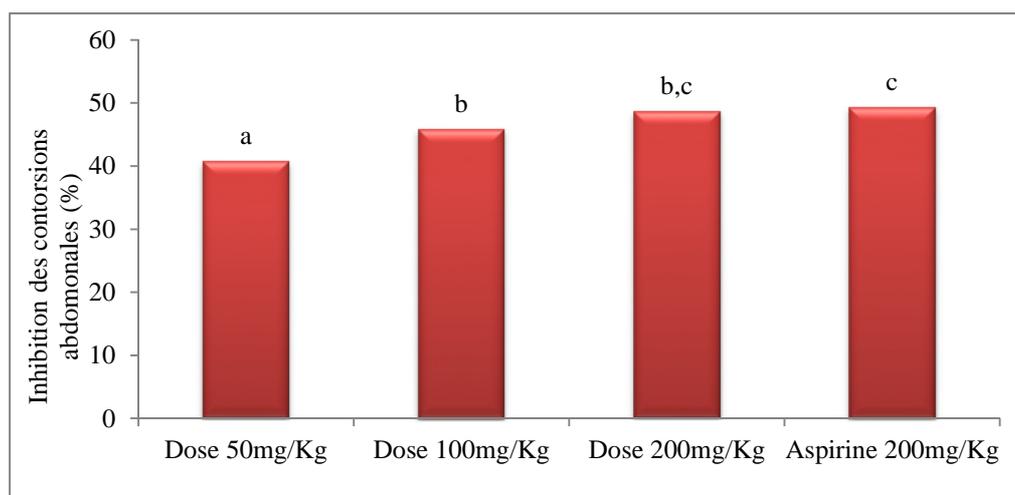


Figure 25: Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales chez les souris.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM, n=8.

Le pouvoir inhibant les contorsions abdominales le plus important a été obtenu en utilisant l'aspirine puis l'extrait de *M. pubescens* à la dose 200mg/kg dont les pourcentages sont de 49.30 et 48.62 % respectivement. Alors que le plus faible effet inhibant des contorsions abdominales a été constaté à la dose 50mg/kg avec un pourcentage de 40.75%.

Récemment, **Yusufoglu (2014)** a étudié l'activité analgésique périphérique de *Pulicaria arabica* (Compositae) ; l'extrait éthanolique de la plante à la dose de 500mg/kg a donné un pourcentage d'inhibition de 30.14 %. Ce résultat est relativement faible par rapport au résultat de l'extrait méthanolique de ce présent travail, dont l'effet analgésique est de 48.62 %.

L'acide acétique administré met en jeu les mécanismes périphériques de la douleur et induit la libération de nombreux médiateurs chimiques impliqués dans la genèse des messages nociceptifs en périphérie, tels que les prostaglandines ($PGE_{2\alpha}$ et $PGF_{2\alpha}$), la sérotonine, l'histamine, la bradykinine et la substance P (**Shahzad, 2014**), ces derniers constituent la cause majeure des douleurs en sensibilisant les récepteurs périphériques de la douleur, ainsi, le blocage de leur synthèse par les analgésiques entraîne la suppression des effets de sensibilisation et diminue ainsi la douleur (**Amresh, 2006 ; Kouakou- Siransy, 2010**).

La présente étude montre que l'extrait phénolique de *M. pubescens* exerce un effet protecteur vis à vis de la douleur provoquée par l'acide acétique, il a inhibé les contorsions abdominales de manière significative et cet effet augmente avec l'augmentation de la dose (dose dépendante) ($p < 0.05$). Les effets analgésiques de la plante à la dose 200mg/kg a démontré une activité analgésique similaire à celle du médicament de référence. L'aspirine et les autres anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent la synthèse des prostaglandines par inhibition des cyclo-oxygénases dans les tissus périphériques (**Trongsakul, 2003**).

Deraedt et al. (1980), ont rapporté la confirmation que l'administration intra-péritonéale d'acide acétique induit la libération d'un niveau élevé de prostaglandines (PGE_2 et PGF_2) et de médiateurs du système nerveux sympathique pendant les premières 30 minutes qui suit l'injection d'acide acétique (**Neto et al., 2005 ; Tianga et al., 2009**). Cela suggère que le mécanisme d'action analgésique d l'extraits phénoliques de *M. pubescence* pourrait avoir un rôle inhibiteur dans la synthèse des prostaglandines par inhibition de la cyclo oxygénase de manière similaire à l'aspirine et les AINS (**Neto et al., 2005**).

III.3.2.2. Activité analgésique central

Dans le cadre d'évaluer l'activité analgésique centrale de *M. Pubescence* les doses 50, 100 et 200mg /Kg ont été étudiée en utilisant le test de l'immersion de la queue de souris dans l'eau à 54°C. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du médicament de référence (aspirine) et à ceux du contrôle physiologique (**Tableau VI**).

Tableau VI : Effets de l'extrait phénolique de *M. pubescence* et de l'aspirine sur la latence de retrait de la queue de souris.

	0mn	30mn	60mn	90mn	120mn	180mn
Témoin						
Eau physiologique	2,27±0,23 ^a	2,25±0,21 ^a	2,37±0,11 ^a	2,45±0,11 ^a	2,49±0,13 ^a	2,73±0,10 ^a
Standard						
Aspirine 200mg/Kg	2,29±0,22 ^a	3,15±0,27 ^b	3,83±0,29 ^{b,c}	4,60±0,25 ^d	5,10±0,29 ^c	6,12±0,44 ^c
Extrait <i>M. pubescens</i>						
Dose 50mg/Kg	2,07±0,23 ^a	2,37±0,34 ^a	2,52±0,41 ^a	3,33±0,38 ^b	4,11±0,52 ^b	4,67±0,63 ^b
Dose 100mg/Kg	2,29±0,23 ^a	2,69±0,34 ^{a,b}	3,32±0,41 ^b	4,09±0,40 ^c	5,04±0,53 ^c	6,16±0,68 ^c
Dose 200mg/Kg	2,07±0,21 ^a	2,98±0,34 ^b	4,20±0,40 ^c	5,69±0,38 ^e	6,46±0,53 ^d	7,42±0,66 ^d

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM, n=8.

Les résultats montrent que le temps de latence de la queue augmente pour l'aspirine et les différentes doses de l'extrait de *M. pubescence* pour atteindre une valeur maximale à la 180^{ème} mn.

Au début du test, l'étude statistique n'a montré aucune différence entre le groupe témoin, le groupe traité par l'aspirine et les trois autres groupes traités avec des différentes concentrations en composés phénoliques. Une différence significative a été constatée entre tous les groupes testés après l'administration des différentes solutions à 30, 60, 90, 120 et 180mn (p < 0.05).

Le séjour de la queue de souris le moins élevé a été observé chez le groupe témoin tout au long de l'expérience, il est compris entre 2.27 à 2.73 secondes. Les animaux traités par l'extrait de la plante étudiée et par l'aspirine présentent un temps de latence plus important. Durant cette expérience, le temps de latence de la queue a augmenté de 2.07 à 4.67 secondes pour la dose 50mg/Kg, de 2.29 à 6.16 pour la dose 100mg/Kg et de 2.07 à 7.42 secondes pour

la dose 200mg/Kg. Concernant le groupe traité par l'aspirine, le temps de latence a été augmenté de 2.29 à 6.12 secondes.

Après 180 mn, les doses 200 et 100mg/kg de l'extrait de *M. pubescence* ont permis de donner un séjour de la queue plus long que celui provoqué par la dose 200mg/kg de l'aspirine.

L'extrait de *M. pubescens* et l'aspirine ont montré une diminution significative du seuil de la douleur, correspondant à une augmentation significative du pourcentage de protection, par rapport au groupe témoin ($P < 0.05$) (**Figure26**).

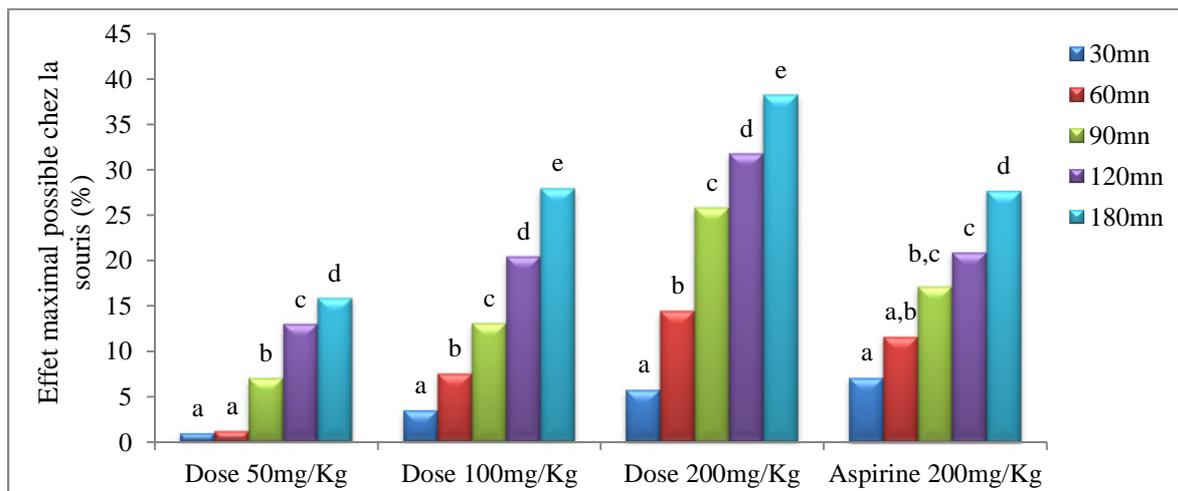


Figure 26 : Pourcentage de l'effet maximal possible d'extrait phénolique de *Matricaria pubescens* et de l'aspirine chez les souris.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM, $n=8$.

Les pourcentages d'effets maximal les plus élevés ont été observés à la 180^{ème} mn avec des valeurs de 15.83, 27.92 et 38.23%, respectivement pour les dose 50, 100 et 200mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* et 27.59% pour le médicament de référence.

L'analyse statistique montre que l'activité analgésique central la plus élevée a été obtenue avec la dose 200mg/kg de l'extrait de *M. pubescens* toute au long de l'expérience, tandis que la faible activité analgésique a été obtenue avec la dose 50mg/kg de l'extrait de la plante. Ces résultats montrent que l'extrait phénolique de *M. pubescens* a un effet analgésique central.

Verônica et al. (2011) ont étudié l'activité analgésique central de *Emilia sonchifolia* (Asteraceae) par la méthode de l'immersion de la queue dans l'eau chaud à 50°C, l'extrait éthanolique de la plante aux doses 30, 100 et 300mg/kg a donné des temps de latence allant

de 5 à 8 seconds, tandis que l'extrait méthanolique de *M. pubescens* de ce présent travail a donné des valeur allant de 4.62 à 7.42 secondes.

La méthode de retrait de la queue utilisant des stimuli thermiques, met en jeu un réflexe spinal, qui est modulé par un mécanisme inhibiteur supra-spinal (**Kouakou- Siransy, 2010**). Le test de l'immersion de la queue permet d'identifier les analgésiques centraux (**Le Bars et al., 2001**). Les stimuli thermiques sont sélectivement inhibés par les analgésiques centraux et non par les analgésiques périphériques (**Sayyah et al., 2004**).

En ce qui concerne la composante centrale de l'activité analgésique, les différentes doses de l'extrait phénolique de *M. pubescens* administrées par gavage, ont diminué la douleur induite par la chaleur du bain chaud, de manière significative et dose-dépendante ($p < 0.05$). L'aspirine utilisé comme médicament de référence a exercé une faible activité analgésique centrale par rapport à l'extrait phénolique à la dose 200mg/kg.

Par ailleurs, les drogues analgésiques telles l'aspirine et la morphine peuvent diminuées la synthèse des prostaglandines par l'intermédiaire de l'inhibition des cyclo-oxygénases, en agissant sur les récepteurs opioïdes spécifique dans le système nerveux central (**Dolezal et Krsiak, 2002**). Par conséquent, l'effet analgésique central des extraits de *M. pubescens* pourrait être due à l'inhibition des récepteurs opioïdes du système nerveux central.

L'extrait de *M. pubescens* a exercé des activités analgésique et anti-inflammatoire remarquable, lors du test de l'œdème à la carragénine et la douleur induit par l'acide acétique et l'immersion de la queue dans l'eau à 54°C.

Selon de nombreux auteurs ; **Dieng, (2007)**, **Bolanle et al. (2012)** et **Sabrin et al. (2014)**, les activités analgésique et anti-inflammatoire des plantes médicinales seraient dues à la présence des composés phénoliques.

Beaucoup de composés phénoliques d'origine végétale, en particulier les flavonoïdes (quercitrine, kaempférol et lutéoline), et les acides phénoliques (acide protocatéchique et acide gallique) possèdent des propriétés analgésiques, antioxydantes et anti-inflammatoires importantes (**Queiroz et al., 2014**). **Abad et al. (1995)** ont démontré que les flavonoïdes réduisent significativement la synthèse des prostaglandines par l'intermédiaire de l'inhibition des cyclo-oxygénases et des lipo-oxygénases. **Jung et al. (2012)** ont également rapporté que les flavones et les flavonols suppriment l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) et l'expression de la protéine COX-2.

La richesse de l'extrait de *M. pubescens* en composés chimiques tel que les polyphénols, les flavonoïdes pourrait être responsable des propriétés pharmacologiques observées.

*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Conclusion

La présente étude a été consacrée à l'extraction des composés phénoliques de *Matricaria pubescens*, à l'étude de leur toxicité, leurs activités anti-inflammatoire et analgésique.

L'extraction par le méthanol 50% a permis de donner un rendement de 23% et des teneurs en composés phénoliques de 1.22g EAG/100g et en flavonoïdes de 0.37g EQ/100g. Pour étudier les activités anti-inflammatoire et analgésique de *M. pubescens*, trois doses 50, 100 et 200mg d'extrait sec/kg ont été utilisées, cependant ces doses présentent des teneurs en composés phénoliques de 1.30, 2.80 et 4.47mg et des teneurs en flavonoïdes de 0.43, 0.89 et 1.60mg, respectivement.

L'administration par voie oral de l'extrait de la plante *M. pubescens* aux doses de 2500 et 5000mg/kg lors de l'étude de la toxicité aiguë, n'a montré aucun comportement anormal et aucune différence significative des poids corporel des souris, ni des masse relative de leurs organes vitaux ($p < 0.05$). Aucun signe de toxicité n'a été observé concernant la quantité de la nourriture et le volume d'eau consommé et aucune mortalité n'a été obtenue lors des 14 jours de l'étude. L'analyse de ces résultats a montré que la DL50 de *M. pubescens* est estimée supérieure à 5000mg/kg selon l'échelle de Hodge et Sterner.

Toutefois, l'évaluation de la toxicité subaiguë a été effectuée par l'administration orale de l'extrait de *M. pubescens* aux doses de 200, 400 et 800mg/Kg par jour pendant 28 jours. Les résultats de cette étude n'ont montré aucun signe de toxicité. Cependant tous les paramètres évalués à l'exception de la quantité de nourriture et du volume d'eau consommé, n'ont présenté aucune variation significative par rapport aux groupes témoins ($p < 0.05$).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a révélé que les extraits de *M. pubescens* inhibent la formation de l'œdème inflammatoire induit par la carragénine de manière significative ($p < 0.05$). L'extrait de la plante à la dose de 200mg/Kg a exercé le pouvoir inhibant de l'œdème inflammatoire le plus élevé avec un pourcentage de 72.22 %.

L'extrait phénolique de *M. pubescens* a aussi exercé des effet analgésiques périphériques et central remarquables. L'extrait de la plante a diminué le nombre de contorsion abdominale

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

induite par l'acide acétique et a augmenté le temps de latence de la queue dans l'eau à 54°C de manière significative ($p < 0.05$).

Les effets, analgésique périphérique et central, de *M. pubescens* les plus élevés ont été également obtenus avec la dose 200mg/kg, avec des pourcentages d'inhibitions de 38.23 et 48.62% respectivement. Ces résultats révèlent que la plante étudiée présente une activité analgésique périphérique plus importante que son activité analgésique centrale.

Les résultats de la présente étude indique que la plante étudiée n'est pas toxique et présente des activités anti-inflammatoire et analgésique importantes, ce qui justifie l'utilisation traditionnelle de *M. pubescens*.

En perspectives, nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant:

- Des tests complémentaires de toxicité sur *M. pubescens* par d'autre voie que celle orale et des études de toxicité chronique afin de déterminer les effets à long terme ;
- Des expériences ultérieures à l'échelle moléculaire utilisant des extraits purifiés, pour identifier précisément, d'une part les composés responsables de l'activité analgésique et anti-inflammatoire de *Matricaria pubescens* et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent ces activités.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abad, M.J., Bermejo, P. and Villar, A.** (1995). The Activity of Flavonoids Extracted from *Tanacetum microphyllum* DC. (Compositae) on Soybean Lipoxygenase and Prostaglandin Synthetase. *Gen. Phar*, 26 (4): 815-819.
- Abul, K.A. and Andrew, H.L.** (2008). *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. Camille-Desmoulins : Pierre L. Masson. 240 p.
- Amresh, G., Freddy, G.D., Rao, C.V. and Singh, P.N.** (2006). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Cissampelos pareira* roots in rats. *J. Ethnophar*, 110: 526-31.
- Ašimović, Z., Čaušević, A., Završnik, D., Špirtović-Halilović, S., Imamović, B. and Mušanović, J.** (2013). Determination of Total Phenols in Some Plants Used in Traditional Medicine in Bosnia and Herzegovina. *Int. J.Pharm.Teach. Pra*, 4(3): 716-719.
- Ateba, S.B., Simo, R.V., Mbanya, J.C., Krenn, L. and Njamen, D.** (2014). Safety profile and gender specific differences of a methanol extract of *Eriosema laurentii* (Leguminosae) in acute and subchronic (28 days) oral toxicity studies in Wistar rats. *F. Chem. Tox*, 65: 27-32.
- Bahmani, M., Hedayatollah, S., Majlesi, M., Shahinfard, N. and Rafieian-Kopaei, M.** (2014). A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. *Asi. Pac. J. Trop. Med*, 7(1): 43-53.
- Bahorun, T.** (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *F. Agric. Res. Cou*, 83-94.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S.** (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potentiel uses. *F. Chem*, 99: 191-203.
- Bamforth, C.W.** (2000). Perceptions of beer foam. *Perc. Bee. Foa*, 106 (4):229 238.
- Bellakhdar, J.** (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Paris : Ibis presse. 764p.
- Benoist, J.M. and Le Bars, D.** (1995). L'action antalgique de l'acide acétylsalicylique et des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *J. A. M. A*, 9:31-42.
- Bensimon, G., Berlin, I., Hulot, J.S., Lacomblez, L., Lebrun-Vignes, B., Lechat, P. and Warot, D.** (2006). *Pharmacologie*. Paris: Lechat. 349 p.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E. and Sapirstein, H.D.** (2005). Phenolic content and antioxydants Activity of Pearled wheat and Roller-Milled. Fractions. *Cereal. chem*, 82(4):390-393.
- Boccard, E. and Deymier, V.** (2007). *Pratique du traitement de la douleur*. Malmaison Cedex – France : François Boureau. 202 p.

- Bolanle, I., Sowemimoa, A., Rooyen, A.V. and Van de Venter, M.** (2012). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume (Amaranthaceae). *J. Ethnophar*, 141: 282- 289.
- Bovy, A. Schijlen, E., and Hall, R.D.** (2007). Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): The potential for metabolomics. *Metab*, (3): 399-412.
- Brakch, N. and Kessler, D.** (2011). Fiche technique : Enzymes hépatiques. *C. S.C. Q*, 1-2.
- Burmester, G.R. and Pezzutto, A.** (2000). *Atlas de poche d'immunologie*. Paris : Flammarion. 293 p.
- Chandrashekhar, V.M., Halagali, K.S., Nidavani, R.B., Shalavadi, M.H., Biradar, B.S., Biswas, D. and Muchchandi, I.S.** (2011). Anti-allergic activity of German chamomile (*Matricaria recutita L.*) in mast cell mediated allergy model. *J. Ethnophar*, 137: 336 - 340.
- Claverie, I. and Hedde, H.** (2008). *Pharmacologie générale, mécanisme fondamentaux*. Paris : Porphy. 61 p.
- Claverie, I. and Hedde, H.** (2008). *Pharmacologie générale, mécanisme fondamentaux*. Porphy. 48-61.
- Collier, H.O.J., Dinneen, L.C., Johnson, C.A. and Scheider, C.** (1968). The abdominal contraction response and its suppression by antinociceptive drugs in the mouse. *Brit. J. Phar. Chem*, 32: 295–310.
- D'Amour, F.E. and Smith, D.L.** (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J. Phar. Exper. Therap*, 72: 74–79.
- Dangoumau, J., Moore, N., Molimard, M., Fourrier-reglat, A., Latry, K., Haramburu, F., Miremont-Salame, G. and Titier, K.**(2006). *Pharmacologie générale*. Copyright ISBN. 547 p.
- Debnath, S., Ghosh, S. and Hazra, B.** (2013). Inhibitory effect of *Nymphaea pubescens* Willd. flower extract on carrageenan-induced inflammation and CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *F. Chem. Tox*, 59: 485–491.
- Delmas, V., Brémond-Gignac, D., Douard, R., Dupont, S., Latrémouille, C., Le Minor, J.M., Pirro, N., Sébe, P., Vacher, C. and Yiou, R.** (2008). *Anatomie générale*. Camille-Desmoulin : Elsevier Masson. 340p.
- Derache, R.** (1986). *Toxicologie et sécurité des aliments*. Paris: Lavoisier. 594 p.
- Deraedt, R., Jouquey, S., Delevallee, F. and Flahaut, M.** (1980). Release of prostaglandins E and F in an algonenic reaction and its inhibition. *Europ. J. Phar*, 61 : 17-24.
- Dieng, M., Fall, A.D., Sarr, S., O. Diatta, K., Diatta, W., Sy, G.Y. and Bassene, E.** (2013). Activité anti-inflammatoire des feuilles de *Borassus aethiopum* Mart. (Arecaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7 (2): 805-808.
- Dieng, M.** (2007). Etudes phytochimiques et activité antifongique des feuilles de *Borassus aethiopum*. D.E.A. *Chim. Bioch. Prod. Nat. FST/UCAD*.

- Doležal, T. and Kršiak, M.** (2002). Augmentation of Analgesic Effect of Ibuprofen by Alprazolam in Experimental Model. *Physiol. Res*, 51: 179-184.
- Drake, L.R., Vogl, W. and Mitchell, W.M.A.** (2006). *Grays anatomie pour les étudiants*. Paris : Elsevier Masson.809p.
- Fleurentin, J., Hayon, J.C. and Pelt, J.M.**(2007). *Les plantes qui nous soignent-Traditions et thérapeutique*. OUEST-France. 189 p.
- France, F., Marie-Laure, S., Lagente, M., Graeve, J. and Levade, T.** (2000). *Biochimie clinique* Condé-sur-Noireau : Valdiguié-P. 356p.
- Friedmann, R.B. and Yong, D.S.** (2001). Effects of disease on clinical laboratory tests. *A. A. C. C. Press*, 22-30.
- Frutos, P., Hervás, G.F. and Giráldez, A.M.** (2004). Review: Tannins and ruminant nutrition. *Span. J. Agr. Res*, 2:(2), 191-202.
- Greger, H. and Hofer, O.** (1984). On the pungent short reports principle of *Matricaria pubescens*. *Phytochem*, 23 (5) :1173-1174.
- Guirimand, F.** (1998). Nouveautés sur la physiologie et la pharmacologie de la douleur. *U. E. Trait. Doul. INSERM. U. 161*, 226-232.
- Guirimand, F. Le Bars, D.** (1996). Physiologie de la nociception. *Ann. Fr. Anesth. Réanim*, 15:1048-1079.
- Hagerman, A. E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W. and Richel, T.L.** (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *F. Chem*, 46: 887-92.
- Haghi, G., Hatami, A., Safaei, A. and Mehran, M.** (2014) Analysis of phenolic compounds in *Matricaria chamomilla* and its extracts by UPLC-UV. *Res. Phar. Sci*, 9(1): 31-37.
- Hajjaj, G., Bounihi, A., Tajani, M., Chebraoui, L., Bouabdellah, M., Cherradi, N., Rouas, L., Cherrah, Y. and Zellou, A.** (2015). Acute and sub-chronic oral toxicity of standardized water extract of *Matricaria Chamomilla* L. in Morocco. *Int. J. Univ. Phar. Bio. Sci*, 4(1): 1-14.
- Hammiche, V. and Maiza, K.** (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of tassili N'ajjer. *J. Ethnophar*, 105: 358-367.
- Harbourne, N., Jacquier, J.C. and Riordan, D.O.** (2009). Optimisation of the extraction and processing conditions of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) for incorporation into a beverage. *F. Chem*, 115 : 15–19.
- Henrotine, Y., Deby-Dupont, G. and Reginster, J. Y.** (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Rev. Med. Liege*, 56 (6): 433-442.
- Herbert, R.B.** (1989). *The Biosynthesis of secondary metabolites*. Chapman and Halle. 115p.

Hilaly, J.E. Israili, Z.H. and Lyouss, B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *J. Ethnophar*, 91 : 43–50.

Hodge, H.C. and Sterner, J.H. (1949). Tabulation of Toxicity Class. *Amer. Ind. Hyg. Associ. Quar*, 10(4):93-96.

Joachim, D.G., Judith, F.A., Pierre L., Wilfrid, K.A., Richard, T., Pierre, D. and Mansourou, M. (2011). Propriétés anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Sterculia setigera* Delile et du mélange *Aframomum melegueta* K. Schum – *Citrus aurantifolia* Christm et Panzer. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 5(2): 634-641.

Judd, W. S. Campbell, C. S. Kellogg, E. A. Stevens, P. (2002). *Botanique Systématique, une perspective phylogénétique*. Paris : Boeck. 399 p.

Jung, H.A., Jin, S.E., Min, B. S., Kim, B.W. and Choi, J.S. (2012). Anti-inflammatory activity of Korean thistle *Cirsium maackii* and its major flavonoid, luteolin 5-O-glucoside. *F. Chem. Tox*, 50: 2171–2179.

Keita, A., Coppo, P., Aké, A.L., Diakité, C., Diallo, D., Diarra, N., Koné, N., Pisani, L., Kemassi, A. et al. (2014). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *J. Adv. Res. Sci. Tech*, 1(1):1-5.

Kolodziejczyk-Czepas, J., Bijak, M., Saluk, J., Ponczek, B., M. Zbikowska, H.M., Nowak, P., Tsirigotis-Manieck, M. and Pawlaczyk, I. (2015). Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic–polysaccharide conjugates. *Int. J. Bio. Mac*, 72 : 1152–1158.

Koster, R., Anderson, M. and De Beer, J. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc*, 8: 412–417.

Kouakou–Siransy, G., Nguessan, I. G., Dally, I., Mohou, B., Kamenan, A., Kouakou, L. and Kablan, B.J. (2010). Etude de l'activité analgésique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Gossypium Hirsutum* Linn. (MALVACEAE). *J. sci. pharm. biol*, 11 (1):6-12.

Kovacik, J., Gruz, J., Backor, M., Tomko, J., Strnad, M. and Repečak, M. (2008). Phenolic compounds composition and physiological attributes of *Matricaria chamomilla* grown in copper excess. *Env. Exp. Bot*, 62: 145–152.

Lamaison, J.L.C. and Carnet, A. (1990). Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegeus monogyna* Jacq et de *Crataegeus laevigata* (Poiret D.C) en fonction de la végétation. *Pharm. Acta. Helv*, 65:315-320.

Laval, G., Sang, B., Mallaret, M. and Villard, M.L. (2002). Nouveaux antalgiques de niveau III de l'Organisation mondiale de la santé. *Rev. Méd. Interne*, 23: 55-70.

Le Bars, D., Gozariu, M. and Cadden, S.W. (2001). Analyse critique des modèles animaux de douleur aiguë. Seconde partie. *Ann. Fr. Anesth. Réanim*, 20: 452-70.

Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Chen, F. and Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *F. Chem*, 102:771-77.

- Loichot, C. and Grima, M.** (2005). Médicaments et pathologies. *Phar. Gén*, 1-7.
- Lüllmann, H., Mohr, K. and Ziegler, A.** (1998). *Atlas de poche de pharmacologie*. Casimir-Delavigne : Flammarion. 387 p.
- Mahmoudi, M., Morteza-Semnani, K. and Mojra, E.** (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of *Thymus pubescens* extract. *Fito*, 79: 361-365.
- Maiza, K., Brac De La Perrière, A. and Hammiche, V.** (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne Sahara septentrional. Médicaments et aliments: l'approche ethnopharmacologique, 24-27.
- Makhloufi, A., Moussaoui, A. and Lazouni, H.A.** (2012). Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, South west of Algeria. *J. Med. Plan. Res*, 6(16): 3124-3128.
- Mann, M.** (2006). Neuro-physiologie de la douleur. *M.I.D. Soi. Pall. Item*, 65: 1-5.
- Martin, S. and Andriantsitohaina, R.** (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *A. card. Angéio*, 51 :304-315.
- Metrouh-Amir, H., Duarte, M.M.C. and Maiza, F.** (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Ind. Crops. Prod*, 67: 249–256.
- Mithun-Vishwanath, K.P., Amit, D.K. and Sucheta, D.B.** (2012). Anti-arthritis and anti-inflammatory activity of *Xanthium srtumarium* L. ethanolic extract in Freund's complete adjuvant induced arthritis. *Biomed. Aging. Pathology*, (2): 6–15.
- Mohsin, A., Shaikh, M., Mele, J., Abul-Kalam, A.M., Khairul-Islam, M. and Ronok, Z.** (2012). Anti-inflammatory and analgesic activities of acetophenone semicarbazone and benzophenone semicarbazone. *Asi. Pac. J. Trop. Biomed*, 1036-1039.
- Motamed, B. and Texier, H.** (2000). Sources et caractéristiques des composés phénoliques dans l'estuaire de la Seine. *Ocean. Acta*, 23 (2): 167-174.
- Muster, D.** (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stom*, (1): 21-29.
- Neto, A.G., Costa, J.M.L.C., Belati, C.C., Vinh-olis, A.H.C., Possebom, L.S., Da Silva Filho, A.A., Cunha, W.R., Carvalho, J.C.T., Bastos, J.K. and Silva, M.L.A.** (2005). Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. *J. Ethnopharm*, 96: 87-91.
- O.C.D.E.** (2001). Guideline for testing of chemicals Acute Oral Toxicity – Up-and-Down Procedure. 425, 1-26.
- O.C.D.E.** (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Etude de toxicité orale a dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. 407.
- Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Bou Mouncef, P., Toufic, J. and Richard, G.M.** (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin chateau ksara. *Leban. Scien. J*, 11(2) :117-131.

Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R.W. Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., Dijoux, I.P. and Guissou, M.G. (2012). Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phyto*, 1-7.

Overbeck-Rezaeiana, K. and Helbling, B. (2014). Transaminases: quand les doser – comment les interpréter. *For. Med. Sui*, 14(21):422–425.

Ozenda, P. (2004). *Flore et végétation du Sahara*. Paris: CNRS.662 p.

Ponvert, C. and Scheinmann, P. (2006) .Les réactions allergiques et pseudoallergiques aux antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Rev. fran. Allergo. Immuno. clin*, 46: 576–583.

Queiroz, M.B.R., Lucena, G.M.R.S., Caldas, E.D. and Silva, M.V. (2014). Evaluation of the anti-inflammatory activity of gel with *Matricaria recutita* L. using a permeation enhancer. *Rev. Bras. Farm*, 95 (2): 676 -694.

Ravat, F., Payre, J., Peslages, P., Fontaine, M. and Sens, N. (2011). Burn: An inflammatory process. *Patho. Bio*, 59:63–72.

Raynaud, P. (2008). Anatomie pathologique et inflammation conception d'ensemble. *Anat. patho*, 1-5.

Reichi, F.X. (2004).Toxicologie générale. In : *Guide pratique de toxicologie*. Paris : Boeck, 6p.

Rousselet, MC., Vignaud, J.M., Hofman P. and Chatelet, F.P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Copy. AFECAP*, 1-75.

Sabrin, R.M.I., Khalid, Z.A., Mostafa, A.F., Ehab, S.E., Rwaida A.A. and Gamal, A.M. (2014). Chemical constituents and biological investigations of the aerial parts of Egyptian *Clerodendrum inerme*. *Bull. Facu. Pharma. Cair. Univer*, 52: 165-170.

Sanogo, R. Maiga, A. and Diallo, D. (2006). Activités analgésique et anti-inflammatoire des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereospermum kunthianum* et *Tricrilia emetica* utilisées dans le traitement traditionnel des dysménorrhées au mali. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 61:123-136.

Sarni-Manchado, P. and Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Paris : Lavoisier .398p.

Sayyah, M., Hadidi, N. and Kamalinejad, M. (2004). Analgesic and anti-inflammatory activity of *Lactuca sativa* seed extract in rats. *J. Ethnophar*, 92: 325–329.

Seignalet, J. (2004). *L'alimentation ou la troisième médecine*. 3-rue Jean-François-Gerbillon,75006 Paris :François-Xavier de Guibert.658p.

Shahzad, M., Muhammad S.A., Farina, K., Aadil, A., Shoaib, A. and Saima, S. (2014). Synthesis and biological evaluation of schiff bases of 4-aminophenazone as an anti-inflammatory, analgesic and antipyretic agent. *J. Sau. Chem. Soc*, 555:1319-6103.

- Silbernagi, S. and Despopoulos, A.** (2001). *Atlas de poche de physiologie*. Casimir-Delavigne: Flammarion. 446p.
- Tapo, M. and Wallet, O.F.** (1993). *Plantes et remèdes du plateau Dogon*. Bandiagara-Pergia-Italie : CRMT/PSMTM. 156p.
- Tianga, Y.S., Traore, F. and Sakande, J.** (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *C. R. Bio*, 332 : 371-377.
- Timbo, B.** (2003). *Étude phytochimiques et des activités biologiques de Trichilia emetica VAHL (MELIACEAE)*. Thèse, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, p 112.
- Tranquilli, W.J., Thurmon, J.C. and Grimm, K.A.** (2007). *Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 2121 State Avenue: Lumb & Jones. 112 p.
- Trongsakul, S., Panthong, A., Kanjanapothi, D. and Taesotikul, T.** (2003). The analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of *Diospyros variegata*. *Kruz. J. Ethnophar*, 85: 221-225.
- Tsao, R. and Deng, Z.** (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromato*, 812: 85-99.
- Vaubourdolle, F.** (2007). *Médicaments*. France : Wolkers Kluwer. 867 p.
- Vergne-Salle, P., Grilo, R.M., Bertin, P., Bonnet, C., Coyral, D., Perrot, S. and Trèves, R.** (2004). Douleurs en rhumatologie, aspects physiopathologiques, moyens d'évaluation, moyens thérapeutique. *EMC-Rhumato. Orthop*, (1):266–294.
- Verônica, M., Couto, F.C., Vilela, D.F., Dias, M.H., Santos, R., Soncini, C.G.O. and Nascimento, A.G.P.** (2011). Antinociceptive effect of extract of *Emilia sonchifolia* in mice. *J. Ethnophar*, 134 : 348–353.
- Vuillet-A-Ciles, H., Buxeraud, J. and Nouaille, Y.** (2013). Les médicaments de la douleur : les antalgiques de palier I. *Actual. phar*, (527) : 21-26 .
- Wantana, R., Tassanee, N. and Subhadhirasakul, S.** (2009). Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *J. Nat. Med*, 63:290-6.
- Xuan, L., Humaira, W., Linwei, L., Tian, Y., Zhongmei, G., Beita, Z. and Imran, A.** (2015). Physicochemical characteristics, polyphenol compositions and antioxidant potential of pomegranate juices from 10 Chinese cultivars and the environmental factors analysis. *F. Chem*, 175:575-584.
- Yusufoglu, H.S.** (2014). Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects of the aerial parts of *Pulicaria arabica* (Family: Compositae) on rats. *Asian Pac. J. Trop. Med*, 7(1): 583-590.

Site internet:

Institut des Neurosciences de la santé mentale et des toxicomanies du Canada. Vers une cartographie cérébrale des états de conscience. [Internet]. http://lecerveau.mcgill.ca/flash/i/i_12/i_12_cr/i_12_cr_con/i_12_cr_con.html . Consultée le 18-04-15.

Annexe

Courbes d'étalonnage

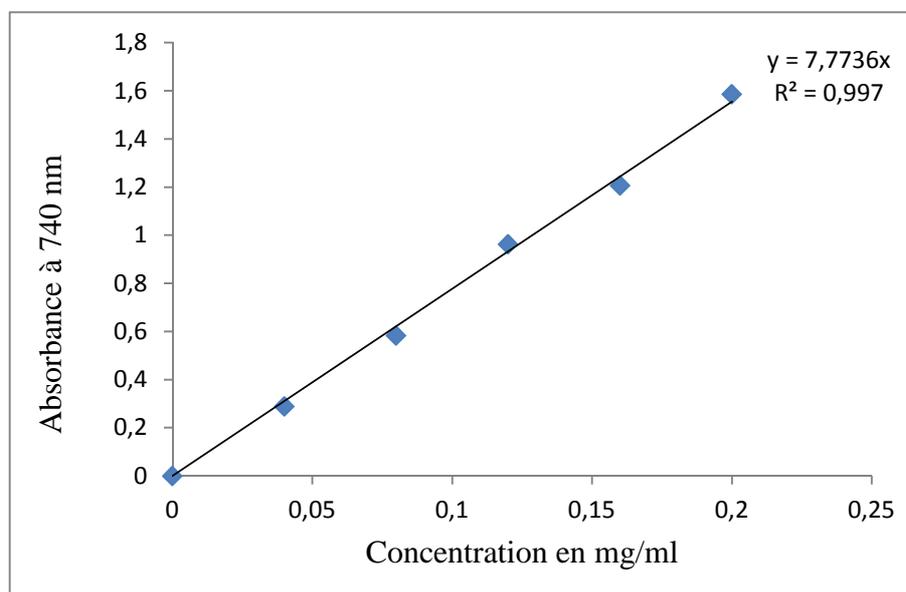


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

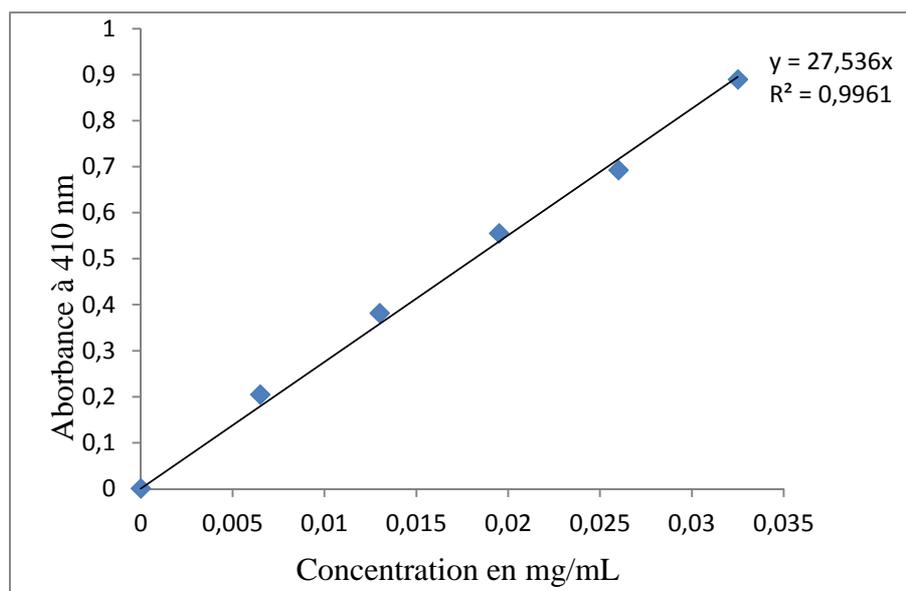


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Résumé

Le but de notre travail est d'étudier in vivo la toxicité aigue et sub aigue, les activités anti-inflammatoire, analgésique centrale et périphérique de l'extrait méthanolique de *M. pubescens*.

L'étude de la toxicité aigue et sub aigue a révélé que l'extrait de *M. pubescens* est pratiquement non toxique, et l'évaluation des différents paramètres toxicologique n'ont indiqués aucun signe de toxicité.

Le test anti-inflammatoire a été réalisé par la méthode de l'œdème à la carragénine, l'analgésie centrale a été réalisée par le test de l'immersion de la queue, et l'analgésie périphérique est réalisée par le test de contorsions à l'acide acétique. L'extrait de *M. pubescens* a démontré des propriétés anti-inflammatoire, analgésique centrale et périphérique remarquables.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, Polyphénols, Toxicité, Anti-inflammatoire, Analgésie.

Abstract

The aim of our work is to study in vivo the toxicity acute and sub-acute, the anti-inflammatory, analgesic central and peripheral activities of the methalnlolic extracts of *M. pubescens*

Acute and sub-acute toxicity study has revealed that the extract of *M. pubescens* is practically no toxic, and the evaluation of different toxicological parameters didn't indicate any signs of toxicity.

Anti-inflammatory testing was performed by the method of edema to carrageenan, central analgesia activities was carried out by the tail immersion test, and peripheral analgesia activities is performed by twisting to the acetic acid test. *M. pubescens* extract has demonstrated remarkable anti-inflammatory, central and peripheral analgesic properties.

Keywords : *Matricaria pubescens*, Polyphenols, Toxicity, Anti-inflammatory, Analgesia.