

N° d'ordre :

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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

Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de l'environnement



## Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

## Doctorat 3ème Cycle

En *Sciences de l'Environnement*

**Option :** Gestion, valorisation des ressources biologiques et développement durable

**Laboratoire :** Eco Développement des Espaces

**Présentée par :** Mr Dellal Abbés

### THÈME

**Contribution à l'étude phytochimique et valorisation  
du genre *Apium* cultivée dans l'ouest Algérien**

**Soutenu le :**

**Devant le jury composé de :**

|   |            |                      |
|---|------------|----------------------|
| <b>Président :</b> Dr Menadi norredine              | MCA        | UDL Sidi Bel Abbés   |
| <b>Examineur :</b> Dr Bensahla Talet Lotfi          | MCA        | Université d'Oron 1  |
| <b>Examineur :</b> Dr Benabderrahmane Mokhtar       | MCA        | UDL Sidi Bel Abbés   |
| <b>Examineur :</b> Dr El abdeli Fatiha              | MCA        | Université de Tiaret |
| <b>Directrice de thèse :</b> Pr Toumi Benali Fawzia | Professeur | UDL Sidi Bel Abbés   |

**Année universitaire : 2018 -2019**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## **Remerciements**

À **Dieu** qui nous a nantis de la formidable faculté de raisonnement et qui nous a donné le courage et la volonté, pour mener à terme ce modeste travail ».

*Al Hamed li **Allah** le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, L'Omniscient Et Le Généreux,*

*Je tiens particulièrement à remercier chaleureusement ma directrice de thèse, madame **TOUMI Benali Fouzia**, Professeur à L'université de Sidi-Bel-Abbès, en tant que responsable de spécialité et encadreur de mon projet de doctorat, qui s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.*

*Nous remercions vivement **Mr. Menadi**. N d'avoir accepté de présider le jury de l'évaluation de ce modeste travail. Notre gratitude va également à **Mr Bensahla L.T** et **Mr Benabderrahmane** et **M<sup>me</sup> El abdeli F** pour avoir accepté de participer à ce jury. Nous tenons à remercier le chef département des sciences de l'environnement de notre faculté **Dr M. A. Bouzidi** pour toutes les facilités dans notre parcours d'apprentissage et de recherche.*

*Nos sincères remerciements vont également à **Mr A. Douaoui** département de pharmacie université de Constantine qui nous a aidé dans l'expérimentation.*

*Nos sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie ; **Mr N. Makhfi**, **Mr Y. Benaissa**, **Mr S. Kouider**, **Mme D. Lalout**, **Melle F. Difallah***

*« Mes remerciements les plus sincères à toutes et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail ».*

**Cordialement**

## Dédicace

*Je rends grâce à **Dieu** le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études.*

*Je dédie cette thèse fruit de mon long chemin d'étude :*

*A mon **père Dellal Mohammed**, qui m'a inculqué une bonne éducation, le chemin de la dignité et la voie de la sagesse.*

*A ma **mère Dellal Fatima Zohra**, qui m'éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue tout au long de mes études.*

*Pour nous voir Qu'est-ce que nous allons devenir.*

*À mes adorables frères : que Dieu les Protège, **Dellal Mokhtar, Dellal Zakaria**, Je souhaite la réussite dans leur vie privée.*

*À mes adorables Sœurs : que Dieu les Protège, **Dellal Amel, Dellal Wahiba et Dellal soumia**.*

*À mes neveux **Mohamed Abdillah** et ma nièce **Nardjis** qui me comblent de bonheur.*

*À toute la famille ; « **Dellal** »*

*A mes collègues : **Mustapha Dif, Saidi Boubaker, Bouazza Soufiane, Abed Tyeb, Belalya Abdelkarim, Mekhfi Nabil, mouleshoul yassine, mai Hichem, guenawi Kheira, Chiheb Mounir, Belyamina Abdelfateh, Adjouj Abdelatif** pour leur soutien durant les moments difficiles de mon travail,*

*Atoute la promotion de Gestion et valorisation des ressources biologiques et développement durable : **Moumene Fayza, Rahmani Hannane, Soltani Amina, Salem Hannane, Debbab Mokhtaria, Benabderrahmen Safia, Mme Rahma**.*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***Dellal Abbés***



## Résumé

Le céleri est une plante bisannuelle de la famille des Apiacées qui occupe une place importante dans la flore algérienne, sa richesse en principes actifs et en substances naturelles lui confère des vertus thérapeutiques, méritant d'être étudiée et valorisée.

Dans le cadre de la valorisation des plantes condimentaires cultivées dans l'ouest algérien, nous avons choisie *Apium graveolens L.*

Le présent travail a pour but d'étudier la composition phytochimique de cette espèce, cultivée dans la région de sidi bel abbés comme étant un condiment et une plante médicinale et d'évaluer quelques activités pharmaco-biologiques de ces composés sur des modèles in vivo et in vitro, notamment l'activité antioxydante, la toxicité, l'activité anti-inflammatoire, l'activité analgésique, l'activité antipyrétique, l'activité cicatrisante ainsi que l'activité antimicrobienne.

Dans ce contexte, notre travail a débuté d'abord, par une enquête ethnobotanique réalisée à l'aide d'un questionnaire, mettant en relief le savoir populaire des différents usages médicaux de cette plante. L'enquête a prouvé d'une part, que le céleri est utilisé comme condiment et comme traitement contre : l'inflammation, les douleurs digestives et le rhumatisme.

Le screening phytochimique a démontré que l'extrait de la plante étudiée est riche en tanins, en flavonoïdes, en saponosides et en terpénoides, et le dosage, par la méthode de spectrophotométrie des composées phénoliques de l'extrait hydroalcoolique, a révélé une teneur très importante en flavonoïdes ( $105,20 \pm 5,17$  mg EC/g d'extrait), en phénols totaux avec une teneur de ( $102,23 \pm 1,36$  mg GAE/g d'extrait) et en tanins, avec une teneur moins remarquable ( $19,77 \pm 1,69$  mg EC/g d'extrait).

Par ailleurs, l'activité antioxydante de l'extrait, par la méthode de DPPH, a montré que l'extrait testé à un potentiel antioxydant très important, avec un  $IC_{50}$  de 1.29 mg/ml.

A l'issue du test de toxicité aigüe par l'administration des doses (500, 1000, 3000, 5000, 10000 mg/Kg P.C.) de l'extrait hydroalcoolique n'induit aucun signe visible de toxicité instantanée chez les souris testées au cours de la période d'observation.

Par contre, pour l'activité anti-inflammatoire, l'extrait étudié a prouvé son effet efficace, et a pu inhiber l'inflammation induite par la caragénine d'une façon significative ( $P \leq 0.05$ ), après deux heures de son administration, et à une dose de 500 mg/Kg PC.

Quant à l'activité analgésique évaluée par la méthode de « stimulus thermique », l'extrait a révélé un effet analgésique central remarquable ; et l'effet analgésique périphérique testée par l'acide acétique et le formaldéhyde selon la méthode de parait satisfaisant.

Alors que l'activité antipyrétique de l'extrait sujet de notre étude, qui a été testée par l'injection de la levure de bière, indique que la température corporelle a été réduite d'une façon significative et d'une manière dose dépendante.

En parallèle, l'huile essentielle extraite des graines de l'*Apium graveolens* a révélé un pouvoir cicatrisant très remarquable par le rétrécissement de la surface de brûlure à 100% après 15 jours de l'application.

Et de même, l'activité anti bactérienne de la même huile, s'avère avoir un pouvoir intéressant avec un diamètre d'inhibition de (18,33±0,57mm) pour *Staphylococcus aureus*, et un effet moins important pour *pseudo et Ecoli*.

La caractérisation de l'huile essentielle des graines de l'espèce étudiée, par la technique de la CG/MS, a été aussi évoquée et a montré la dominance des monoterpènes avec trois molécules majoritaire ( $\beta$ -Pinène, Myrcène et Limonène) avec un pourcentage de 55,1%.

**Mots clé** : *Apium graveolens L*, extrait hydroalcoolique, huiles essentielles, caractérisation, activités biologiques.

## Abstract

Celery is a biennial plant belongs to Apiaceae family it holds an important place in the algerian flora, her wealth of active substances and natural substances confers to him therapeutic virtues, deserving to be studied and valued.

In the framework of a valorization of cultivated condiments plants of Western Algeria, we chose *Apium graveolens L*, commonly called celery.

The aims of our work is to study the phytochemical composition of celery, cultivated in the region of sidi bel abbés as a condiment and a medicinal plant and evaluate some pharmaco-biological activities using in *vitro* and in *vivo* model, in particular antioxidant activity, toxicity, anti-inflammatory activity, analgesic activity, antipyretic activity, healing activity as well as antimicrobial activity.

In this context, our work began with an ethnobotanical survey using a questionnaire, highlighting the popular knowledge of the various medicinal uses of this plant. The investigation has shown that celery is used as a condiment and as a treatment against: inflammation, digestive pain and rheumatism

The phytochemical screening has shown that the extract of the plant studied is rich in tannins, flavonoids, saponosides and terpenoids, and the determination, by the spectrophotometric method of the phenolic compounds of the hydroalcoholic extract, revealed a very high content of flavonoids ( $105.20 \pm 5.17$  mg EC / g extract), total phenols with a content of ( $102.23 \pm 1.36$  mg GAE / g extract) and tannins, with a less remarkable ( $19.77 \pm 1.69$  EC mg / g extract).

Moreover, the antioxidant activity of the extract, by the method of DPPH, showed that the extract tested have a very important antioxidant potential, with an  $IC_{50}$  of 1.29 mg / ml.

At the end of the acute toxicity test by the administration of the doses (500, 1000, 3000, 5000, 10000 mg / kg PC) of the hydroalcoholic extract induces no visible sign of instant toxicity in the mice tested during of the observation period.

On the other side, for the anti-inflammatory activity, the extract studied proved its effective effect, and was able to significantly inhibit caragenin-induced inflammation ( $P \leq 0.05$ ), after two hours of the administration, and at a dose of 500 mg / kg PC.

About the analgesic activity evaluated by the "thermal stimulus" method, the extract revealed a remarkable central analgesic effect; and the peripheral analgesic effect tested by acetic acid and formaldehyde according to the method of seems satisfying.

While, the antipyretic activity of the subject extract from our study, which was tested by the injection of brewer's yeast, indicates that body temperature has been reduced significantly and, in a dose -dependent way.

In the same rang, the essential oil extracted from the seeds of *Apium graveolens L* revealed a very remarkable healing power by the narrowing of the burn surface to 100% after 15 days of application.

And likewise, the anti-bacterial activity of the same oil, proves to have an interesting power with a diameter inhibition ( $18,33 \pm 0,57\text{mm}$ ) for *Staphylococcus aureus*, and a less important effect for *pseudo* and *Ecoli*.

The characterization of the essential oil of the seeds of the studied species, by the technique of the CG / MS, was also evoked and showed the dominance of the monoterpenes with three majority molecules ( $\beta$ -Pinene, Myrcene and Limonene) with a percentage of 55.1%.

**Key words:** *Apium graveolens L*, hydroalcoholic extract, essential oils, characterization, biological activities.

## مُلخَص

تعتبر الكرافس عشبة تنتمي إلى العائلة الخيمية كما انها تحتل مكانة اساسية في الغطاء النباتي الجزائري إضافة الى غناها بالمكونات الطبيعية والعناصر الفعالة والتي تخولها العديد من المزايا العلاجية والتي تدفعنا الى دراستها وتقدير قيمتها.

في إطار تثمين التوابل المزروعة في الغرب الجزائري إختارنا *Apium graveolens L* والمعروفة باللغة العربية كرافس

يهدف هذا البحث إلى دراسة التركيب الكيميائي النباتي لهذا النوع، الذي يزرع في منطقة سيدي بلعباس كنوع من النباتات الطبية والعطرية، وتقييم بعض النشاطات الدوائية البيولوجية لهذه المركبات على نموذج حيواني، على وجه الخصوص. النشاط المضاد للأكسدة، سمية، نشاط مضاد للالتهاب، نشاط مسكن للألم، نشاط خافض للحرارة، نشاط شفاء الحروق بالإضافة إلى نشاط مضاد للميكروبات.

في هذا السياق، بدءنا عملنا إستجواب باستخدام استبيان، سلط الضوء على المعرفة الشعبية لمختلف الاستخدامات الطبية لهذه النبتة. وقد أظهر التحقيق مع السكان المحليين أن الكرفس يستخدم كتوابل وكعلاج ضد: الالتهابات، آلام الجهاز الهضمي والروماتيزم.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي أن المستخلص من النبتة المدروسة غني بالتانينات، الفلافونويد، السابونوزيدات والتيربينويدز، وأن التصميم باستخدام طريقة الطيف الضوئي للمركبات الفينولية للمستخلص الكحولي المائي قد كشف عن محتوى عالي جدا من الفلافونويد ( $5.17 \pm 105.20$  ملغ مستخلص)، الفينول مع محتوى يعادل ( $1.36 \pm 102.23$  مستخلص) والتانينات بكمية أقل ( $1.69 \pm 19.77$  ملغ مستخلص).

في نفس السياق، أظهر نشاط المستخلصات المضادة للأكسدة، بواسطة طريقة 2,2-ثنائي بيكغيل إيدرازيد، أن المستخلص يمتلك امكانية اكسدة جد معتبرة تعادل  $IC_{50} = 1.29$  ملغ/مل.

في ضوء البحث عن السمية عن طريق أخذ جرعات (500، 1000، 3000، 5000، 10000 ملغ/كغ) للم تظهر أي علامة مرئية للسمية الفورية في الفئران التي تم اختبارها خلال فترة المراقبة الحرق إلى 100% بعد 15 يوماً من التطبيق.

من ناحية أخرى، بالنسبة للنشاط المضاد للالتهابات، أثبت المستخلص الذي تم دراسته تأثيره الفعال، وتمكن من تثبيط الالتهاب الناجم عن حقن المفاعل بعد ساعتين من اخذه، وعند جرعة 500 ملغ/كغ اعطى المستخلص نتائج جد اجابية في حين أن النشاط خافض الحرارة للمستخلص المدروس، والذي تم اختباره عن طريق حقن خميرة الجعة، يشير إلى أن درجة حرارة الجسم قد انخفضت بشكل كبير وبطريقة تعتمد على كمية الجرعة.

فبالتوازي مع ذلك، كشف الزيت العطري المستخلص من بالنبتة المدروسة عن قوة شفاء ملحوظة للغاية من خلال تضيق سطح الحرق إلى 100% بعد 15 يوماً من الاستخدام

وبالمثل، فإن النشاط المضاد للبكتريا يثبت أن لديه فعالية مثيرة للاهتمام بقطر تثبيط يوازي ( $0.05 \pm 18,33$  ملم). واطهر التشخيص، بطريقة الكرماتوغرافيا لزيوت الأساسية إحتواءه ثلاث جزيئات أغلبية بنسبة 55.1% (β - بنان، مغسان والليمونين).

**الكلمات المفتاحية:** الزيت العطري، المستخلص الكحولي المائي، دراسة كيميائية نباتية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للالتهابات ونشاط مسكن للألام، نشاط شفاء الحروق، كروماتوغرافيا

# Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

مُلَخَّصٌ

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

## *Chapitre I : Les Plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques*

|  |   |
|--|---|
| I. Les Plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques .....           | 4 |
| 1.1. Histoire des plantes condimentaires .....                               | 4 |
| 1.2. Les plantes condimentaires et leur usage thérapeutiques .....           | 4 |
| 1.3. Quelques exemples des plantes et leurs bienfaits .....                  | 5 |
| 1.4. Quelques notions sur la phytothérapie et l'aromathérapie .....          | 7 |
| 1.5. Les modes de préparations et les formes d'emploi en phytothérapie ..... | 8 |
| 1.6. Les avantages de la phytothérapie .....                                 | 9 |

## *Chapitre II : Etat de connaissance sur *Apium graveolens L**

|   |    |
|---|----|
| II. Etat de connaissance sur l' <i>Apium graveolens</i> .....           | 10 |
| 2.1. Généralités sur les Apiacées et le genre <i>graveolens L</i> ..... | 10 |
| 2.2. Répartition mondiale .....   | 10 |
| 2.3. Aperçue historique sur l'espèce <i>graveolens L</i> .....          | 11 |
| 2.4. Pays d'origine de l'espèce .....                                   | 11 |
| 2.5. Description morphologique de la plante .....                       | 11 |
| 2.6. Classification de l'espèce .....                                   | 12 |
| 2.7. Composition nutritionnelle du céleri .....                         | 12 |
| 2.8. Propriétés thérapeutiques du céleri .....                          | 13 |

## *Chapitre III : Généralités sur les composés phénoliques et les huiles essentielles*

|  |    |
|--|----|
| III. Généralités sur les composés phénoliques et les huiles essentielles ..... | 15 |
| 3.1. Généralités sur les composés phénoliques .....                            | 15 |
| 3.2. Biosynthèse et classification des composés phénoliques .....              | 15 |
| 3.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques .....                     | 16 |
| 3.4. Principales classes des composés phénoliques .....                        | 17 |
| 3.5. Généralités sur les huiles essentielles .....                             | 20 |
| 3.6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles .....                   | 21 |
| 3.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles .....                      | 22 |
| 3.8. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....                | 22 |

|   |    |
|---|----|
| 3.9. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles..... | 23 |
| 3.10. Activités biologiques des huiles essentielles.....  | 24 |

#### **Chapitre IV : Revue bibliographique sur les activités biologiques étudiées**

|   |    |
|---|----|
| IV. Revue bibliographique sur les activités biologiques étudiées..... | 26 |
| 4.1. Activité antioxydante.....                                       | 26 |
| 4.2. Activité anti-inflammatoire.....                                 | 30 |
| 4.3. Activité cicatrisante.....                                       | 34 |
| 4.4. Activité antimicrobienne.....                                    | 37 |

#### **Chapitre V : Matériels et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| V. Matériel et méthodes.....   | 39 |
| 5.1. Présentation de la zone d'étude.....  | 39 |
| 5.2. Matériel végétal utilisée.....  | 41 |
| 5.3. Matériel biologique utilisé.....  | 42 |
| 5.4. Méthodologie retenue.....   | 44 |
| 5.4.1. Etude ethnobotanique.....   | 44 |
| 5.4.2. Etude phytochimique.....  | 47 |
| 5.4.3. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols.....                 | 49 |
| 5.4.4. Dosage des composés phénoliques.....  | 50 |
| 5.4.5. Extraction et dosage des huiles essentielles d' <i>Apium graveolens</i> ..... | 52 |
| 5.4.6. Détermination des différentes activités biologiques.....                      | 55 |
| A) Préparation de l'extrait hydroalcoolique.....                                     | 55 |
| B) Détermination de l'activité antioxydante.....                                     | 55 |
| C) Détermination de la toxicité aiguë.....   | 56 |
| D) Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....                               | 58 |
| E) Détermination de l'activité analgésique centrale et périphérique.....             | 61 |
| E).1. Activité analgésique périphérique.....   | 61 |
| E).2. Activité analgésique centrale.....   | 64 |
| F) Détermination de l'activité antipyrétique.....                                    | 65 |
| G) Détermination de l'activité cicatrisante.....                                     | 67 |
| H) Détermination de l'activité antimicrobienne (Test de sensibilité).....            | 73 |
| I) Analyse statistique.....  | 77 |

#### **Chapitre VI : Résultats et discussion**

|   |    |
|---|----|
| VI. Résultats et Discussion.....  | 78 |
| 6.1. Enquête ethnobotanique.....  | 78 |
| 6.2. Résultats de l'étude phytochimique.....  | 83 |
| 6.2.1. Résultats du screening phytochimique.....  | 83 |
| 6.2.2. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols par la méthode de réponse de surface (RSM)..... | 84 |

|   |            |
|---|------------|
| 6.2.3. Résultats de l'extraction et dosage des composés phénoliques .....                       | 94         |
| 6.2.4. Extraction et dosage des huiles essentielles .....                                       | 95         |
| 6.3. Résultats des activités biologiques .....  | 103        |
| 6.3.1. Résultats de l'activité antioxydante (Piégeage du radical libre DPPH).....               | 103        |
| 6.3.2. Résultats de test de toxicité aigue.....   | 103        |
| 6.3.3. Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo .....                                 | 104        |
| 6.3.4. Etude de l'activité analgésique périphérique et centrale .....                           | 109        |
| 6.3.5. Activité antipyrétique .....   | 117        |
| 6.3.6. Activité cicatrisante .....  | 120        |
| 6.3.7. Etude du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'extrait hydroalcoolique ..... | 131        |
| <b>Conclusion.....</b>  | <b>137</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>   | <b>140</b> |
| <b>Annexes.....</b>   | <b>161</b> |
| <b>Annexe A</b> : Les courbes étalonnage  |            |
| <b>Annexe B</b> : Activité antiinflammatoire  |            |
| <b>Annexe C</b> : Activité Analgésique  |            |
| <b>Annexe D</b> : Activité Antipyrétique  |            |
| <b>Annexe E</b> : Activité Cicatrisante   |            |
| <b>Annexe F</b> : Activité antibactérienne  |            |



## Liste des abréviations

**APG** : Angiospérme Phylogénétique Groupe.  
**LDL**: Low Density Lipoprotein.  
**HDL**: High Density lipoprotein.  
**VLDL**: Very Low-Density Lipoprotein.  
**M** : Mètre.  
**Cm** : Centimètre.  
**Mm** : Millimètre.  
**µm** : micromètre.  
**Gr** : Gramme.  
**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie.  
**Ir** : Indices de rétention.  
**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.  
**SM** : Spectrométrie de Masse.  
**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.  
**CC** : Chromatographie liquide sur Colonne ouverte.  
**CGP** : Chromatographie en phase gazeuse préparative.  
**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance.  
**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.  
**O<sub>2</sub>** : Oxygène.  
**D.S.A** : Direction des Services Agricoles.  
**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène.  
**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>**: Anion superoxide.  
**OH<sup>•</sup>**: Radical Hydroxyl.  
**ROO<sup>•</sup>**: Radical Peroxyle.  
**RO<sup>•</sup>**: Radical Alkoxy.  
**ONOO<sup>-</sup>** : nitroperoxyde.  
**GPx** : Catalase et la Glutathion Peroxydase.  
**SOD** : Superoxyde Dismutase.  
**ORAC** : Capacité Absorbance du Radical de l'Oxygène.  
**FRAP** : Capacités Réductrices Ferriques d'Antioxydants.  
**TRAP** : Paramètre du piégeage du radical total.  
**PAMP** : Pathogène Associated Moléculaire Patterns.  
**PRR** : Pattern Recognition Récepteurs.  
**PNNs** : Polynucléaires Neutrophiles.  
**ITCMI** : Institut Technique des Cultures Maraichères.  
**PT** : Phénols Totaux.  
**FLV** : Flavonoïdes.  
**TC** : Tanins Condensés.  
**HE** : Huile Essentielle.  
**IP** : Intrapéritonéale.  
**µL** : Microlitre.  
**LAL** : Le test du Lysat d'Amœbocytes de Limule.  
**IP** : Indice d'irritation Primaire.  
**PAM** : Les Plantes Aromatiques et Médicinales.  
**RSM** : Méthode de Repense de Surface.

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| Figure 1 : Représentation schématique de structure de la peau (Tran, 2009) .....  | 35 |
| Figure 02 : Présentation de la wilaya de Sidi Bel Abbès (D.S.A) .....   | 40 |
| Figure 03 : Localisation de l'ITCIM de Sidi Bel Abbès (Google Earth, 2016).....   | 41 |
| Figure 04 : Parcelles réservées à la culture du céleri (Cliché Dellal, 2017) .....  | 42 |
| Figure 05 : Les étapes d'élevage des rats au niveau de l'animalerie (cliché Dellal, 2016) .....   | 43 |
| Figure 06 : Fiche de questionnaire utilisée pour l'enquête ethnobotanique.....  | 46 |
| Figure 07 : Différents extraits obtenus selon les conditions choisies (cliché Dellal, 2016) .....   | 50 |
| Figure 08 : Différents extraits obtenus selon les conditions choisies (cliché Dellal, 2016) .....   | 52 |
| Figure 09 : Lots des souris destinés pour le test de toxicité de l'espèce (cliché Dellal, 2016) .....   | 57 |
| Figure 10 : Injection de carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat .....  | 59 |
| Figure 11 : Gavage de l'extrait végétale à l'aide d'une sonde à gavage (Cliché Dellal, 2016) .....  | 60 |
| Figure 12 : Evaluation de l'œdème à l'aide d'un pied à coulisse digital (Cliché Dellal, 2016) .....   | 61 |
| Figure 13 : constriction abdominale induite par l'injection de l'acide acétique 0,6% (Cliché Dellal, 2017).....   | 63 |
| Figure 14 : Prise de température rectale par un Thermomètre médicale (Cliché Dellal, 2017).....   | 66 |
| Figure 15 : Mise au point de l'opération d'anesthésie (Cliché Dellal, 2017). .....  | 69 |
| Figure 16 : Épilation des animaux après injection d'anesthésie (Cliché Dellal, 2017). .....   | 70 |
| Figure 17 : Brûlure au niveau du flanc de l'animal (Cliché Dellal, 2017). .....   | 71 |
| Figure 18 : Application des produits testés après brûlure (Cliché Dellal, 2017).....  | 71 |
| Figure 19 : La fixation avec des bandes adhésives (Cliché Dellal, 2017) .....   | 72 |
| Figure 20 : Les rats logés dans des cages après application des traitements (Cliché Dellal, 2017). .....  | 72 |
| Figure 21 : Inoculumensemencé dans des boîtes de Pétri coulées des géloses de Mueller Hinton (Cliché Dellal, 2017)...                                       | 75 |
| Figure 22 : Incubation des boîtes de Pétri (Cliché Dellal, 2017).....   | 75 |
| Figure 23 : Répartition des utilisateurs selon le sexe.....   | 78 |
| Figure 24 : Répartition des utilisateurs selon la situation familiale .....   | 78 |
| Figure 25 : Répartition de la population étudiée selon les tranches d'âge .....   | 79 |
| Figure 26 : Répartition de la population étudiée selon le niveau d'étude.....   | 80 |
| Figure 27 : Les parties de la plante utilisées .....  | 80 |
| Figure 28 : Différents modes de préparation préconisés .....  | 81 |
| Figure 29 : Différentes doses adoptées .....  | 81 |
| Figure 30 : Origine des informations sur les pratiques médicinales du céleri .....  | 82 |
| Figure 31 : Maladies traitées par le céleri selon les enquêtées .....   | 82 |
| Figure 32 : Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des phénols totaux..... | 85 |
| Figure 33 : Diagramme de Pareto des phénols totaux selon les trois prédictors (temps, durée et concentration du solvant).....                               | 86 |
| Figure 34 : Surfaces de réponses selon les trois prédictors des phénols totaux (temps, durée et concentration du solvant).....                              | 87 |
| Figure 35 : Diagramme de Pareto des flavonoïdes selon les trois prédictors (temps, durée et concentration du solvant).....                                  | 88 |

|   |     |
|---|-----|
| Figure 36 : Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des flavonoïdes.....              | 89  |
| Figure 37 : Surfaces de réponses selon les trois prédictors des flavonoïdes (temps, durée et concentration du solvant).....   | 90  |
| Figure 38 : Diagramme de Pareto des tanins selon les trois prédictors (temps, durée et concentration du solvant.....  | 91  |
| Figure 39 : Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des tanins.....                   | 92  |
| Figure 40 : Surfaces de réponses selon les trois prédictors des tanins (temps, durée et concentration du solvant).....  | 93  |
| Figure 41 : Teneurs en polyphénols de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d' <i>Apium graveolens</i> .....   | 95  |
| Figure 42: Photo d'huile essentielle des graines d' <i>Apium graveolens</i> (Cliché Dellal, 2017).....  | 96  |
| Figure 43 : Spectre GC/MS de l'huile essentielle d' <i>Apium graveolens</i> .....   | 97  |
| Figure 43 a : Spectre de composé majoritaire BETA-SELINENE.....   | 100 |
| Figure 43 b : Spectre de composé majoritaire ALPHA-SELINENE.....  | 100 |
| Figure 43 c : Spectre de composé majoritaire 3-BUTYL-PHTHALIDE.....   | 101 |
| Figure 43 d : Spectre de composé majoritaire LIMONENE.....  | 101 |
| Figure 44 : Les spectres GC/MS et les structures chimiques des cinq composés majoritaires d'huile essentielle d' <i>Apium graveolens</i> .....                        | 102 |
| Figure 45 : Courbe de l'activité antioxydante par la méthode (DPPH).....  | 103 |
| Figure 46 : Augmentation de volume de pied des rats au cours de six heures (Cliché Dellal, 2017).....   | 105 |
| Figure 47 : Evolution de l'inflammation (œdème plantaire) en fonction du temps pour les différents groupes.....   | 106 |
| Figure 48 : Evolution du taux d'inhibition e l'inflammation en fonction du temps pour les différents groupes.....   | 106 |
| Figure 49 : Effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d' <i>Apium graveolens</i> par l'injection de l'acide acétique.....                           | 110 |
| Figure 50 : Résultats de l'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d' <i>Apium graveolens</i> par l'injection de formaldéhyde.....                | 114 |
| Figure 51 : Effet analgésique centrale de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d' <i>Apium graveolens</i> , du témoin et de tramadol par le test de Tail-Flick..... | 117 |
| Figure 52 : Evolution de température rectale des souris avant et après injection de levure de bière.....  | 119 |
| Figure 53 : Photo de l'apparition Œdème et Érythème chez les rats après 24 h et 72 heures (Cliché Dellal, 2017).....  | 121 |
| Figure 54 : Evolution du poids corporel (gr) pendant la période de cicatrisation selon les différents types du traitement et en fonction du temps.....                | 122 |
| Figure 55 : Evolution de la température corporelle chez les rats traités et non traités en fonction du temps.....   | 124 |
| Figure 56 : Evolution de processus cicatriciel des différents traitements en fonction du temps.....   | 127 |



## Liste des tableaux

|  |     |
|--|-----|
| Tableau 1 : Répartition mondiale des différents genres de la famille des Apiacées .....  | 10  |
| Tableau 02 : La valeur nutritive des différentes parties de la plante de céleri .....  | 13  |
| Tableau 03 : Structure des squelettes des polyphénols.....   | 17  |
| Tableau 04 : Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire.....   | 33  |
| Tableau 05 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués .....  | 34  |
| Tableau 06 : Liste des antibiotiques commercialisés utilisés.....  | 77  |
| Tableau 07 : Résultats du test de screening de l'extrait hydroalcoolique et aqueux.....  | 83  |
| Tableau 08 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Apium graveolens L.</i> .....   | 98  |
| Tableau 09 : Effet de l'extrait hydroalcoolique de l' <i>Apium graveolens L</i> et l'indométacine sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat..... | 104 |
| Tableau 10 : Résultats de test de koster effet analgésique de paracétamol et de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Apium graveolens</i> .....                                 | 109 |
| Tableau 11 : Résultats du test au formaldéhyde (temps de léchage des pieds des souris compté après l'injection du formaldéhyde). .....                                     | 112 |
| Tableau 12 : Résultats du test de Tail-Flick (temps moyen de réflexe de retraitement de la queue chez les souris prétraitées par l'extrait hydroalcoolique).....           | 114 |
| Tableau 13 : Variation de la température corporelle chez les souris après injection sous-cutané de la levure de bière en fonction du temps.....                            | 117 |
| Tableau 14 : L'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'extrait hydroalcoolique.....  | 120 |
| Tableau 15 : L'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'huile essentielle.....  | 120 |
| Tableau 16 : Evolution du poids pondéral (gr) pendant la période de cicatrisation selon les différents types du traitement.....  | 121 |
| Tableau 17 : Evolution de la température corporelle (C°) pendant la période de cicatrisation selon les différents traitements.....   | 123 |
| Tableau 18 : Surface moyenne (cm <sup>2</sup> ) et % de rétrécissement de la surface initiale de la brûlure dans le temps.....   | 125 |
| Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'antibiogramme et sensibilités des souches microbiennes.....   | 131 |
| Tableau 20 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Apium graveolens L.</i> .....   | 132 |
| Tableau 21 : Activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique.....  | 132 |
| Tableau 22 : Diamètre d'inhibition des différentes souches étudiés.....  | 133 |
| Tableau 23 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme.....  | 134 |

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

Les plantes condimentaires et aromatiques sont parmi les plantes médicinales les plus utilisées dans le monde, pour des fins thérapeutiques et pour aromatiser les plats. Ces espèces contiennent diverses substances actives, à partir desquelles on extrait plusieurs essences utilisées, en médecine traditionnelle, dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et en technologie alimentaire (**Hmamouchi, 1997**).

Les plantes condimentaires sont très utilisées dans la médecine traditionnelle, non seulement en termes de nombre d'espèces, mais aussi de point de vue utilisation de chaque espèce. Chacune est employée pour le traitement d'une large gamme de maladies. Cela est dû à leur richesse et à l'intensité de leurs arômes (**Gallouin et al., 2003**).

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques, de leurs huiles essentielles et de leurs extraits bruts, dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire, comme additifs et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et gel dermique. Leur utilisation s'appelle "l'aromathérapie", qui consiste à utiliser les huiles essentielles pour le traitement de diverses manifestations pathologiques. (**Yahyaoui, 2005**).

En plus l'étude de la chimie des plantes est le sujet d'actualité car le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives. Parmi ces composés on trouve : les flavonoïdes, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les lignanes, les terpénoïdes, les stilbènes et les saponosides.

Actuellement, le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi, les huiles essentielles ont beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999**). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme

---

alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Chalchat et al., 1997**), et pour la protection des aliments contre l'oxydation.

La sélection des plantes est basée sur plusieurs critères, notamment, le choix des plantes aromatiques, leur utilisation fréquente par nos populations dans la médecine traditionnelle, l'utilisation des huiles essentielles dans les industries alimentaires, l'exploitation de leurs produits dans l'industrie pharmaceutique, leur efficacité dans le traitement de plusieurs pathologies comme le diabète, l'inflammation et les troubles de l'estomac et aussi dans les recherches scientifiques (**Bruneton, 1999**).

L'Algérie est un pays dont la flore condimentaire cultivée et sauvage est très diversifiée et largement utilisée en alimentation et en médecine traditionnelle. Depuis quelques années plusieurs groupes de recherche dans notre pays s'intéressent à la caractérisation chimique et aux activités biologiques de cette biomasse florale.

Dans la continuité de ces travaux, nous avons choisi comme plantes condimentaire le céleri "*Apium graveolens L*" cultivée dans l'Ouest Algérien, et utilisée en permanence par la population locale.

L'objectif de notre travail consiste à prouver le savoir populaire et vise à démontrer la richesse de céleri (*Apium graveolens L*) en composés bioactifs et déterminer leurs propriétés biologiques. Dans ce contexte nous avons divisé notre travail en deux grandes parties

La première partie est une revue bibliographique subdivisé en quatre chapitres :

- Nous abordons dans le premier les plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques.
- Dans le deuxième nous présentons des généralités sur les Apiacées et un état de connaissance sur l'*Apium graveolens L*.
- Le troisième chapitre est consacré aux notions et généralités sur les composées phénoliques et les huiles essentielles.
- Un aperçue sur les activités biologiques étudiées est provoqué au quatrième chapitre

La seconde partie renferme différents volets

I. Un volet sur la méthodologie adoptée et le matériels utilisées, subdivisé en différentes études :

1. Etude ethnobotanique.
2. Etude et criblage phytochimique.
3. Extraction et dosage des composées bioactifs.
4. Caractérisation des composés volatils par des techniques d'analyse poussé.

5. Etude des activités biologiques divers in *vitro* et in *vivo*.

II. Le deuxième volet dans cette étude est consacré aux résultats et discussion.

Et enfin, une conclusion générale puis la liste de toutes, les références bibliographiques utilisées pour élaborer ce modeste manuscrit.



---

# **Revue bibliographique**

---

---

---

**Chapitre I : Les plantes condimentaires et leurs usages  
thérapeutiques**

---

---

## **I. Les Plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques**

### **1.1. Histoire des plantes condimentaires**

Les plantes condimentaires et les plantes à épices, étaient déjà utilisées, en Chine, plusieurs millénaires avant Jésus-Christ, pour leurs vertus médicinales et culinaires.

Des témoignages, gravés sur des tablettes d'argile sumériennes, nous indiquent que les habitants de la Mésopotamie connaissaient déjà quelque condiments et épices, comme le cumin, le fenouil, le safran et le thym. En Egypte, à l'époque des pharaons, le manuscrit Ebers nous renseigne sur l'utilisation des épices dans le traitement des maladies. Les plantes condimentaires et aromatiques, par leurs molécules à propriétés antiseptiques, étaient utilisées avec le sel pour l'embaumement des morts, mais, elles servaient aussi à des préparations culinaires. Les Grecs et les Romains en faisaient un usage quotidien. Apicius né vers (25 av. J-C) nous a laissé un ouvrage de gastronomie, les dix livres de la cuisine, dans lequel des préparations culinaires, assez insolites pour nos plats actuels, font appel au poivre, au thym, à l'aneth et à la coriandre (**Gallouin et al., 2003**).

Cependant les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**), dont les plantes condimentaires en font partie. D'ailleurs, elles sont utilisées par l'homme depuis près de 7 000 ans par différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées telles que les racines, les feuilles et les fleurs (**Dutertre, 2011**).

### **1.2. Les plantes condimentaires et leur usage thérapeutiques**

On estime environ, 20000 espèces végétales utilisées dans le monde pour des fins alimentaires, cosmétiques, chimiques, thérapeutiques et agro- alimentaires. Il est important de différencier l'usage des plantes qu'elles soient spontanées ou cultivées et on peut distinguer en particulier selon **Hmamouchi, 1997**,

- Les plantes condimentaires (Céleri, persil, cerfeuil, ciboulette, ail ... ) ;
- Les plantes à boisson (fenouil, anis vert, camomille ... ) ;
- Les plantes à parfum (lavande, jasmin, basilic, thym, romarin ... ) ;
- Les épices ; (cannelle, gingembre ... ) ;
- Les plantes médicinales à grandes cultures (fenugrec, aneth, orge ... ) ;
- Les plantes à tisanes (menthe, mélisse).

Les plantes condimentaires et aromatiques sont les plus utilisées dans le monde pour aromatiser les plats et pour des fins thérapeutiques. Ces espèces contiennent diverses substances actives, à partir desquelles on extrait plusieurs essences utilisées non seulement en

médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique ou en technologie alimentaire (Hmamouchi, 1997).

### **1.3. Quelques exemples des plantes et leurs bienfaits**

Les plantes condimentaires sont très prisées par la médecine traditionnelle, non seulement en termes de nombre d'espèces, mais aussi de point de vue utilisation de chaque espèce. Chacune est employée pour le traitement d'une large gamme de maladies. Cela est dû sans doute à leur richesse et à l'intensité de leurs arômes. L'activité médicale des constituants de ces plantes ne s'arrête pas à l'usage traditionnel, celles-ci ont tellement de vertus thérapeutiques scientifiquement prouvées, qu'on en a fait une branche à part dans la phytothérapie moderne. C'est la discipline de l'aromathérapie, qui est une thérapie se basant sur l'utilisation des essences de plantes, leurs huiles essentielles et leurs substances aromatiques (Gallouin et al., 2003). Nous citons à titre d'exemple :

**a) La menthe (*Mentha spicata* L) :** La menthe est une plante bien connue sous nos latitudes où elle parfume les salades et les plats. C'est une plante rampante à tiges quadrangulaires ascendantes pouvant atteindre 1,20 m de haut, qui portent des feuilles rondes à allongées, généralement d'une belle couleur verte, souvent ridées, parfois duveteuses, des quelles se dégage une forte odeur de "menthe" facilement reconnaissable. Les fleurs, qui poussent en grappes à l'aisselle des feuilles sont de couleur rose (Franchomme et al., 2001 ; Iserin, 2001).

➤ **Propriétés médicinales :**

On utilise principalement les feuilles de la menthe et l'essence obtenue par distillation à la vapeur des feuilles et sommités fleuries. En usage interne, la menthe s'utilise contre l'atonie digestive, l'indigestion, la fatigue générale, les gastralgies, les spasmes gastriques et coliques, les diarrhées, le choléra, les parasites intestinaux, les intoxications gastro-intestinales, les affections hépatiques et les vomissements nerveux. On l'utilise aussi contre les palpitations et vertiges, les migraines, les tremblements, les règles insuffisantes ou douloureuses, la bronchite chronique, et la tuberculose. En usage externe, la menthe s'utilise contre la gale, l'asthme, la bronchite, la sinusite, les migraines, les névralgies dentaires, et les moustiques (Morigane, 2002 ; Iserin, 2001).

**b) Le Gingembre (*Zingiber officinalis*) :** Le gingembre est originaire d'Inde, de Chine et de l'Ile de Java, mais il est aussi cultivé dans d'autres pays tels les Philippines et Tahiti. Ses tiges érigées portent deux rangées de feuilles lancéolées et des épis de fleurs blanches, et peuvent atteindre 50 cm à 1m de haut. Le Gingembre est estimé depuis l'Antiquité jusqu'au

Moyen Âge aussi bien en tant qu'épice qu'en tant que drogue. La racine seule est aromatique (Franchomme et al., 2001 ; Morigane, 2002).

➤ **Propriétés médicinales** : On utilise surtout la racine, brute ou sous forme d'essence. En usage interne, le gingembre est utilisé pour soigner les digestions difficiles, ou les diarrhées. On l'utilise aussi pour prévenir les maladies contagieuses, combattre l'impuissance et stimule la sécrétion thyroïdienne ainsi que celle des hormones masculines. En usage externe, le gingembre est utilisé pour traiter les douleurs rhumatismales et l'angine (Morigane, 2002).

c) **Le Romarin (*Rosmarinus officinalis L*)** : Le romarin est un condiment aromatique bien connu dans nos cuisines. C'est un arbuste dense, pouvant atteindre 2 m de haut, à feuilles résineuses en forme d'aiguille. Ses branches se couvrent au printemps de délicates fleurs bleues, riches en pollens, et appréciées des abeilles (Iserin, 2001).

➤ **Propriétés médicinales** : On utilise principalement les feuilles, les fleurs, et l'huile essentielle. En usage interne, le romarin est utilisé pour soigner l'asthénie, le surmenage physique et intellectuel, l'hypotension, l'asthme, les bronchites chroniques et la grippe. On l'utilise aussi pour traiter les infections intestinales, les colites, les diarrhées, l'hépatisme, les douleurs gastriques. Enfin on l'utilise aussi contre les rhumatismes, la goutte, les migraines, les affections du système nerveux (hystérie, épilepsie, séquelles de paralysies, faiblesse des membres), les troubles cardiaques nerveux et les vertiges. En usage externe, le romarin est utilisé pour soigner les plaies, les brûlures, les rhumatismes, les douleurs musculaires, les pertes blanches, la pédiculose, la gale, la fatigue générale, la débilité des enfants, et la faiblesse de la vue (Morigane, 2002).

d) **Le Basilic (*Ocimum Basilicum L*)** : Le Basilic est une plante annuelle ou vivace éphémère pouvant atteindre 60 cm de haut, dont les tiges quadrangulaires portent des feuilles dentées, au parfum fort et frais, puis des petites fleurs blanches à la fin de l'été (Iserin, 2001 ; Gardet, 2006).

➤ **Propriétés médicinales** : On utilise principalement les sommités fleuries et surtout l'essence obtenue par distillation à la vapeur des feuilles. En usage interne, le Basilic est utilisé dans le traitement de l'asthénie nerveuse (surmenage intellectuel), des angoisses, de l'insomnie nerveuse, des spasmes gastriques, des infections intestinales, des vertiges, et de la coqueluche. Il sert aussi pour lutter contre les migraines, l'épilepsie, la paralysie, la goutte et les règles insuffisantes. En usage externe, le Basilic sert à traiter la perte d'odorat (principalement celui provoqué par le coryza chronique). Pour cela, l'utilisation des feuilles sèches pulvérisées, ou l'essence de Basilic inhalées sont donc recommandées. L'essence ou

les feuilles froissées peuvent aussi être utilisées pour traiter les piqûres de guêpe, et comme traitement d'appoint des piqûres de serpents (Iserin, 2001 ; Morigane, 2002).

#### **1.4. Quelques notions sur la phytothérapie et l'aromathérapie**

Étymologiquement, du grec « *phyton* » qui signifie plante et « *therapein* » qui signifie soigner, la phytothérapie est l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques c'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl, 2003). Ayant conjointement évoluée avec le développement scientifique et industriel, la phytothérapie revêt désormais des pratiques variées. La littérature scientifique, de même que la législation des médicaments à base de plantes distinguent, sans systématiquement les opposer, l'approche traditionnelle et l'approche scientifique de la phytothérapie.

❖ **La phytothérapie traditionnelle** : Les plantes médicinales représentent depuis des siècles le plus important réservoir thérapeutique. En l'absence d'outils scientifiques, un ensemble de connaissances s'est constitué par l'observation et par l'expérience. Certaines propriétés des plantes médicinales ont pu être mises en avant dans le cadre d'une démarche globale. En effet, les principes actifs n'ont été isolés qu'au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, alors que jusqu'à cette date, les plantes ou des parties de plantes étaient utilisées telles quelles, subissant de moindres transformations (macérations, infusions, alcoolats...). De même, l'observation de l'éventuelle activité d'une plante sur l'organisme ne pouvait être révélée que par la modification de la symptomatologie du patient (Carillon, 2009).

❖ **La Phytothérapie moderne** : Avec l'avènement de la chimie moderne, l'étude des plantes médicinales a permis de déterminer les mécanismes d'action régissant les propriétés thérapeutiques concédées par l'usage traditionnel, et a également ouvert la voie à l'utilisation des produits d'extraction. Ces derniers révélant une activité à la fois plus importante et reproductible, là où les plantes médicinales avaient pu présenter de plus grandes variabilités d'efficacité qualitativement et quantitativement (Carillon, 2009). A cet effet, nous citons :

❖ **L'aromathérapie** : C'est une thérapeutique utilisant les huiles essentielles et ce qu'on n'appelle hydrolats aromatiques extraits de plantes aromatiques. Elle fait partie des médecines naturelles, c'est une niche de la phytothérapie. Comme en phytothérapie, on distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les causes d'une maladie. Selon Valnet, père de l'aromathérapie, « l'huile essentielle est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés ».

❖ **Gemmothérapie** : Elle se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les racines.

❖ **Homéopathie** : Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

❖ **Herboristerie** : Elle correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.

Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule, de poudre, de plante sèche que le sujet avale.

❖ **Phytothérapie pharmaceutique** : Thérapie se servant ou utilisant des produits d'origine végétale obtenus par extraction et dilués dans un solvant généralement de l'alcool éthylique. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (Zeghad,2009).

### **1.5. Les modes de préparations et les formes d'emploi en phytothérapie**

a) **Les modes de préparation** : les drogues végétales en solution sont généralement préparées selon les modes ci-contre :

❖ **Infusion** : Une infusion se fait essentiellement avec les fleurs ou les feuilles des plantes, en versant de l'eau bouillante sur ces organes et en laissant infuser entre 10 et 20 minutes (Nogaret, 2003).

❖ **Décoction** : Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines des plantes et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion. Elle consiste à extraire ces composés en les laissant infuser dans l'eau qu'on porte à ébullition, en laissant refroidir et en filtrant la solution (Nogaret, 2003).

❖ **Macération** : On obtient une macération, en laissant une plante dans un solvant (eau, alcool ou huile) à froid pendant un temps assez long (de quelques heures à plusieurs jours, voire plusieurs semaines). La macération doit se faire dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière. Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un papier filtre, ou du coton hydrophile, et de stocker la macérât obtenue dans un récipient bien bouché (Morigane, 2002 ; Abayomi, 2010).

b) **Les formes d'emploi** : plusieurs formes d'utilisation sont préconisées en phytothérapie nous allons citer les plus recommandées :

❖ **Tisane** : C'est une préparation aqueuse buvable, obtenue à partir d'une ou plusieurs drogues végétales. Les tisanes sont obtenues par macération, infusion ou décoction en utilisant de l'eau (**Delille, 2007**).

❖ **Poudre** : Les plantes préparées sous forme de poudre obtenue par broyage, dans un mortier ou dans un moulin, peuvent s'utiliser pour un soin interne ou externe (**Delille, 2007**).

❖ **Lotion** : La lotion est définie comme étant un liquide obtenu par infusion ou décoction de plante émolliente ou vulnérable, utilisée sur la partie à soigner par un léger passage à l'aide d'un coton hydrophile ou linge fin imbibé.

❖ **Pommade** : La pommade est préparée à l'aide d'un mélange de plante choisie, sous forme de poudre ou suc, avec une substance grasse comme la vaseline, huile de coco, huile d'olive, huile d'amande ou même des graisses animales.

❖ **Sirop** : Dissolution de 180 gr de sucre dans 100gr d'eau à laquelle est incorporé le principe thérapeutique voulu (**Delille, 2007**).

❖ **Fumigation** : La fumigation est excellente pour soigner les affections des voies respiratoires et la zone ORL, elle se fait par le brulage des plantes dans une atmosphère d'une pièce fermée, en vue d'y purifier et d'y détruire les organismes vivants dits nuisibles (**Delille, 2007**).

Par ailleurs, l'inhalation est une autre forme efficace contre les affections respiratoires ; il s'agit de plonger l'herbe dans l'eau bouillante, son utilisation nécessite le recouvrement de la tête, les épaules et récipient avec une même serviette pour mieux concentrer la vapeur. La vapeur est inspirée puis expirée profondément, pendant 15 minutes. (**Delille, 2007**).

### **1.6. Les avantages de la phytothérapie**

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin et al., 2001**).



---

---

**Chapitre II : Etat de connaissance sur *Apium Graveolens***

*L*

---

---

## II. Etat de connaissance sur l'*Apium graveolens*

### 2.1. Généralités sur les Apiacées et le genre *graveolens L*

Lors de l'apparition de l'homme, les Ombellifères (Apiaceae) sont déjà bien diversifiées et vraisemblablement très nombreuses. Alimentaires ou toxiques, elles ne manquent pas de se faire remarquer puis utiliser dès les premiers âges. Elles figurent en effet parmi les premiers écrits de l'humanité. Lorsque le fameux manuscrit du linéaire B fut déchiffré en 1952 par Michael Ventris et John Chadwick, les chercheurs ont dû se rendre à l'évidence qu'il s'agissait d'un inventaire. Parmi les produits végétaux de cet antique dénombrement, trois Ombellifères puissamment aromatiques étaient citées : la coriandre (*Coriandrum sativum L.*), le cumin (*Cuminum cyminum L.*) et le fenouil (*Foeniculum vulgare Miller*) (Ventris, 1973).

Dans la flore pharaonique de Loreten 1892, différents restes végétaux provenant des tombes égyptiennes ont été identifiés. Ainsi le céleri (*Apium graveolens L.*) a été retrouvé sous forme d'un collier constitué avec ses rameaux et des pétales de lotus bleu et une buplèvre (*Bupleurum*) dans une brique funéraire. L'aneth (*Anethum graveolens L.*) était utilisé pour ses vertus médicinales. On y a également retrouvé les trois Ombellifères citées dans le linéaire B (coriandre, fenouil, cumin).

D'autres civilisations connaissaient et employaient également les Ombellifères. Ainsi les ouvrages médicaux chinois du 2<sup>ème</sup> et du 3<sup>ème</sup> siècle avant J.-C. font état de neuf Ombellifères au moins. Quelques noms sanscrits désignent des Ombellifères et, avant l'arrivée des conquistadors au Mexique, les Indiens avaient déjà établi des classifications botaniques utilitaires comprenant également des ombellifères.

### 2.2. Répartition mondiale

Les genres de la famille apiacée se répartissent entre les continents, avec une prédominance pour le continent asiatique selon (Chihiro, 1987) voir (Tableau1).

**Tableau 1 : Répartition mondiale des différents genres de la famille des Apiacées**

| Continents | Genres | Endémiques |
|------------|--------|------------|
| Afrique    | 126    | 50         |
| Amérique   | 197    | 52         |
| Asie       | 265    | 159        |
| Australie  | 36     | 11         |
| Europe     | 139    | 29         |

Selon (Cai, 2000) la famille des Apiacées occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces.

### 2.3. Aperçu historique sur l'espèce *graveolens L*

*Apium graveolens L*, appelée communément « céleri » en arabe, Kraffes, cette espèce apparue seulement en 1651, dérive du lombard *seleri*, issu du latin *selenon*. Ce nom rappelle que la plante était censée être sous l'influence de la lune (sélé), possiblement en référence aux propriétés aphrodisiaques qu'on lui attribuait. Le terme « céleri » a définitivement remplacé « ache » dans la langue courante, bien que ce dernier soit encore employé à l'occasion en herboristerie et en botanique. Le céleri serait originaire du bassin méditerranéen, plus précisément des marécages salins qui bordent la Méditerranée. Si l'on en croit l'Odyssée d'Homère, écrite 850 ans avant notre ère, le céleri était connu des Grecs de l'Antiquité (Dulce, 2000).

Toutefois, on le désignait alors sous le nom de *selonon*. Comme ce nom était également attribué à d'autres plantes, on ne peut affirmer avec certitude que c'est bien du céleri dont faisait mention Homère dans ses écrits. Pendant des siècles, même des millénaires, la plante se présente sous la forme d'un bouquet aux tiges peu développées et fibreuses. Rappelant plutôt le persil, elle servait d'aromate, vu sa saveur prononcée. La plante que l'on connaît aujourd'hui, avec ses grosses côtes gorgées d'eau, ne sera sélectionnée qu'au XVII<sup>e</sup> siècle, probablement en Italie, et ne se répandra dans le reste de l'Europe qu'un siècle ou deux plus tard. On ne sait pas quand exactement le céleri a été introduit en Amérique du Nord. Tout ce qu'on sait, c'est qu'en 1806, on en cultivait quatre variétés (Dulce, 2000).

### 2.4. Pays d'origine de l'espèce

La forme sauvage a vraisemblablement donné lieu à des cultures pratiquées au départ en Egypte. Elle est actuellement répandue dans les régions humides aux sols riches, argileux et salés (dans les marais salins, sur le littoral, près de certaines sources salines), elle est présente dans toute l'Europe, de l'Asie occidentale à l'est de l'Inde, du nord au sud de l'Afrique tout comme en Amérique du Sud et du Nord. Par contre, les différentes variétés sont connues qu'en culture (Eberhard, 2005).

### 2.5. Description morphologique de la plante

La plante bisannuelle forme une rosette de feuilles basales la première année et ne fleurit que la seconde année ; elle peut atteindre jusqu'à 1m de hauteur.

- **Les feuilles :** Elles sont de couleur vert foncé et brillante ; elles sont longuement pétiolées, pennatiséquées, à limbe triangulaire, crénelé et composé de trois segments, les feuilles supérieures ont une gaine courte, bordée de blanc et sont soit découpées en trois

segment, soit à limbe entier. L'axe principal comme les rameaux latéraux se termine en ombelles composées, formée de 6 à 12 rayons, dépourvue d'involucre et d'involucelle.

- **Les fleurs** : Elles sont radiales, très petites et actinomorphes ; elles ont 5 pétales blancs ou verdâtres qui se terminent en pointe légèrement enroulée, 5 étamines, 2 styles, un ovaire infère et bi-carpellaire.

- **Les tiges** : Ils sont anguleux, cannelés, souvent creuses et très ramifiées.

- **Les racines** : Dans la forme sauvage comme celles du céleri-branche et du céleri à couper ont une forme pivotante et sont noueuses ; elles sont de nature spongieuse, plus ou moins charnues mais très fibreuses.

- **Les graines** : Les graines représentent la partie la plus utilisée en médecine. Gris-vert à brunâtre, quelquefois fragmenté ; l'akène isolé est glabre de forme ovale, de 0.8 à 1.2mm d'épaisseur ; sur la face dorsale, il porte 03 petites côtes claires à blanchâtres, nettement contrastées (Eberhard, 2005).

## 2.6. Classification de l'espèce

Selon la classification APG III, (Benoît, 2017) le céleri fait partie de :

**Embranchement** : Magnoliophyta

**Classe** : Magnoliopsida

**Sous classe** : Rosidae

**Ordre** : Apiales

**Famille** : Apiaceae

**Genre** : *Apium*

**Espèce** : *Apium graveolens L.*

## 2.7. Composition nutritionnelle du céleri

Le céleri est une plante qui a des propriétés nutritives très importantes par sa teneur en vitamines A, B, E et C. De plus, elle contient des minéraux indispensables à un bon fonctionnement de l'organisme tels que le fer, le potassium, le zinc, le phosphore, le soufre, le cuivre, l'aluminium et le manganèse. Le (tableau 02) représente la valeur nutritive des différentes parties de la plante de céleri y compris les feuilles, les graines et les tiges (Syed Sufiyan, 2012).

Tableau 02 : La valeur nutritive des différentes parties de la plante de céleri

| Compositions | Feuilles | Graines  | Tiges   |
|--------------|----------|----------|---------|
| Energie      | 64 kcal  | 392 kcal | 34 kcal |
| Eau          | 81 %     | 06 %     | 95 %    |
| Protéines    | 06 g     | 18.1 g   | 0.9 g   |
| Graisse      | 0.6 g    | 03 g     | 0.2 g   |
| Vitamines    | 80 mg    | 52 mg    | 120 mg  |
| Calcium      | 6.3 mg   | 17 mg    | 10 mg   |
| Fer          | 23 mg    | 1767 mg  | 0.5 mg  |
| Magnésium    | 06 mg    | 45 mg    | 14 mg   |
| Potassium    | 14 mg    | 547 mg   | 34 mg   |

## 2.8. Propriétés thérapeutiques du céleri

En plus de sa composition riche en éléments minéraux et le rapport énergétique très important, le céleri possède des propriétés thérapeutiques nombreuses on cite comme exemple :

- **Effet anti-inflammatoire :** Le céleri, autant les feuilles que les graines, contient certains types de poly-acétylènes en quantités importantes. Auparavant, on croyait que ces composés bioactifs étaient nocifs. Or, des études ont démontré que certains poly- acétylènes auraient des effets anti-inflammatoires. Plusieurs études expérimentales montrent un fort potentiel anti-inflammatoire de l'extrait hydroalcoolique et aqueux préparé à partir des feuilles et des graines de céleri par inhibition de l'œdème induit par la carragénine à 1%. L'activité anti-inflammatoire serait due à son action anti-prostaglandine (**Baananou et al., 2013, Al-hindawi, 1989 et Lewis, 1985**).

- **Effet amaigrissant :** Le céleri est diurétique, il élimine les toxines présentes dans l'organisme. C'est pourquoi le jus de céleri préparé à partir des feuilles et les tiges est recommandé dans les régimes amaigrissants. Par ailleurs des travaux réalisés en prenant en considération le poids de l'animal et certaines paramètres chimiques tel que HDL, LDL et VLDL ont confirmé que l'extrait aqueux de céleri à un effet amaigrissant (**Vasanthkumar, 2014**).

- **Effet préventif des tumeurs cancéreuses :** Certains composés contenus dans le céleri (des polyacétylènes) auraient la capacité d'empêcher in vitro la prolifération de plusieurs types de cellules cancéreuses humaines (**Christensen, 2006**). Les graines de céleri ont aussi démontré un effet protecteur contre la formation de cellules cancéreuses au foie chez l'animal (**Sultana, 2005**).

- **D'autres usages médicaux :** Le cèleri (*Apium graveolens L*), utilisé fréquemment en Algérie et tous les pays du Maghreb, Les feuilles, les graines ainsi que les tiges de céleri sont utilisées traditionnellement comme : Anticoagulant (**Sowbhagya, 2010**). Le céleri est utilisé

notamment dans le traitement des maladies gastro-intestinal comme anti spasmodique (**Naema, 2010**) ; Des études réalisées auparavant ont confirmé ses activités antimicrobiennes et fongiques (**Momin, 2001 et Baananou et al., 2013**). Des travaux in *Vivo* sur les rats ont confirmé son pouvoir de réduire la glycémie (**Gelodar, 1997**).

---

---

**Chapitre III : Généralités sur les composés phénoliques  
et les huiles essentielles**

---

---

### III. Généralités sur les composés phénoliques et les huiles essentielles

#### 3.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**). A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés (**Mompon et al., 1998**). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (**Harbone, 1993**).

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué. La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement, des processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse, de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques (**Bruneton, 1993**). Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits, les légumes et les boissons (thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour la moitié à notre apport en polyphénols, les Boissons telles que le jus de fruits et surtout café, thé et autres apportant le reste (**Middleton et al., 2000**).

#### 3.2. Biosynthèse et classification des composés phénoliques


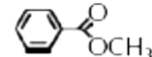
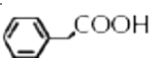
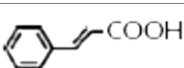
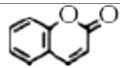
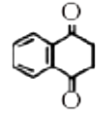
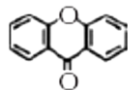
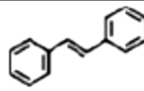
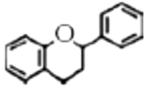
Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques : celle, de l'acide shikimique et celle, issue des acétates (**Sarni-Manchado et al., 2006**). De plus, la diversité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin et al., 2002**).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient, d'abord, par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications du squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...). Enfin par les liaisons possibles de ses molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites



secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques). Les différentes classes de ces composés phénoliques isolées des plantes sont illustrées dans le (Tableau 03).

Tableau 03 : Structure des squelettes des polyphénols (Crozieret *al.*, 2006)

| Nombre de Carbones | Squelettes | Classification           | Exemples                    | Structure de Base   |
|--------------------|------------|--------------------------|-----------------------------|---|
| 7                  | C6-C1      | Acides phénols           | Acide gallique              |    |
| 8                  | C6-C2      | Acétophénonnes           | Gallacetophénone            |    |
|                    | C6-C2      | Acide phénylacétique     | Acide hydroxyphénylacétique |    |
| 9                  | C6-C3      | Acides hydroxycinamiques | Acide coumarique            |    |
|                    | C6-C3      | Coumarines               | Esculitine                  |    |
| 10                 | C6-C4      | Naphthoquinones          | Juglone                     |    |
| 13                 | C6-C1-C6   | Xanthones                | Mangiférine                 |    |
| 14                 | C6-C2-C6   | Stilbènes                | Resveratrol                 |   |
| 15                 | C6-C3-C6   | Flavonoïdes              | Naringénine                 |  |

### 3.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, Antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong *et Shui*, 2002).

D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires, de plus, leur activité antioxydante, les polyphénols assurent une meilleure conservation des denrées

alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont, par exemple, aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, aux tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des intérêts bien déterminés (Hennebelle et al., 2004).

### 3.4. Principales classes des composés phénoliques

#### ▪ Les acides phénoliques simples

##### a) Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones ( $C_6C_1$ ). Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicylique, o-hydroxybenzoïques et gentisiques.

##### b) Les acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type ( $C_6C_3$ ). Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (Ribereau, 1968).

#### ▪ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (*flavus*, jaune en latin) représentent une large gamme de composés naturels, appartenant à la famille des polyphénols, considérés comme des pigments quasi- universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005). Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E. Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt et al., 2001).

Ils sont rencontrés chez les végétaux supérieurs, on les trouve en abondance dans les familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Apiacées et Astéracées (Hadi, 2004). Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes, ainsi que dans les téguments externes des fruits. On estime que la prise moyenne des flavonoïdes par l'homme s'étend de 25 mg à 1 gr/jour (Wang et Mazza, 2002).

De nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavones, flavonols et flavanones.

(Merfek, 2003). (Lugeais et al., 2003) ont étudié la composition en flavonoïdes de quelques fruits et légumes et ils ont conclu que la teneur des aliments en flavone et en flavonol est fortement influencée par des facteurs écologiques tels que : la croissance, la saison, le climat et le degré de maturité.

▪ **Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes**

De nos jours, les propriétés thérapeutiques des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités biologiques et pharmaceutiques. La principale propriété initialement attribuée aux flavonoïdes, est d'être vasculo-protectrice et veinotonique (Bruneton, 1999). Actuellement, les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmaco-biologiques comme entre autres des effets hypocholestérolémiantes (Formica et Regelson, 1995) antiviraux, antimicrobiens, et anticancéreux (Narayana et al., 2001 ; Seyoum et al., 2006) antiallergiques, anti-inflammatoires, antithrombotiques, anti-tumoraux et hépato-protecteurs (Middleton et al., 2000). Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels (Saija et al., 1995).

▪ **Les tanins**

Les tanins sont des composés poly-phénoliques, hydrosolubles de masse moléculaire comprise entre 500-3000. Ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Ghestem et al., 2001). Parmi les caractéristiques des tanins le goût d'astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (Peronny, 2005). Le rôle des tanins au sein de la plante est lié à sa propre protection contre les infections fongiques et bactériennes, et aussi contre les insectes et les animaux herbivores (Khanbabaee et Ree, 2001), (Peronny, 2005). Selon leur structure chimique les tanins sont classés en deux groupes :

a) **Les tanins hydrolysables**

Ce sont des polyesters de glucose (ou de molécules apparentées) et d'un nombre variable d'acide phénolique qui est : soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001).

### b) Les Tanins condensés (proanthocyanidines)

Ce sont des dérivés non hétérosidiques, n'ayant pas tous des propriétés tannantes, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités de (flavan-3-ols), le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de cinquante unités (**Ghestem et al., 2001 ; Khanbabaee et Ree, 2001**). Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone 4→8 ou 4→6 dans les proanthocyanidines de type B, ou par une liaison interflavanique double (C-4→C-8 ou C-4→C-6) et (C-2→O→C-7) dans les proanthocyanidines de type A (**Bruneton, 1999 ; Vivas et al., 2006**).

Les tanins sont répandus dans le règne végétal, Les tanins sont particulièrement abondants chez les Conifères, les Fagacées et les Rosacées (**Ghestem et al., 2001**). Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines) avec une accumulation fréquente dans les organes âgés surtout. L'écorce (**Ghestem et al., 2001 ; Khanbabaee et Ree, 2001**).

Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales, les légumineuses et les fruits (sorgho, millet, orge, haricots secs, petits pois, caroube, pomme, mûre, canneberge, datte, raisin, aubépine, pêche poire, kaki, prune, framboise et fraise) (**Peronny, 2005**).

#### ▪ Propriétés thérapeutiques des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets caractéristiques sur la santé humaine (**Chavan et al., 2001 ; Okuda, 2005**). Son potentiel est lié étroitement aux propriétés antioxydantes qui apparaissent importantes dans la protection cellulaire des dommages oxydatifs (**Chung et Wei, 2001**). Les tanins présentent une activité anti-inflammatoire, anti-ulcéreuse et antiparasitaire, en effet, la consommation des plantes à tanins peut affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux (**Peronny, 2005**).

#### ▪ Les Coumarines

Ce sont des dérivés des acides hydroxycinnamiques, isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces végétales et dans les micro-organismes. Dans les plantes, on les rencontre chez les *Apiaceae*, les *Asteraceae*, les *Abaceae*, les *Rosaceae*, les *Rubiaceae*, les *Rutaceae* et les *Solanaceae*. Du point de vue structural, on les classe en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, ceux substitués en position 3 et ou 4 et le dernier groupe serait celui des dimères (**Donatien, 2008**).

▪ **Propriétés thérapeutiques des Coumarines**

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculo protectrices, neuro-sédatives, Diurétiques, stomachiques et carminatives (**Hennebelle et al., 2004**). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (**Anderson et al., 1996**). Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives, antimicrobienne, anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, anti-œdémateuses et analgésique (**Stefanova et al., 2007**). Elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Yoshikawa et al., 1994 ; Chen, 1995 ; Gonzalez et Estevez-Braun, 1997 ; Kayser et al., 1997 ; Resch et al., 1998**).

**3.5. Généralités sur les huiles essentielles**

Les huiles essentielles ou essences végétales sont des produits huileux, volatiles, odorants et incolores ou légèrement teintés obtenus par distillation à la vapeur d'eau, par expression, par incision ou par enflourage du matériel végétal (**Budavari, 1996**). Ces essences sont largement distribuées dans le règne végétal et n'existent que chez les végétaux supérieurs. En effet elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Lamiacées (lavande, basilic, menthe...), les Myrtacées (eucalyptus...), les Lauracées (cannelles et sassafras) et les Apiacées (Coriandre, Céleri, cumin, fenouil, persil...) (**Richter, 1993**). Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : racines, fruit, graines, feuilles, fleurs, écorces, bois. Elles se forment dans des cellules spécialisées, le plu souvent regroupées en canaux ou en poches sécréteurs et elles sont ensuite transportées dans les différentes parties de la plante lors de la croissance de cette dernière (**Bernard, 1988**). Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition de fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que ses taches sur le papier sont passagères (**Sallé, 1991**). Elles se caractérisent par leur propriétés organoleptique (odeur, couleur et goût). A la température ambiante, elles sont généralement liquides de densité souvent inférieur à celle de l'eau. Elles sont incolores ou jaune pâle. Sauf quelques exceptions comme les huiles essentielles de la cannelle (orange), de l'absinthe (vert) ou de la camomille (bleu).

Leur indice de réfraction est élevé et le plus souvent elles sont douées de pouvoir rotatoire. On leur attribue différents indices chimiques (Indice d'acide, d'ester, de carbonyle...). Elles sont peut solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (éther, alcool, hexane et pentane), elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore

et réduisent certains sels. En outre, elles s'oxydent et se polymérisent facilement. Pour éviter cela il faut les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Brunetan, 1999**).

### **3.6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles**

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés, basés sur des techniques anciennes : Distillation, Expression, Enfleurage ou plus récentes : extraction sous irradiation micro-ondes ou par ultra-sons, néanmoins la distillation reste la méthode la plus précise du fait qu'elle est facile à mettre en œuvre.

#### **1) Hydrodistillation**

C'est la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première directement dans l'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition ; l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par un courant d'eau. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échange de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales. Les expérimentations conduites jusqu'à épuisement de substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des systèmes d'élaboration ou de stockage des huiles essentielles qui sont soit à la surface ou à l'intérieur des tissus de la plante. De ce fait, ces structures ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée de l'opération d'extraction. Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule sont rapidement rompues lors de l'ébullition, les composés volatils sont immédiatement évaporés. Lorsque les H. Es sont sous cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur pour qu'elles puissent s'évaporer comme dans les sécrétions superficielles (**Hajji, 1985**).

#### **2) Entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce type de distillation, la plante est traversée par un courant de vapeurs d'eau qui va tirer les substances volatiles hydrophobes. Après condensation, la séparation se fait par décantation. Cette méthode apporte une amélioration à la qualité des huiles essentielles en minimisant les éventuelles altérations hydrolytiques (**Lucchesi, 2005**).

### 3.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Depuis l'Antiquité, les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie (Essawi, 2000). Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ième</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues entre autres, à la fraction des huiles essentielles contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances (Sipailiène, 2006).

### 3.8. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

#### ❖ Propriétés physiques

Les huiles essentielles ont les propriétés suivantes :

- Peu soluble dans l'eau ; cependant elles lui communiquent leur odeur (eau distillé florale) ; Par contre elles sont solubles dans les alcools, ainsi que dans les huiles fixes et dans les solvants organiques ;
- Elles sont sensibles à l'oxydation, elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation des produits résineux, ce qui conduit à la modification de leur odeur et leurs points d'ébullition, donc ne se conserve pas longtemps ;
- Leur point d'ébullition varie entre 160 et 240 ° C ;
- Leur indice de réfraction est souvent élevé ;
- Généralement de couleur jaune pâle, ou même elles sont incolores ;
- Elles sont volatiles et c'est la différence entre eux et les huiles fixes ;
- Elles sont liquides à la température ambiante ;
- La plupart ont une densité inférieure à 1, excepté les huiles essentielles de cannelle de girofler et du sassafras.

#### ❖ Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois,

racines, rhizomes, fruits ou graines. Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpénoïdes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (El Haib, 2012).

▪ **Les monoterpènes**

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (El Haib, 2012).

▪ **Les sesquiterpènes**

Ce sont des composés de trois unités d'isoprènes, ce sont des dérivés d'hydrocarbures en (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>3</sub>, ils sont présents dans de nombreuses huiles essentielles. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El Haib, 2012). Les huiles essentielles qui renferment ces molécules rares trouvent de très larges applications dans le traitement de toutes pathologies allergiques et inflammatoires. Toutes les éruptions et irritations cutanées, les crises d'asthme, les artérites. Les sesquiterpénoïdes n'ont pratiquement aucune toxicité aux doses physiologiques. Ils peuvent s'appliquer sur la peau sans la moindre irritation qu'ils sont même censés combattre (Pierron, 2014).

▪ **Les composés aromatiques**

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic et de l'estragon (El Haib, 2012).

### **3.9. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles**

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs



d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements constants des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques (**Julien, 2005**). Leur analyse comporte plusieurs séquences :

- La première séquence consiste à les analyser, tout d'abord, par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG) ; cette technique permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir), puis à les analyser par le couplage d'une technique chromatographique, généralement la CPG, avec une technique d'identification spectrale, couramment la spectrométrie de masse (SM). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention Ir et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. Cette étape est habituellement suffisante dans les cas d'analyse de routine d'huiles essentielles.

- Une deuxième séquence est mise en œuvre lorsque l'huile essentielle est complexe. Un fractionnement de l'huile essentielle est alors effectué, le plus souvent par chromatographie liquide sur colonne ouverte de silice ou d'alumine. Les fractions obtenues sont ensuite analysées de la façon décrite dans la première séquence. Cette étape est à privilégier lorsque l'on veut étudier les différentes familles de composés (esters, alcools, cétones...).

- Enfin, une troisième séquence peut être mise en œuvre lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus des bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature. Il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatives telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en phase gazeuse préparative (CGP). L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN-1H) et du carbone-13 (RMN-13C), SM, IRTF, etc... (**Julien, 2005**).

### **3.10. Activités biologiques des huiles essentielles**

La diversité moléculaire qui compose les huiles essentielles, leur confère des propriétés biologiques. En effet plus récemment, des études ont montré que les huiles essentielles de l'herbe du Laos (*Chromoleana odorata*) et de *Mikania cordata*, donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipoxigénase L-1 de soja, modèle de la lipoxigénase humaine (5-

LO) impliquée dans les processus de l'inflammation (**Bedi et al., 2004**). Dans une autre étude, il a été montré que celles de *Chromoleana odorata* présentaient des actions positives sur la fonction cyclooxygénase de la prostaglandine H-synthétase (**Bedi et al., 2010**). Enfin, les mêmes auteurs ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus*, *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* avaient des activités inhibitrices sur la cyclooxygénase (**Bedi et al., 2003**).

Certaines huiles essentielles présentent des activités antitumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique in vitro contre différentes lignées tumorales. In vivo, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P<sub>815</sub>(**Mbarek et al., 2007**). L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K<sub>562</sub> (**De Sousa et al., 2004**).

D'autres applications médicales ont fait l'objet d'études. Les travaux réalisés par (**Oussou 2009**), ont prouvé la capacité de l'huile essentielle de *Ocimum canum* à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Ceux de (**Monti et al., 2002**) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol. Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (**Umezu, 1999**) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre. L'addiction de certaines drogues, comme la nicotine (**Zaho et al., 2005**).

---

---

**Chapitre IV : Revue bibliographique sur les activités  
biologiques étudiées**

---

---

## V. Revue bibliographique sur les activités biologiques étudiées

### 4.1. Activité antioxydante

Plusieurs réactions biologiques impliquent l'oxydation de substrats où l'accepteur d'électrons est l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ). Ces types de réactions sont catalysés par un groupe d'enzymes métalloprotéines appelées "oxydases". Plus de 90% d'oxygène consommé par les cellules des mammifères est catalytiquement réduit par quatre électrons pour produire deux molécules d'eau. Cependant, l' $O_2$  peut être réduit par moins de quatre électrons, en présence de certaines oxydases, donnant ainsi naissance à des espèces oxygénées partiellement réduites et hautement réactives appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou espèces oxygénées réactives (EOR) (Grisham, 1988).

#### ▪ Les radicaux libres

**Définition :** Un radical libre peut être une molécule ou un atome neutre ou chargé, ayant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataire), ce qui le rend extrêmement réactif. C'est le cas l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ , d'où le symbole  $\cdot$  indique la présence d'un électron célibataire, le signe  $-$  une charge électronique négative (Dacosta, 2003).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les **radicaux primaires** à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ), le radical peroxyde ( $ROO^{\cdot}$ ) et le radical alkoxyde ( $RO^{\cdot}$ ). Les autres radicaux libres, dits **radicaux secondaires** telles que l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , le nitroperoxyde ( $ONOO^-$ ). Se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

#### ➤ Origine des radicaux

L'origine des radicaux libres, ils peuvent être :

▪ **De source exogène :** Tout d'abord, la pollution peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Une bouffée de cigarette contient environ 1014 radicaux et des traces d'ions métalliques qui peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux Hydroxyles. Les rayonnements (UV, X,  $\gamma$ ) sont capables de générer des radicaux libres. Les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources des radicaux libres (Favier, 2003). L'ingestion d'alcool, d'antibiotiques et d'anticancéreux est suivie de formation des radicaux libres selon divers mécanismes métaboliques in vivo (Hadi, 2004). Une grande partie des aliments qu'on consomme est oxydée et contient différents types d'oxydants tels que les peroxydes, les aldéhydes, les acides gras oxydés et les métaux de transition (Ames, 1986).

▪ **De source endogène :** À côté des sources non métaboliques (exogènes) d'EOR, les systèmes intracellulaires (endogènes) sont plus importants du fait que les EOR sont produits en continu durant toute la vie de chaque cellule dans l'organisme. La chaîne respiratoire mitochondriale constitue une source majeure des EOR dans les systèmes biologiques (**Chen et al., 2003**). Dans les conditions physiologiques normales, 1 à 2% d'oxygène réduit dans la mitochondrie est converti en  $O_2^{\cdot-}$  par la NADH déshydrogénase et l'ubisemiquinone de la chaîne respiratoire (**Bai et Cederbaum, 2001**). Cette quantité d' $O_2^{\cdot-}$  produite peut-être amplifiée dans le cas d'effort physique ou lorsque la fraction d'oxygène inspiré augmente (au cours de certaines modalités de ventilation artificielle utilisant un mélange hyperoxique) ou lors des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels (carence en ubiquinone) (**Favier, 2003**).

Autres chaînes de transport d'électrons (ex. peroxysomes et microsomes) contribuent également à la production d' $O_2^{\cdot-}$  dans les cellules en aérobiose. Les cytochromes P<sub>450</sub> et b<sub>5</sub> de

La chaîne de transport d'électrons des microsomes peut produire des EOR quand ils interrompent le cycle redox normal et détournent le flux d'électrons vers l' $O_2$  (**Sevanian et al., 1990**). Les cytochromes réductases impliquées dans les réactions redox des cytochromes P450 et b<sub>5</sub> peuvent, à leur tour, produire l' $O_2^{\cdot-}$  et le  $OH^{\cdot}$  suite à leur auto-oxydation (**Sevanian et al., 1990 ; Bernhardt, 1996**).

L'activité de quelques enzymes cytoplasmiques conduit également à la formation des EOR comme produit de leur cycle catalytique ; la xanthine oxydase et l'aldéhyde déshydrogénase forment l'exemple le plus important (**Fridovich, 1970 ; Rajagopalan, 1980**). Dans les érythrocytes, une source importante de production des EOR est l'auto oxydation de l'hémoglobine qui conduit à la formation de l'anion radical  $O_2^{\cdot-}$ . En présence de donneurs d'électrons, une réduction bivalente de l' $O_2$  lié à l'hémoglobine prend place résultant en la formation du  $H_2O_2$  (**Bartosz, 2003**).

Le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ) est synthétisé à partir de l'arginine par les différentes (NOS) à des fins de médiation au niveau des cellules nerveuses, endothéliales et des macrophages, la source majeure du  $O_2^{\cdot-}$  est sans doute la "flambée respiratoire, des cellules phagocytaires activées (neutrophiles, éosinophiles et macrophages) en réponse aux stimuli inflammatoires. Cette flambée respiratoire est caractérisée par une augmentation intense de consommation d'oxygène où son acteur principal est le complexe enzymatique NADPH oxydase (**Babior et al., 2002**). La contribution de l'enzyme NADPH oxydase des neutrophiles est capitale dans la lutte anti-infectieuse car elle permet la destruction des bactéries et des corps étrangers phagocytés (**Babior et al., 2002**). De même, la myéloperoxydase lysosomiale desphagocytes

participe dans ce processus par sa production du HOCl à partir du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et du Cl<sup>-</sup> (**Rodrigues et al., 2002**).

➤ **Stress oxydatif**

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (**Morel et Barouki, 1999**).

➤ **Origine du stress**

Les EOR sont produites par divers mécanismes physiologiques, car ils ont des rôles vitaux très importants en agissant à faibles concentrations, dans la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation. Elles améliorent les fonctions immunologiques, par amplification du signal intracellulaire, dans les lymphocytes T, suite à une faible stimulation antigénique, donnant lieu à une réponse immunitaire spécifique (**Dröge, 2002**). Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit nutritionnel en antioxydants ou par suite d'une surproduction exagérée des EOR, elle présente des effets néfastes en induisant l'apoptose des cellules saines ou en activant l'expression de divers gènes codant pour des cytokines ou protéines d'adhésion, ce qui conduit à l'amplification de la réponse inflammatoire (**Conner et Grisham, 1996**). Les EOR instables sont particulièrement réactionnelles et seront capables de provoquer des dégâts cellulaires importants.

➤ **Les antioxydants**

**Définition :** Un antioxydant est défini comme étant toute molécule, à concentration relativement faible, capable d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et peut retarder, inhiber ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (**Berger, 2006**), ce sont des composés qui réagissent avec les EOR et les rendent ainsi inoffensifs (**Vansant, 2004**).

▪ **Les systèmes antioxydants**

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en deux systèmes : enzymatiques et non enzymatiques (**Goudable et Favier, 1997**).

**a) Antioxydants enzymatiques :** Représentés principalement par trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de superoxyde et de peroxyde

**b) Antioxydants non enzymatiques :** Ce groupe d'antioxydants est constitué de plusieurs composés capables de réagir directement ou indirectement avec les EOR. Le mécanisme indirect implique la chélation des métaux de transition ce qui empêche la production du radical hydroxyle, hautement toxique.

Les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêchant ainsi d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux EOR et les éliminer (**Kohen, 2002**).

➤ **Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro**

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques (**Ali et al., 2008**). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (**Huang et al., 2005**).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (**Sanchez-Moreno et Larrauri, 1998**). Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ), de l'hydroxyle ( $OH^\bullet$ ), des anions superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), du peroxyde ( $ROO^\bullet$ ) et de l'oxyde nitrique ( $NO^\bullet$ ) (**Sanchez-Moreno, 2002**). Parmi ces techniques, nous citons :

- La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (**Cao et al., 1993**) ;
- La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC
- (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (**Miller et al., 1993**) ;
- La méthode de FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (**Benzie et Strain, 1996**) ;
- La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (**Brand-Williams et al., 1995**) ;
- La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N, N- diméthyl- p - phenylenediamine) (**Li et al., 1994**) ;
- La méthode de TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (**Winston et al., 1998**) ;

- La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) (**Wayner et al., 1985**) ;
- La méthode photochimiluminescence (PCL) (**Popov et al., 1987**) ;
- La méthode d'hémolyse (**Charfi, 1995**).

#### 4.2. Activité anti-inflammatoire

**Définition de l'inflammation :** La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli-nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou même un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète. Mal contrôlée, l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entraînant dans les cas les plus graves le décès (**Nathan, 2002 ; Barton, 2008**).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut être divisé en deux branches interconnectées. L'immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs PRR (Pattern Recognition Récepteurs), et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, les PAMPs, ou endogènes, les alarmines (**Bianchi, 2007**), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (**Barton, 2008 ; Medzhitov, 2008**).

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Barton, 2008**). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

##### ❖ L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al., 2010**). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :



**▪ Phase vasculaire**

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. Ces plaquettes vont alors s'activer. Très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. Le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines (diapédèse). Et ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème (**Kumar et al., 2007**).

**▪ Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)**

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (**Nathan, 2002**). L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL<sub>8</sub>, C<sub>5a</sub> et LTB<sub>4</sub>. Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs (Polymorphonucléaires neutrophiles), vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (**Charles et al., 2010**).

**▪ Phase de résolution**

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et

les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).

#### ❖ L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, le rejet de l'allogreffe chronique, dans la bérylliose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles *et al.*, 2010). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorisent l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006 ; Charles *et al.*, 2010).

#### ❖ Cellules et médiateurs de l'inflammation

a) **Les Cellules :** Les polynucléaires neutrophiles (PNNs), représentent 50 à 70% des leucocytes circulants dans le sang (Botting, 2000). Ils constituent la première ligne de défense

de l'organisme contre les agents infectieux et les substances étrangères (Stevens, 2010). Les fonctions des différents leucocytes impliqués dans la réponse inflammatoire sont résumées dans le (tableau 04).

**Tableau 04 : Différents leucocytes intervenant au cours de la réponse inflammatoire (Serhan et al., 2010)**

| Type cellulaire                      | Fonction basique dans l'inflammation   |
|--------------------------------------|--|
| <b>Neutrophiles</b>                  | Migrent vers le tissu extravasculaire, ont des propriétés phagocytaires et sont activés par des chimio-attracteurs dans le site de l'agression. Ils libèrent des protéases, des protéines cationiques, les eicosanoïdes ils meurent sur le site et sont phagocytés par le macrophage.  |
| <b>Mastocytes</b>                    | Cellules phagocytaires, résidentes dans les tissus de connexions et dans les muqueuses. Libèrent de médiateurs inflammatoires (essentiellement anaphylactiques). Ils contiennent de l'histamine.   |
| <b>Basophiles</b>                    | Migrent vers le tissu extravasculaire et ont des propriétés phagocytaires. Interviennent dans les réactions allergiques.   |
| <b>Eosinophiles</b>                  | Migrent vers le tissu extravasculaire où ils peuvent survivre plusieurs semaines. Ils ont des propriétés phagocytaires et interviennent dans les infections parasitaires.  |
| <b>Plaquettes</b>                    | Source initiale de médiateurs inflammatoires et interviennent aussi dans la cascade de coagulation.  |
| <b>Monocytes</b>                     | Se différencient en macrophages tissulaires, dans le foie, les poumons... où ils peuvent y survivre pendant des années. Ce sont de puissants phagocytes, ils sont impliqués dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et B et dans la libération des médiateurs inflammatoires.   |
| <b>Les cellules de l'endothélium</b> | Des vaisseaux de petit et moyen calibre jouent un rôle important au cours de l'inflammation. Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post-inflammatoire par la production de protéines matricielles. Ils sécrètent les cytokines, leur multiplication et leur différenciation sont indispensables à l'angiogenèse, facteur clé de réparation tissulaire. |
| <b>Les fibroblastes</b>              | Les fibroblastes de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine                                 |

**a) Médiateurs de l'inflammation :** La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (**Rankin, 2004**).

Le tableau ci-dessous résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation

**Tableau 05 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004 ; Male, 2005 ; Davoine et Lacy, 2014).**

| Médiateurs                                      | Origines   | Effets   |
|---|--|--|
| <b>Histamine</b>                                | Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes           | Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.  |
| <b>Sérotonine</b>                               | Mastocytes et plaquettes                                     | Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.  |
| <b>Facteurs d'activation plaquettaire (PAF)</b> | Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales | Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule l'agrégation des plaquettes, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages. |
| <b>Prostaglandine</b>                           | Essentiellement par les leucocytes                           | Vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.   |
| <b>Cytokines</b>                                | Macrophages et les lymphocytes                               | Elles agissent sur des récepteurs membranaires, elles peuvent être pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, ou le TNF $\alpha$ ) ou encore anti-inflammatoires (IL-10). Intervient dans la réparation tissulaire.                    |

### 4.3. Activité cicatrisante

#### Rappel Histo-physiologique de la peau

Au cours de cette activité, nous avons jugé indispensable de donner d'abord un rappel sur l'histo-physiologie de la peau avant d'entamer le mécanisme de cicatrisation et tous ce qui est en relation avec cette activité.

❖ **Structure de la peau :** La peau constitue le plus grand organe du corps humain avec une surface de 1,8 m<sup>2</sup> représentant approximativement 7 kg pour une personne de 65kg, soit plus de 10% de la masse corporelle (**Schaefer, 1996**). Grâce à ses propriétés de barrière entre l'organisme et l'environnement, les fonctions de la peau sont d'une part, une protection contre les agressions de l'extérieur et d'autre part, un maintien de l'homéostasie du corps grâce notamment à la thermorégulation et à la sécrétion de sébum et de sueur. Les agressions

extérieures comprennent en particulier les produits chimiques, les bactéries, les allergènes, les champignons, les radiations mais également les changements de température et d'humidité. Elle constitue également le siège du sens du toucher (Tran,2009 et Kenneth,2002). La peau normale humaine est constituée de trois couches principales dont les cellules interagissent ensemble, afin d'assurer ses différentes fonctions (Figure 1).

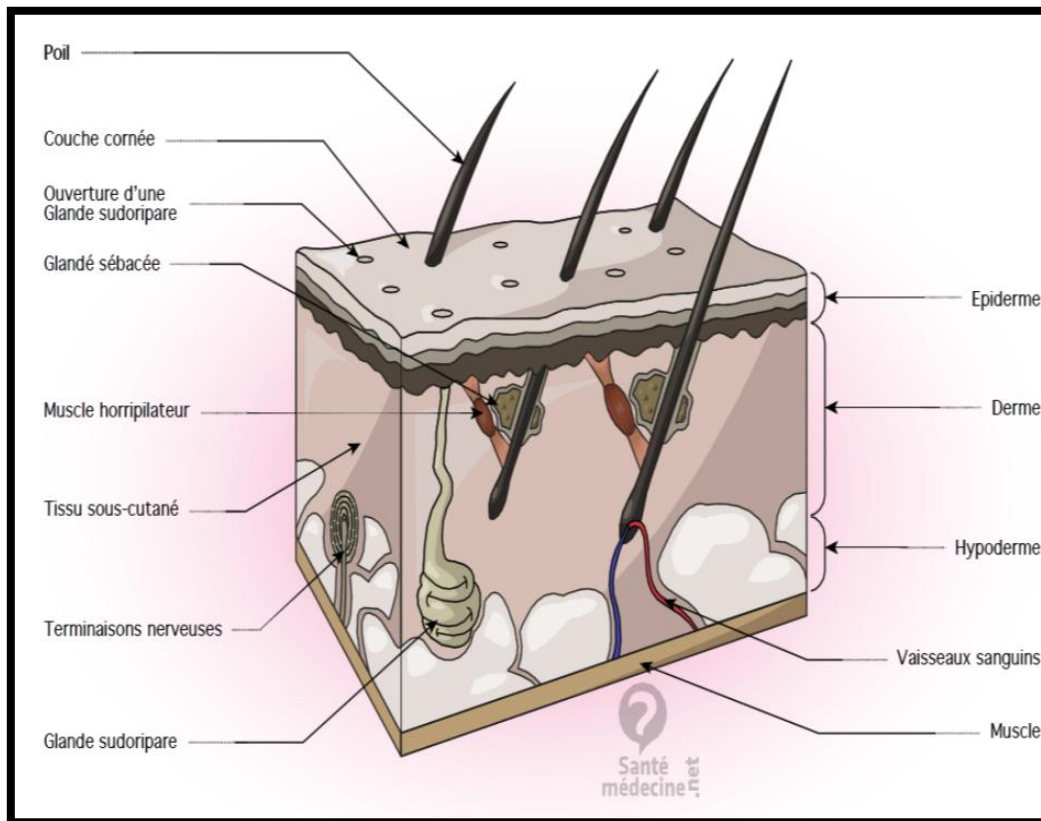


Figure 1 : Représentation schématique de structure de la peau (Tran, 2009)

#### ❖ La cicatrisation cutanée

C'est un processus biologique naturel intervenant après l'ouverture des parties molles du corps secondaire à un agent mécanique externe, à une agression (traumatisme direct, brûlure, blessure, maladie, intervention chirurgicale etc.), ne s'accompagnant pas de perte de substance. Cette guérison de la plaie ainsi constituée peut se faire spontanément, on parle alors de cicatrisation de première intention. Mais dans certains cas, elle nécessite l'intervention humaine et on parle dans ce cas de cicatrisation de deuxième intention ou cicatrisation secondaire.

#### ❖ Phases de la cicatrisation

- **Phase exsudative :** Au moment de la blessure, la rupture de vaisseaux sanguins entraîne l'épanchement des constituants du sang. La coagulation traduit la réaction cellulaire

immédiate à l'agression du tégument. Cette réaction est amorcée par l'activation de l'agrégation des plaquettes et par la libération de substances vasoconstrictrices qui oblitèrent les vaisseaux sanguins par la formation d'un caillot stable. Le caillot rétablit l'hémostase et forme une matrice extracellulaire dans le lit de la plaie, c'est-à-dire une structure pour la migration des cellules (**Singer et Clarck, 1999**).

- **Phase proliférative** : La seconde étape du processus cicatriciel conduit à la formation du tissu de granulation. Elle permet ainsi la réparation dermique et épidermique grâce à la synthèse de collagène et à la prolifération de kératinocytes, de fibroblastes et de néovaisseaux

- **Phase de contraction** : Il s'agit d'un mécanisme de réduction de la taille de la plaie ou de brûlure par le mouvement centripète du tissu cutané entourant la plaie. C'est un processus dans lequel les fibroblastes joueraient un rôle du premier plan se produisant sept jours après la blessure, et son activité atteint un pic après deux semaines (**Calvin, 1989**).

- **Phase de remodelage** : Après l'arrêt de la transformation fibroblastique et de l'angiogenèse et longtemps après la réépithélialisations, une longue phase de remodelage de la cicatrice se fait par synthèse de collagène qui se poursuit essentiellement par remplacement du collagène de type III par du collagène de type I. Il s'agit d'une lente évolution vers l'équilibre entre synthèse et dégradation surtout par les métalloprotéases, une rupture de cet équilibre entraîne des vices de cicatrisation (cicatrice hypertrophique, chéloïde, cicatrice atrophique) entre autres, la collagénase 4 et la gélatinase. Cette phase finale de la cicatrisation se poursuit pendant des mois, voire des années après la cicatrisation de la plaie (**Coulibaly, 2001**).

#### ❖ **Evaluation de la gravité d'une brûlure**

La détermination de la gravité d'une brûlure se fait en prenant en considération certains éléments. La pondération de ces différents facteurs permet l'établissement d'indices de gravité et une classification simple des patients en rapport avec les risques encourus (vitaux et non vitaux) et le type de prise en charge souhaitable. Nous citons ainsi comme facteur d'évaluation de gravité :

- **La Surface** : l'estimation de la surface brûlée se fait en référence à la règle des 9 de Wallace (**Kyle, 1950**). Cette technique ne peut être appliquée sur des sujets de moins de dix ans. A l'hôpital, les brûlures doivent être redessinées sur un schéma et la surface calculée à partir des tables de (**Lund et Browder, 1992**) Cette méthode est plus appréciée suite aux nombreuses corrections apportées en fonction de l'âge. Pour les petites surfaces, l'appréciation se fait à partir de la paume de la main de la victime qui représente à peu près 1% de sa surface corporelle.

▪ **Profondeur** : La profondeur de la brûlure est jugée en fonction de l'atteinte totale ou partielle de la membrane basale régénératrice de l'épiderme (**Lund et Browder, 1992**).

#### 4.4. Activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les plantes condimentaires comme source d'antibiotique naturelles (**Athamena et al., 2010**). De plus, la résistance aux antibiotiques par les microorganismes pathogènes (bactéries, virus, mycètes) est devenue un problème grave car ces contaminations microbiennes touchent toujours la santé publique (**Edziri, et al., 2012**). Par conséquent, l'intérêt pour les antimicrobiens, particulièrement d'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années.

Le spectre d'action des antimicrobiens produits par les plantes est plus restreint que celui généré par les antibiotiques conventionnels. En effet, ces derniers possèdent une haute activité contre les bactéries Gram positives, mais demeurent peu actifs contre les bactéries Gram négatives et les levures (**Lewis, 2001**).

Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes (**EL Kalamouni, 2010**). Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines (**Sipailiene et al., 2006**).

#### ❖ Les techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des Huiles essentielles et des composés phénoliques

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide. Nous allons essayer d'énumérer ces différentes méthodes et de discuter chacune d'elles (**EL Kalamouni, 2010**).

**❖ Les techniques en milieu liquide**

- **Méthode des disques de Sarbach :** L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation. L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide (**Rhayour, 2002**).

- **Méthode de Maruzuella :** Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation de l'HE dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablement ensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (**Rhayour, 2002**).

**❖ Les techniques en milieu solide**

- **Méthode de Vincent :** Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme. Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, imprégnés d'HE et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne (**Hambaba et al., 2012**). Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. La dilution des HE se fait toujours dans un solvant tel que l'éthanol, DMSO, et le Tween. Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'huile essentielle par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles (**Rhayour, 2002**). Une variante de cette technique consiste en l'aménagement de cavité à l'emporte-pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné d'HE qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (**Rhayour, 2002**).

- **Méthode de micro-atmosphère**

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance (**Rhayour, 2002**).



# Partie expérimentale

---

---

## **Chapitre V : Matériels et méthodes**

---

---

## V. Matériel et méthodes

### Objectif de travail

Nous rappelons que dans le cadre des travaux visant, la caractérisation et la mise en valeur des substances naturelle d'origines végétales responsables des activités biologiques, s'inscrit notre travail qui se repose sur deux parties distinctes et complémentaires

- La première partie concerne l'étude phytochimique basée principalement sur l'extraction et la détermination qualitative et quantitative des composés actifs, dans l'extrait hydroalcoolique des feuilles ainsi que l'huile essentielle extraite des graines d'*Apium graveolens* (céleri).

- La deuxième partie est consacré à l'évaluation des activités pharmaco-biologiques telles que : l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et l'activité cicatrisante.

- Toutes les analyses ont été effectuées au sein de laboratoire d'écodéveloppement des espaces avec la contribution du département de science de l'environnement UDL sidi bel abbés.

Il est à signaler que, ces travaux de recherche sont basés sur une enquête ethnobotanique qui nous renseigne sur l'utilisation de l'*Apium graveolens* dans les pratiques traditionnelles au niveau de la population locale.

Il est à noter aussi, que toutes les analyses et les expériences ont été effectuée sur les graines de céleri qui nous ont été procurées de l'ITCMI. D'ailleurs, c'est au niveau de cette station que la culture de ces semences a été faite et qui représente de ce fait notre station d'étude tout en sachant qu'elle fait partie de la wilaya de sidi bel abbés.

### 5.1. Présentation de la zone d'étude

#### ❖ Présentation de la wilaya de Sidi Bel Abbas

Sidi Bel Abbas est le chef-lieu de la Wilaya, elle est située à 433,8 Km à l'Ouest de la capitale Alger (**Figure 02**). Elle est située sur la Mékerra, à 470 m d'altitude, au centre d'une plaine comprise entre les monts de Tessala au nord et les monts de Daya au sud, elle est caractérisée par un climat méditerranéen et elle appartient à l'étage bioclimatique semi-aride à tendance continentale : un hiver humide et froid, un été sec et chaud et une saisons intermédiaires courtes (**Bennabi, et al., 2012**). La région de Sidi Bel Abbas est caractérisée par une variété hétérogène du type des sols, on peut citer quelques-uns :

- Les sols à sesquioxydes de Fer ; ce sont des sols rouges ou bruns.
- Les sols bruns calcaires ; ce sont des sols caractérisés par la présence des pierres.

Les vertisols ; ce sont des sols lourds à couleur noirâtre ou brun foncé (**Faraoun, 2002**).

---

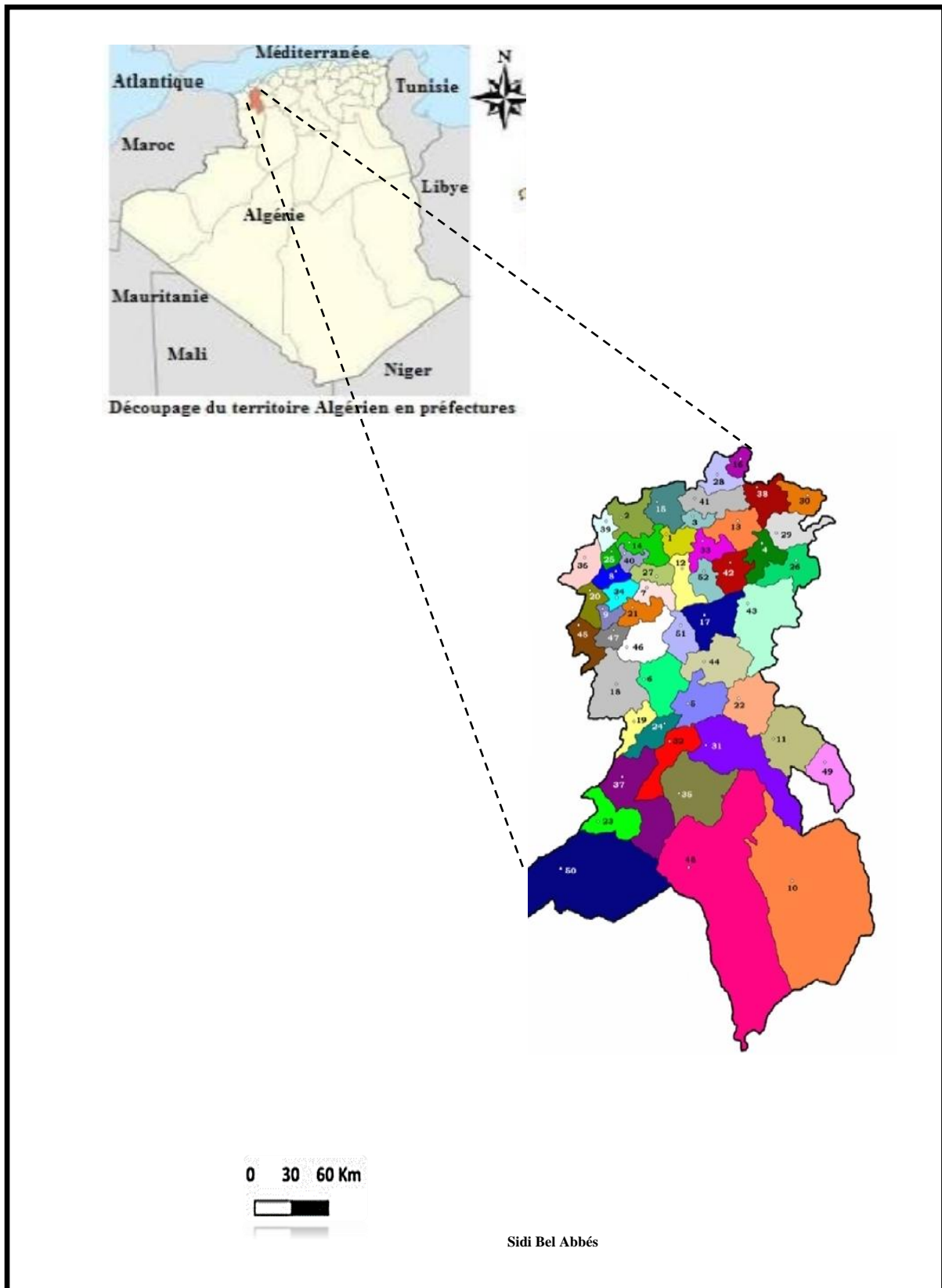


Figure 02 : Présentation de la wilaya de Sidi Bel Abbès D.S.A

### ❖ Présentation de la station de culture (ITCMI de la wilaya de Sidi Bel Abbès)

La station ITCMI (Institut technique des cultures maraichères et industrielle) est située dans la commune de Sidi Bel Abbès, elle est traversée par l'axe routier reliant la commune de Sidi Bel Abbès et la commune de Tabia. La station occupe une superficie de 14,39 ha (Figure 03). Les zones impacts de la station de Sidi Bel Abbès sont ; Tiaret, Saida et Tlemcen. Les principales productions de l'institut de Sidi Bel Abbès sont ; la pomme de terre, la tomate industrielle, l'ail, l'oignon, la menthe, le persille, le fenugrec et l'artichaut, Céleri...etc.

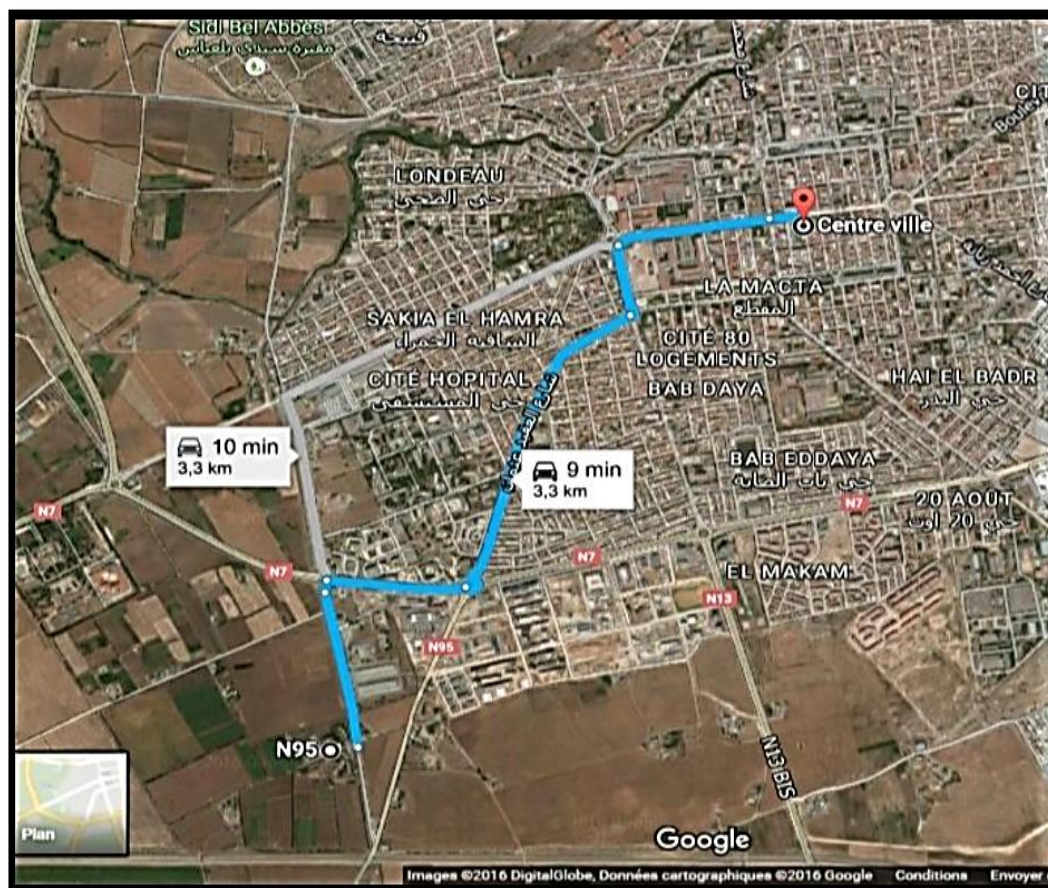


Figure 03 : Localisation de l'ITCIM de Sidi Bel Abbès (Google Earth, 2016)

## 5.2. Matériel végétal utilisée

### ▪ La mise en culture d'*Apium graveolens*

Le matériel végétal utilisé pour notre étude correspond aux feuilles et aux graines du Céleri, les graines d'*Apium graveolens* sont cultivée au niveau de la station. La culture a été mené le mois de septembre dans une serre spéciale constitué de deux parcelles de dix mètres de longueur et de trois mètres de largeur ; au niveau de l'institut technique des cultures maraichères et industrielle (ITCMI) de la wilaya de Sidi Bel Abbès et la récolte a été faite à la fin de mois février 2016 (Figure 04).





Figure 04 : Parcelles réservées à la culture du céleri (Cliché Dellal, 2016).

### 5.3. Matériel biologique utilisé

#### Mise en élevage

Les activités biologiques *in vivo* entamées au cours de ces travaux de recherche, sont testées sur des rats et des souris de type wistar, qui nous ont été fournis par l'animalerie de l'institut pasteur d'Alger en 2014 mois d'avril. Leur élevage a été mené au sein de la faculté de la science de la nature et de vie, UDL sidi bel abbés, La température de la loge est comprise entre (20 et 25 °C), avec un taux d'humidité de 75% et une photopériode de 12/24 heures. Les souris sont logées dans des cages en propylène transparentes avec des dimensions



et une structure qui répondent parfaitement aux lignes de bons usages, ils étaient nourris avec un régime standard sous forme de bâtonnets avec un libre accès à l'eau. Avant chaque expérimentation, le matériel biologiques est mis à jeun.

Nous signalons que les études *in vivo* ont été effectuées conformément aux lignes directrices actuelles pour les soins des animaux de laboratoire et des directives éthiques pour l'enquête de la douleur expérimentale chez des animaux conscients (Zimmerman, 1983).



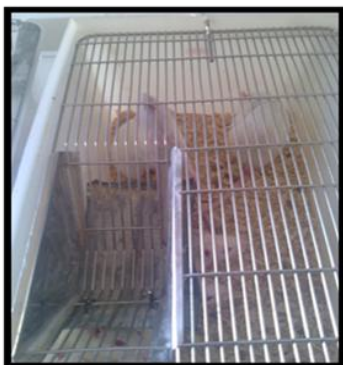
A



B



C



D1



D2



D3

Figure 05 : Les étapes d'élevage des rats au niveau de l'animalerie (cliché Dellal, 2016).

A : Accouplement.

B et C : La mise bas.

D1, D02 et D03 : Les lots des rats prêts à utilisés (poids 160 à 200 gr).

---

## 5.4. Méthodologie retenue

Nous rappelons que ce travail de recherche consiste à mettre en valeur le potentiel phytochimique et les activités biologiques d'un condiment (Céleri) qui a toujours été utilisé par la population algérienne.

De ce fait, nous avons jugé important de commencer tout d'abord par l'étude ethnobotanique qui représente l'étude de base de l'ethnopharmacologie et sur la quelle on se réfèrera dans le choix des différentes activités biologiques.

### 5.4.1. Etude ethnobotanique

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes, pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. Ainsi, même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (**Tabuti et al., 2003**). En effet, il existe environ 500000 espèces de plantes sur terre, dont 80000 possèdent des propriétés médicinales (**Quyoun 2003**).

L'Algérie reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, la richesse de la flore algérienne en plantes médicinales et aromatiques est incontestable. Leurs utilisations dans la médecine traditionnelle sollicitent l'intérêt récent des études scientifiques. (**Basli et al, 2012**).

C'est ainsi que L'enquête ethnobotanique s'avère indispensable pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique (**Babar et al.,2007**). De nos jours beaucoup des guérisseurs traditionnels, ont puisé leur secret, en valorisant ces plantes dans le traitement de plusieurs maladies graves.

- Pour ces raison-là, nous avons menés une enquête ethnobotanique, dans l'objectif est d'identifier les différentes utilisations médicinales traditionnelles de l'espèce étudiée, à travers les savoirs populaires et ethnique, ainsi que l'utilisation de différentes parties de cette plante et enfin révéler le potentiel curatif de l'*Apium graveolens*, l'étude contribue aussi, à rassembler les informations précieuses sur l'espèce étudiée, prêt à être exploitée sur le plan scientifique.

Cette étude est indispensable car, elle permet de cibler les axes de recherche phytochimiques ; elle sert aussi comme un trait d'union entre les deux médecines (conventionnelle et traditionnelle).



▪ L'enquête a été menée dans la wilaya de Sidi Bel Abbés (la ville) durant les mois de Mai, Juillet et Aout de l'année 2017 et a porté sur l'utilisation, le mode d'emploi et les maladies traitées par la plante, sujet de notre étude.

▪ **La population enquêtée**

Afin d'avoir une meilleure représentativité de la région et une base d'information assez riche nous avons procédé à un échantillonnage aléatoire. La fiche technique d'enquête ethnobotanique a été remplie auprès de 300 personnes dont 180 de sexe féminin et 120 de sexe masculin. La tranche d'âge des enquêtées, dont les niveaux intellectuels sont différents, varie entre 25 ans à plus que 65 ans.

Dans le but d'assurer une grande objectivité des données obtenues de notre étude, l'enquête est réalisée à l'aide d'une fiche d'enquête ou questionnaire. Ce dernier préétabli s'articule autour de quatre axes :

- 1) Information relative au profil de l'informateur (âge, sexe, niveau d'étude, situation familiale...).
- 2) Choix entre les deux médecines (moderne et traditionnelle).
- 3) Données relatives à la nature et aux techniques pharmaceutiques de préparation de la drogue végétale utilisée (partie utilisée, mode de préparation, doses).
- 4) Informations relatives aux types des maladies traités par la plante étudié.

▪ **Méthode d'étude retenue**

Une fiche d'enquête ethnobotanique selon le modèle ci-dessous (Figure 06) est soumise aux enquêtés au cours de l'entretien individuel. Lors de chaque entretien nous avons collecté toutes les informations sur l'enquêté, comprenant son âge, son sexe, son niveau d'étude, sa situation familiale, les données recueillies pour la plante comprennent les usages, la partie utilisée, le mode de préparation, le mode d'administration et les doses utilisées.

|  |
|--|
| <p><b>Sexe :</b>      <input type="radio"/> Homme      <input type="radio"/> Femme</p> <p><b>Age :</b> <input type="radio"/> 20 à 30 ans <input type="radio"/> 30 ans à 50 ans <input type="radio"/> 50 à 80 ans</p> <p><b>Situation familiale :</b>    <input type="radio"/> Mariées    <input type="radio"/> Célibataires</p> <p><b>Niveau intellectuel :</b> <input type="radio"/> niveau universitaire <input type="radio"/> secondaire <input type="radio"/> primaire    <input type="radio"/> analphabètes</p> <p><b>Utilisation de la plante</b></p> <p>Plante médicinale</p> <p>Cosmétique</p> <p>Consommable (Condimentaire).</p> <p>Toxique</p> <p><b>L'état de la plante :</b></p> <p>Fraîche</p> <p>Sèche</p> <p><b>Parties utilisées :</b></p> <p>Feuilles</p> <p>Tige</p> <p>Graines</p> <p>La plante entière</p> <p><b>Mode d'utilisation :</b></p> <p>Infusion</p> <p>Macération</p> <p>Décoction</p> <p>Poudre</p> <p>Cataplasme (préparation pâteuse)</p> <p><b>Doses utilisées :</b></p> <p>Par pincée</p> <p>Par cuillère</p> <p>Par poignée</p> <p>Doses non précises</p> <p><b>Maladies traitées par la plante :</b></p> <p>Inflammation</p> <p>Rhumatismes</p> <p>Douleurs musculaires</p> <p>Spasmodique</p> <p>Diarrhée</p> <p>Cicatrisation</p> <p>Antiseptique</p> <p>Anti-diabète</p> <p>Anticholestérol</p> <p>Amaigrissante</p> <p>Vomissement</p> <p>Bronchite</p> <p>Rénales</p> <p>Bain de bouche</p> <p>Autres</p> |
|--|

Figure 06 : Fiche de questionnaire utilisée pour l'enquête ethnobotanique

---

### 5.4.2. Etude phytochimique

Avant d'entamer le volet du potentiel phytochimique, des réactions caractéristiques sont entreprises permettant de mettre en évidence la présence ou l'absence de ces composées naturelles il s'agit d'un screening phytochimique.

#### Screening phytochimique

Le test phytochimique a pour but de révéler la présence ou l'absence des composées phytochimique recherchés, qui se manifeste soit par la formation d'un précipité, ou par une coloration caractéristique du composé.

Le teste est effectué dans des tubes à essai, sur des extraits hydroalcooliques végétaux ou sur des infusés à 10% (**Dohou et al., 2003 ; N'Guessan et al., 2009**).

Les résultats de la recherche de ces groupes chimiques sont présentés comme suite :

- +++ : réaction fortement positive.
- ++ : réaction positive.
- + : réaction moyennement positive.
- : réaction négative.

#### 1. Détermination des tanins

❖ **Préparation de l'infusé** : Dans un erlenmeyer de 250 ml on introduit 5 gr de poudre végétale dans 100 ml d'eau distillée bouillante en laissant infuser pendant 15 mn puis on filtre sur de papier filtre et on rince le résidu avec un peu d'eau distillé chaude, de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

**Recherche des tanins** : On introduit dans un tube à essai 5 ml de l'infusé à 5%, ajoutant goutte à goutte environ 1ml de solution aqueuse diluée de  $\text{FeCl}_3$  à 1% ; en présence des tanins, il se développe une coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu noirâtre (tanins galliques). (**Mouellet, 2005**).

#### 2. Détermination des flavonoïdes

- **Détermination des proanthocyanidols**

À 2 ml d'infusé sont additionnés 2 ml d'acide chlorhydrique concentré ; le tout est laissé pendant cinq minutes dans un bain-marie bouillant ; l'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive (**Mouellet, 2005**).

- **Détermination des Flavanes**

2 ml d'infusé à 5 % sont rajoutées à 2 ml d'acide chlorhydrique concentré renfermant 2% de vanilline (2 g de vanilline dans 100 ml d'acide chlorhydrique). L'apparition d'une coloration rouge indique que la réaction est positive (**Mouellet, 2005**).

- **Détermination des Anthocyanes**

2 ml d'infusé à 5 % sont mélangés avec 2 ml d'acide chlorhydrique 12 N. L'apparition d'une couleur rose-rouge qui vire au bleu-violacée après addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes.

### **3. Détermination des quinones (dérivés anthracéniques)**

- **Préparation de l'extrait** : à 1g de poudre on ajoute 10 ml de chloroforme concentré (pure) et on chauffe pendant 3 mn sur bain-marie. Filtrant à chaud et on complète à 10 ml avec le même solvant si nécessaire.

- **Réaction de borntager**

À 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, on ajoute 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (ammoniaque) à 10 %, puis on agite. Une coloration plus au moins rouge indique la présence d'antraquinones libres (**Mouellet, 2005**).

### **4. Détermination des saponosides**

- **Test de mousse**

Dans un tube à essai un ml d'infusé est agité vigoureusement pendant 2mn. L'observation de mousse indique la présence de saponoside dans la drogue (**Brain et Turner, 1975**).

- **Test d'émulsion**

5 gouttes d'huile d'olive sont ajoutées à 1ml d'infusé dans un tube à essai et la mixture est agitée vigoureusement. La formation d'une émulsion stable indique la présence de saponoside.

### **5. Détermination des glucosides**

- **Réaction à l'acide sulfurique**

Mettre deux gouttes de l'acide sulfurique concentré sur une masse de poudre végétale. En présence des glucosides. La masse se colore en rouge brique, puis en violet.

### **6. Détermination des composés réducteurs**

À 5 ml d'infusé on ajoute quelque goutte de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré, auquel on ajoute une solution aqueuse de  $\text{KMnO}_4$  (de couleur violet foncé), le changement de couleur (transparent) indique la présence des composés réducteurs dans la drogue végétale (**Trease et Evans, 1987**).

## 7. Détermination des Terpénoides

Pour 0,5 g d'extrait ; nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à la surface indique la présence des terpénoïdes (Ayoola et al., 2008).

### 5.4.3. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de quelques paramètres expérimentaux la nature de solvant organique méthanol, éthanol, sa concentration et le temps d'extraction sur la teneur des polyphénols : phénols totaux (PT), flavonoïdes (FLV) et les tanins condensés (TC) contenus dans les feuilles et les graines de l'*Apium graveolens*.

#### Protocole expérimental

Les feuilles et les graines récoltées sont lavées à l'eau distillé puis séchées à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 21 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des composés naturels. Ainsi, selon Bruneton (2009) cette méthode de séchage ne dégrade pas les principes actifs de la plante. Les échantillons ont été ensuite broyés et réduits en poudre par un broyeur à couteau muni d'un filtre à mailles de type (IKA A11), pour obtenir une poudre à structure granulaire homogène. La poudre obtenue est conservée dans de petits sacs étiquetés.

L'extraction des composés phénoliques a été faite selon le protocole décrit par (Chew et al, 2011), 20 gr de poudre de feuilles et de graines d'*Apium graveolens* sont introduits dans un bécher de 500 ml et mélangés avec 200 ml de solvant organique à différentes concentrations ; pour éviter l'exposition à la lumière et l'évaporation du solvant, le bécher est scellé avec du parafilm et enveloppé avec du papier aluminium. Ensuite le mélange est agité de manière occasionnelle. Après l'extraction, l'extrait est filtré en utilisant du papier whatman n°1. Les extraits obtenus sont conservés dans des tubes à vis bien fermé et étiqueté (Figure 7).

Pour déterminer les conditions d'extraction optimales des polyphénols à doser, les paramètres d'extraction testés et leurs variations sont fixés en fonction de la conception expérimentale ci-contre :

- **Type d'organe** : Feuilles et graines.
- **Type de solvant organique** : (méthanol, éthanol).
- **Concentration du solvant organique** : pour chaque type de solvant organique trois concentrations sont préparées dans de l'eau distillé (40%, 60%, 80%).
- **Durée d'extraction** : trois durées sont choisies (120 mn, 180 mn, 240 mn).

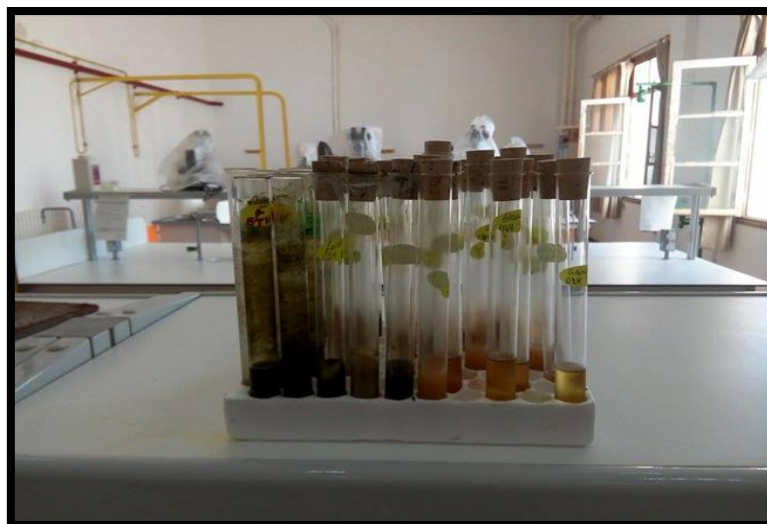


Figure 07 : Différents extraits obtenus selon les conditions choisies (cliché Dellal, 2016).

#### 5.4.4. Dosage des composés phénoliques

##### A. Dosage des phénols totaux (PT)

##### Méthode adoptée

Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par (**Singleton et al., 1965**). Le réactif de Folin-Ciocalteu d'une couleur jaune, est composé par un mélange de deux acides : l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{15}O_{43}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). En présence des phénols totaux dotés d'une capacité réductrice lors de la réalisation du test, ces deux acides vont être réduits en deux substances chromogènes qui donnent au mélange une couleur bleu. L'oxyde de tungstène et de molybdène issus successivement de l'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolybdique génèrent une coloration bleu proportionnelle à la concentration de phénols totaux présents dans le mélange. Le spectre de la lecture est compris entre 725 et 765 nm (**Ribéreau-Gayon, 1968 ; Macheix, et al., 2005**).

##### ▪ Mode opératoire

Chaque extrait avec une quantité de 200  $\mu$ l a été mélangé à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et à 2 ml de  $H_2O$ , et incubés à la température ambiante pendant 4 min. Après l'addition de 0,8 ml de bicarbonate de sodium de 7,5% au mélange, les phénols totaux étaient déterminés après 30 mn d'incubation dans l'obscurité à la température ambiante. L'absorbance est lue par un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS, à 765 nm contre un blanc, contenant la même composition à l'exception des échantillons, qui sont remplacés par 200 $\mu$ L de méthanol. L'acide gallique est utilisé pour l'élaboration de la courbe d'étalonnage (voir annexe A1)

---

---

- **Expression des résultats**

La concentration des phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec l'acide gallique et exprimée en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g).

- **B. Dosage des flavonoïdes (FLV)**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (**Zhishen et al,1999**) avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et la soude (NaOH) utilisés lors de cette expérience vont former des liaisons avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes aboutissant à la génération d'une coloration jaune ( $AlCl_3$ ) et rose (NaOH). La solution devient rosâtre en fin d'expérience, et absorbe la lumière dans le visible à 510 nm.

- **Mode opératoire**

A 500 $\mu$ L de l'extrait on ajoute 1500  $\mu$ l d'eau distillée. 150  $\mu$ l de nitrite de sodium ( $NaNO_2$ ) à 5% est ensuite ajouté, et le mélange est mis en incubation pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante. L'étape suivante consiste à ajouter 150  $\mu$ l de  $AlCl_3$  à 10% et à réincuber le tout dans les conditions précédemment mentionnées durant 6 min. En fin, 500  $\mu$ l NaOH à 4% est additionné au mélange ; la lecture est tout de suite réalisée. Par ailleurs, la courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine, utilisée comme standard, à différentes concentrations (voir annexe A1).

- **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plante étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g) (voir annexe A1).

- **C. Dosage des tanins condensés (TC)**

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de la vanilline décrite par **Julkumen-Titto (1985)**. En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde (**Ghedadba et al., 2015**).

### ▪ Mode opératoire

Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait brut est ajouté à 1500  $\mu\text{l}$  de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750  $\mu\text{l}$  de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif (voir annexe A1).

### ▪ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g EM).

## 5.4.5. Extraction et dosage des huiles essentielles d'*Apium graveolens*

### A. Extraction des huiles essentielles

#### ▪ Dispositif expérimental

L'extraction des huiles essentielles (HE) des graines de céleri a été faite par un hydro distillation le dispositif est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation.

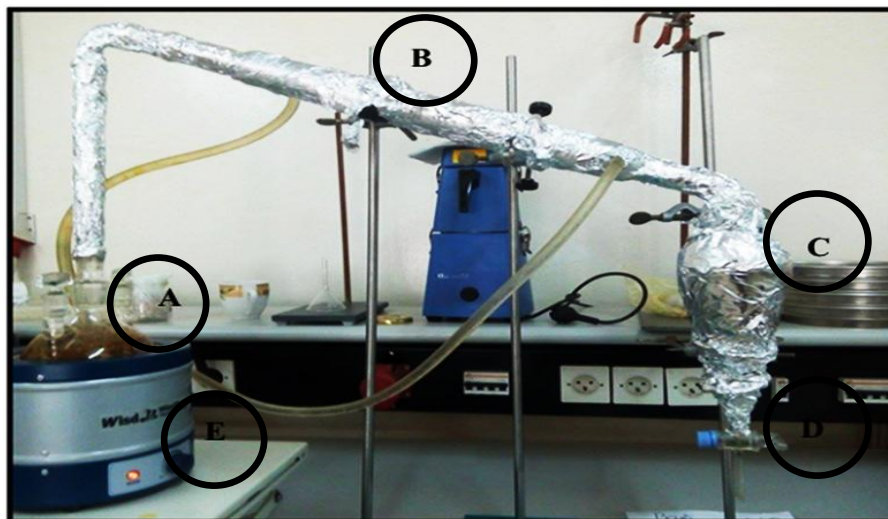


Figure 08 : Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (cliché Dellal, 2016)

A : chauffe ballon ; B : réfrigérant ; C : ampoule à décanter ; D : les deux phases (organique et huileuse) ; E : chauffe ballon.

#### ▪ Procédé d'extraction

Le protocole adopté pour l'extraction des huiles essentielles est celui de norme (Afnor, 2008) ; Cents grammes (100g) des graines de l'*Apium graveolens* sont mises dans un ballon en verre pyrex, additionnées de 1000 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition,



après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position verticale pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures.

Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. En fin, le distillat est recueilli dans un flacon.

#### ▪ Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (Burt,2004). C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle obtenue à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

#### ▪ Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (2008), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération de l'huile essentielle, le rendement est calculé selon la méthode

Suivante 
$$R \% = \frac{M' \times 100}{M}$$

R% : rendement en HE en (g)

M' : Masse de l'huile essentielle extraite

M : Masse de la matière végétale utilisée

### B. Dosage qualitatif des huiles essentielles

#### ▪ Caractérisation des composés chimiques des huiles essentielles par Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/SM

La composition des huiles essentielles est très complexe. Terpènes, Aldéhydes, Cétones, phénols, Lactones, esters, en sont les composants principaux ; très volatiles, les huiles essentielles ne rancissent pas ; elles sont solubles dans l'huile fixe et dans l'alcool, mais pas dans l'eau. La détermination de la composition chimique des huiles essentielles a été faite par (CPG/SM).

Le principe de cette technique de couplage consiste en une séparation des solutés dans le premier appareil (CPG). Ces derniers pénètrent ensuite dans l'ordre de leur élution dans le spectromètre de masse (SM) où ils vont subir une ionisation, puis une dissociation en fragment chargés positivement pour être analysés qualitativement (Marroki, 2007).

Nous signalons que ce volet de la thèse a été réalisé au niveau du laboratoire d'Instrumentation et Sciences Analytiques (LISA), université de Marseille (France).

#### ▪ Conditions opératoires

Les analyses GC de notre huile essentielle a été effectuées sur un chromatographe Agilent Technologies GC équipé d'un système de chromatographie en phase gazeuse GC 7890A, un détecteur de spectromètre de masse MS 5975C VL MSD et une colonne capillaire HP-5MS J&W Scientific (30 m x 0,25 mm ; Epaisseur 0,25  $\mu$ m).

L'acquisition et le traitement des données ont été effectués en utilisant le logiciel MSD Chemstation (Agilent). 1 microlitre de HE dilué (0,05 g dans 1,5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) a été injecté.

Les conditions expérimentales étaient :

- Délai solvant : 2 min ;
- Gaz vecteur : hélium ;
- Débit de fuite : 1,2 mL/min ;
- Split ratio : (60 : 1) ;
- Températures injecteur et détecteur : 250°C ;
- Température du four : 2 min à 80 °C, ensuite 80 °C jusqu'à 200 °C (5 °C/min), puis 200 °C jusqu'à 260 °C (20 °C/min), et pour finir un maintien de la température pendant 5 min ;
- Tension d'ionisation : 70 eV ;
- Multiplicateur d'électrons : 1 kV.

#### ▪ Méthode de caractérisation

L'identification des composés a été basée sur la comparaison des spectres de masse des molécules avec les spectres disponibles dans les bibliothèques de spectres de masse Wiley et NIST. D'autres confirmations d'identification sont fondées sur les indices de Kovats (**IK**) et font référence à des données de l'indice de rétention générées à partir d'une série de standards connus de mélange d'alcane (C8-C28) dilué dans le dichlorométhane dans les conditions opératoires décrites ci-dessus.

#### ▪ Calcul de l'indice de Kovats

Les indices de kovats (KI) sont calculés par rapport aux temps de rétentions des différents constituants (repérés aisément sur les chromatogrammes) et les temps de rétentions d'une série d'alcane linéaire (C10-C12- C14-...C28).

La formule pour le calcul des indices de Kovats utilisée est la suivante :

$$KI = 100xZ + 100x \frac{(Trx - Trz)}{(Trz+1 - Trz)}$$

**KI** : indice de Kovat.

**Z** : nombre de carbone d'alcane.

**Trx** : temps de rétention du composé x de l'huile essentielle.

**Trz** : temps de rétention de l'alcane qui précède le **Trx**.

**Trz+1** : temps de rétention de l'alcane qui suit le **trx**.

#### 5.4.6. Détermination des différentes activités biologiques

##### A) Préparation de l'extrait hydroalcoolique

L'extrait hydroalcoolique est obtenu par macération de la poudre des feuilles, à raison de 100 g dans 1000 ml d'un mélange qui contient de l'éthanol et de l'eau distillé (80% : 20%) (v/v), pendant soixante-douze heures sous agitation manuelle par intermittence (les meilleures conditions d'extraction : nature de solvant, concentration et durée de macération), ont été adoptées pour préparer l'extrait végétal utilisé dans cette étude.

Pour éviter l'exposition à la lumière et l'évaporation du solvant, le mélange est placé dans un flacon ; ce dernier est scellé avec du parafilm et enveloppé avec du papier aluminium. Le mélange a été placé à l'abri de la lumière et à la température du laboratoire durant l'opération (**Amouzoun et al., 2008**). Après extraction, l'extrait est filtré en utilisant du papier whatman n°1.

La solution obtenue a été évaporé sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à une température de 40 °C.

L'extrait obtenue a été conservé et stocké au réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de son l'utilisation (**Basli et al., 2012 ; Kanoun, 2014**).

**Calcul de rendement** : le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (M/M_0) \times 100$$

**R%** : le pourcentage de rendement obtenu.

**M** : Masse de l'extrait obtenu

**M<sub>0</sub>** : Masse végétale utilisé

##### B) Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été réalisée in vitro en utilisant comme test celui du DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl), selon le protocole décrit par **Sanchez-Moreno (2002)**. Le radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) de couleur noir, prend une couleur violette après dissolution dans le méthanol. L'addition des antioxydants à cette solution permet la réduction des radicaux libres en DPPH-H d'une couleur jaune. La décoloration de la solution ou plutôt la migration de la couleur violette vers la couleur jaune est proportionnelle à la concentration et au potentiel réducteur des composées rajoutées.

---

---

- **Mode opératoire**

2,5 mg de DPPH ont été dissoute dans 100 ml de méthanol. Des dilués de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens* dans le méthanol à des concentrations décroissantes ont été préparés, 50 µl des solutions des extraits ont été ajoutés à 1,96 ml de DPPH. Les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes et la décoloration comparée au contrôle négatif contenant seulement la solution de DPPH. La lecture spectroscopique a été faite à 517 nm

Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{(\text{ABS Blanc} - \text{ABS échantillon}) \times 100}{\text{ABS Blanc}}$$

### C) Détermination de la toxicité aiguë

Avant d'entamer les activités biologiques *in vivo* de l'espèce étudiée, un test de toxicité est indispensable, pour connaître la dose limitée qu'il ne faut pas dépasser (DL<sub>50</sub>).

Toutes les substances chimiques sont toxiques lorsque les doses administrées dépassent un seuil donné. 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. Les essais de toxicité accompagnent donc systématiquement les essais d'activités biologiques au cours de la sélection de nouvelles molécules.

Donc, l'évaluation de la toxicité aiguë est la première étape dans l'investigation toxicologique des substances inconnues. L'index de la toxicité aiguë est la (DL<sub>50</sub>).

La DL<sub>50</sub> correspond à la dose capable de tuer, dans des conditions déterminées, la moitié des animaux mis en expérience. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien : mort ou survie des animaux.

La DL<sub>50</sub> permet de mesurer la toxicité d'une substance et d'établir des classes de toxicité (Oduola *et al.*, 2007). La classification des substances toxiques par voie orale a été faite selon [OECD, Paris, France]. Selon cette classification : la substance est très toxique (<5 mg /kg) ; toxique (5-50 mg /kg) ; nocif (50-500 mg /kg P.C) et non toxique (500-2000 mg / kg P.C) (Walum, 1998).

- **Dispositifs et préparation des lots**

Les souris ont été mises à jeun 17 heures avant l'expérimentations, six lots de cinq (5) souris comprenant autant de mâles que de femelles sont constitués au hasard (Figure 9) ; Chaque lot

reçoit une dose unique de l'extrait hydroalcoolique de notre plante à raison de 10ml/kg selon (OREI) Bureau de l'éthique de la recherche et de l'intégrité université de Melbourne (2016). Les doses administrées sont exprimées en mg/kg de poids corporel de l'animal. L'administration du produit est réalisée par gavage à l'aide d'une sonde rigide à bout olivaire (Bruneton, 2009). Pour ce test, des lots de souris reçoivent par voie orale des doses croissantes du produit à tester.

Des lots de cinq souris ont reçu par voie orale des doses de 500, 1000, 3000, 5000, 10000 mg/kg de poids corporel d'extrait. Après l'administration des extraits, les animaux ont été observés pendant les deux heures qui suivent, à l'issue des quelles ils sont alimentés. Ils ont été ensuite observés pendant 24, 48 et 72 heures au cours des quelles les symptômes d'intoxications tel que (mort, agitation, respiration, asthénie) ainsi que les taux de mortalité ont été notés.

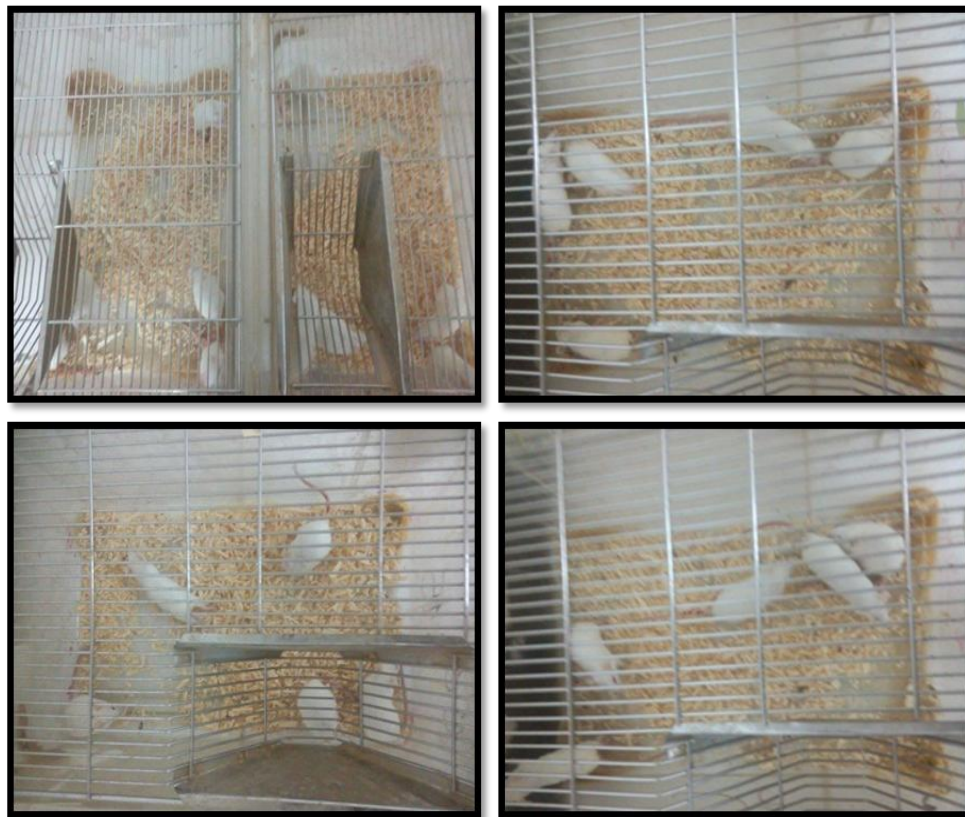


Figure 09 : Lots des souris destinés pour le test de toxicité de l'espèce (cliché Dellal, 2016).

---

**D) Détermination de l'activité anti-inflammatoire****• Description (L'œdème de la patte induit par la Carragénine)**

De l'antiquité à nos jours, l'homme s'est toujours donné les moyens de combattre l'inflammation ; ces moyens efficaces ou non, lui sont souvent fournis par son environnement naturel et sont essentiellement à base de plantes. L'inflammation est cliniquement définie comme un processus physiopathologique caractérisé par la rougeur, l'œdème, la fièvre, la douleur, l'hyperthermie et la perte de fonction. Bien que les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, actuellement utilisés, traitent des désordres inflammatoires aigus, ces médicaments conventionnels n'ont pas été couronnés de succès pour guérir des désordres inflammatoires chroniques comme la polyarthrite chronique évolutive et la dermatite atopique ou (eczéma) (Kim, 2004).

Parmi les plantes réputées pour leurs propriétés médicinales figure le cèleri (*Apium graveolens L.*). Les feuilles de céleri sont utilisées traditionnellement comme anti-inflammatoire (Mencherini, 2007).

Les rats sont des deux sexes, en nombre égal, de 02 mois à 03 mois, pesant (160 à 220) grammes, et regroupés en cinq (05) groupes par lots de (05). Les femelles ne sont pas gravides et les animaux sont sains. Les rats sont logés dans des cages en plastique transparent, les dimensions ainsi que la structure répondent aux lignes de bons usages.

**▪ Mode opératoire**

L'étude de l'activité antiinflammatoire de notre extrait a été réalisée sur les rats wistar provenant de l'institut pasteur (Alger) et élevés au sein de la loge (animalerie), au niveau de faculté de science de la nature et de vie UDL sidi bel abbés. Ils sont de deux sexes, de 02 à 03 mois.

Les rats ont été mises à jeun 16 heures avant l'expérimentation. Les études in vivo ont été effectuées conformément aux lignes directrices actuelles pour les soins des animaux de laboratoire et des directives éthiques pour l'enquête de la douleur expérimentale chez des animaux conscients.

**▪ Induction de l'inflammation par la carragénine**

L'activité anti-inflammatoire a été réalisée sur le modèle de l'œdème plantaire induit chez le rat (Wistar mâles et femelles, 160-220 gr) par l'injection d'une suspension à 1 % (0.1 ml) de carragénine dans la patte droite ; c'est une technique inspirée de celle décrite par (Winter *et al.*, 2006) et (Adeyemi *et al.*, 2002). L'inflammation chimique a été provoquée par l'injection de 0,1 ml de carragénine à 1 % dans une solution saline isotonique sous

l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat. L'extrait hydroalcoolique étudié d'*Apium graveolens* a été administrer par voie orale (gavage) ; 30 min avant l'injection de la carragénine.

#### ▪ Dispositifs expérimentaux

Les rats ont été mis à jeun 16 heures avant le traitement et divisés en cinq groupes de cinq rats chacun :

**Groupe 1** : Le groupe témoin (non traité) : reçoit une solution saline isotonique de NaCl 0,9 % (10 ml/kg PC), par gavage, 30 min avant l'injection de 0,1 ml de carragénine à 1 %. (Figure 10).

**Groupe 02** : Le groupe référence, dans ce groupe les rats reçoivent, par gavage l'indométacine à une dose de (12mg/kg), 30 min avant l'injection de 0,1 ml de carragénine à 1 %. (Mokhort et Riabukha, 1971).

**Groupe 03** : Le groupe traité reçoit par gavage, l'extrait hydroalcoolique à base de notre espèce végétale à des différentes doses (200 mg/kg, 300 mg/kg et 500 mg/kg) (Figure 11), et de la même manière que pour les deux autres groupes, une injection sous-cutanée de carragénine lui ont été administrée, 30 minutes après.



**Figure 10** : Injection de carragénine au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat (Cliché Dellal, 2016)



Figure 11 : Gavage de l'extrait végétale à l'aide d'une sonde à gavage (Cliché Dellal, 2016)

#### ▪ Mesure des œdèmes des pattes inflammées

L'évaluation de l'œdème a été suivie par l'enregistrement du diamètre en millimètre de la patte inflammée, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 6h après l'injection de carragénine à l'aide d'un pied à coulisse digital de type (caliper within 300mm iso 9001 :2000) (Figure 12).

Pour chaque groupe, les diamètres moyens obtenus à ces différents relevés ( $V_t$ ) ont été comparés à ceux obtenus avant tout traitement ( $V_0$ ), permettant ainsi de calculer les pourcentages d'œdème (pourcentage d'inflammation), selon la formule :  $(V_t - V_0) / V_0 \times 100$ . Tandis que le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été calculé à partir de la formule :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{(V_t - V_0) \text{ témoin} - (V_t - V_0) \text{ traité}}{(V_t - V_0) \text{ témoin}} \times 100 \text{ (Lanhers, 1992).}$$

$V_0$  : représente le volume de la patte à T=0 (avant injection de la carragénine).

$V_t$  : représente le volume de la patte à un temps T quelconque.





Figure 12 : Evaluation de l'œdème à l'aide d'un pied à coulisse digital (Cliché Dellal, 2016)

### E) Détermination de l'activité analgésique centrale et périphérique

La douleur est l'un des problèmes de santé les plus importants en raison de sa prévalence et du handicap qu'elle peut induire. Les douleurs chroniques peuvent être la conséquence de maladies inflammatoires ou de dommages aux tissus tels que les lésions nerveuses dans le cas de la douleur neuropathique. En Europe, la douleur chronique touche environ 17 à 45% de la population (Elliott et al., 2002). Dans les pays en voie de développement les plantes médicinales sont largement utilisées par les populations et sont source de nouveaux composants actifs, traitant spécialement la douleur et les processus inflammatoires (Calixto et al., 2004 ; Télesphore et al., 2010). De plus, la douleur chronique est souvent résistante à la thérapie existante, un grand besoin de recherche de nouveaux médicaments se fait ressentir.

Au cours de cette étude, l'activité analgésique périphérique et centrale de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'*Apium graveolens L* a été mise en relief, le matériel biologique choisi pour cette expérimentation sont des souris wistar.

#### E).1. Activité analgésique périphérique

Nous indiquons que les activités analgésiques périphériques et centrales, ainsi que l'activité antipyrétique, ont été testés sur des souris (20 à 30 gr) de poids et non pas sur des rats.

---

---

- **Test de Koster (constriction abdominales)**

**Protocole expérimentale**

L'effet analgésique du remède naturel est évalué suivant le nombre de constriction abdominales induites par l'injection intrapéritonéale (IP) de l'acide acétique (0,6%) v/v selon la méthode décrite par (Seighmund *et al.*, 1957) et (Sawadogo *et al.*, 2006).

Une heure après l'administration de l'extrait par gavage, les animaux reçoivent par voie intrapéritonéale de l'acide acétique 0,6% à la dose de 10 ml/kg. Le principe consiste à compter, cinq minutes après l'injection de l'acide acétique, le nombre de constriction abdominale chez chaque souris durant 15 minutes (Figure 13).

Les souris ont été mise à jeun 18 heures avant l'expérimentation pour éviter toute interaction digestive alimentaire. Des lots de cinq souris ont été constitués.

**Groupe 1** : Le groupe témoin (non traité)

Les souris (n=05) reçoivent de l'eau distillée (10ml/kg) par gavage, une heure avant l'injection de l'acide acétique 0,6% à la dose de 10 ml/kg par voie intrapéritonéale.

**Groupe 02** : Le groupe de référence (paracétamol 100 mg/kg)

Les souris reçoivent, par gavage du paracétamol à une dose de (100mg/kg), une heure avant l'injection de l'acide acétique 0,6%.

**Groupe 03** : le groupe traité (Extrait hydroalcoolique)

Les souris (n=05) reçoivent par gavage l'extrait hydroalcoolique à des doses de (200mg, 300mg et 500mg/kg) respectivement, une heure avant l'injection de l'acide acétique 0,6% à la dose de 10 ml/kg par voie intrapéritonéale.

- **Mesure de l'effet Analgésique**

L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \left\{ 1 - \frac{W_t}{W_b} \right\} \times 100$$

**W<sub>b</sub>** : représente la moyenne du nombre de constriction des souris du lot témoin (non traité).

**W<sub>t</sub>** : représente la moyenne du nombre de constriction des souris du lot traité.



Figure 13 : constriction abdominale induite par l'injection de l'acide acétique 0,6% (Cliché Dellal, 2017).

▪ **Test au formaldéhyde**

**Protocole expérimentale**

L'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique a été évalué, aussi suivant le temps de léchage de la patte, provoqué par l'injection de 20  $\mu$ l de la solution de formaldéhyde à (2,5%) au niveau de la patte postérieure droite des souris suivant la méthode décrite par (Wibool *et al.*, 2008).

Une heure après l'administration de l'extrait végétal par gavage, les animaux reçoivent l'injection de 20  $\mu$ l de la solution de formaldéhyde (2,5%) à la patte postérieure droite. Le principe consiste à compter le temps de l'échappement de la patte traitée pendant les cinq premières minutes, puis entre 15 et 30 mn qui suivent.

Les souris sont à jeun, 18 heures avant l'essai pour éviter toute interaction digestive alimentaire. Des lots de cinq souris ont été constitués.

**Groupe 1** : Le groupe témoin (non traité)

Les souris (n=05) reçoivent de l'eau distillée (10 ml/kg PC : poids corporelle), une heure avant l'injection de 20 µl de la solution de formaldéhyde (2,5%) à la patte postérieure droite.

**Groupe 02** : Le groupe de référence (paracétamol 300 mg/kg)

Les souris reçoivent par gavage du paracétamol à une dose de (300mg/kg), une heure avant l'injection de 20 µl de la solution de formaldéhyde (2,5%) à la patte postérieure droite.

**Groupe 03** : le groupe traité (Extrait hydroalcoolique)

Les souris (n=05) reçoivent par gavage l'extrait hydroalcoolique à des doses de (200mg, 300mg et 500mg/kg), une heure avant l'injection de 20 µl de la solution de formaldéhyde (2,5%) à la patte postérieure droite.

#### ▪ Mesure de l'effet Analgésique

L'effet analgésique a été déterminé en fonction de la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \left\{ 1 - T_t / T_c \right\} \times 100$$

$T_t$  : est le temps (en secondes) de léchage des souris traitées avec les extraits et les substances de référence.

$T_c$  : est le temps (en secondes) de léchage des souris non traitées.

### E).2. Activité analgésique centrale

#### ▪ Test de Tail-Flick

Le matériel utilisé au cours de cette expérimentation et reporté en (Annexe C).

### Protocole expérimentale

Ce test est utilisé pour évaluer l'action analgésique centrale, l'essai a été effectué selon la méthode décrite par (Singh, 1996). Le principe de ce test est d'explorer l'activité analgésique centrale des substances en utilisant un stimulus thermique sur la queue des souris. Dans notre étude la mise en évidence de l'effet analgésique centrale a été étudié in vivo chez des souris d'un poids corporel entre 24 et 30 g.

Dans le test Tail-Flick la méthode consiste à tremper la queue de la souris dans l'eau chaude à 55°C, et à étudier avant et après l'administration de l'extrait, avec une période de repos de 15 secondes (afin de ne pas endommager la queue), le réflexe de retraitement de la queue de l'animal. Avant tout traitement, nous avons procédé à un tri des animaux. Seuls les souris présentant un temps de retraitement de la queue inférieur ou égal à 06 secondes seront retenues pour l'expérience. C'est le temps de réaction normal (Alaoui et al., 1998).

La méthode du tail flick utilisant le stimulus thermique met en jeu un réflexe spinal, mais pourrait aussi impliquée les structures neuronales. Cette méthode permet d'identifier les

analgésiques centraux (**Le Bars, 2001**). Les stimuli thermiques sont sélectivement inhibés par les analgésiques centraux et non par les analgésiques périphériques (**Sayyah, 2004**).

Le temps de la réaction a été enregistré dès que l'animal retire sa queue. Ce temps est enregistré après 0 min, 30 min, 60 min, 90 min et 120 min de l'administration de l'extrait et les autres traitements.

Les souris sont réparties en trois lots de 05souris chacun ont été mis à jeun pendant 18 heures avant l'expérimentation.

### **Groupe 1** : Le groupe témoin (non traité)

Les souris (n=05) reçoivent de l'eau distillée (10 ml/kg PC : poids corporelle) par gavage et sert comme un contrôle.

### **Groupe 02** : le groupe de référence (Tramadol 30 mg/kg PC).

Les souris (n=05) reçoivent du Tramadol à une dose de 30 mg/kg.

### **Groupe 03** : Traité (Extrait hydroalcoolique)

Les souris (n=05) reçoivent par gavage l'extrait hydroalcoolique à des doses de (200 mg, 300 mg et 500 mg/kg) respectivement.

En effet les médicaments à effet analgésique centrale sont connus pour être sélectifs des stimuli thermiques douloureux, contrairement aux analgésiques à action périphérique (**Chang, 1989**). Dans la présente étude, nous avons utilisés le Tramadol comme analgésique centrale.

#### ▪ **Mesure de l'effet Analgésique**

L'effet analgésique a été déterminé en fonction de la formule suivante :

$$\% \text{ de l'activité analgésique} = \left\{ \frac{T_a - T_b}{T_b} \right\} \times 100$$

**T<sub>a</sub>** : Le temps pris par l'animal pour retire sa queue à chaque intervalle du temps.

**T<sub>b</sub>** : Le temps pris par les animaux du groupe témoin.

### **F) Détermination de l'activité antipyrétique**

La fièvre est un symptôme observé au cours de multiples pathologies infectieuses et inflammatoires. Elle peut occasionner des convulsions hyperthermiques, La fièvre et la douleur ont une même cause sous-jacente (une production excessive de prostaglandines), comme la douleur, la fièvre n'est pas une maladie en soi mais un signal. Dans la grande majorité des cas, il ne s'agit pas d'une réaction nocive. Les antipyrétiques sont des médicaments utilisés dans le traitement de la fièvre. De nombreuses molécules ont des effets antipyrétiques parmi lesquelles le Paracétamol et les anti-inflammatoires non stéroïdiens qui sont également douées de propriétés antalgiques.

---

**Protocole expérimentale**

Dans cette partie nous avons évalué l'effet antipyrétique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'*Apium graveolens* selon la méthode d'écrite par (Sawadago *et al.*, 2006).

Après la prise de température rectale, les souris ont reçu, par voie sous-cutanée dans la région dorsolatérale, une suspension aqueuse de levure (20%) a raison de 1 ml pour 100 gr de poids corporel pour provoquer l'hyperthermie.

Les animaux ont été mis à jeun, 17 heures après l'injection de la suspension ; la température rectale a été prise de nouveau chez chaque souris, seules les souris qui présentent une augmentation de température de 0,5C° à 1C° sont sélectionnées et répartie en cinq lots (à raison de six souris par lot), recevant respectivement l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens* à des doses de 200mg/Kg, 300mg/Kg, 500mg/Kg, la substance de référence paracétamol 150mg/Kg et de l'eau distillé. Le gavage est le mode d'induction choisie pour cette expérimentation.

Une heure après l'administration des extraits la prise de température a été effectué à chaque heure est cela pendant cinq heures (Figure 14).



Figure 14 : Prise de température rectale par un Thermomètre médicale (Cliché Dellal, 2017).

---

## G) Détermination de l'activité cicatrisante

**G. 1.** Avant la réalisation de l'activité cicatrisante un teste de draize (test d'irritation cutané) est indispensable, il nous permet d'avoir une idée sur le degré d'irritation dermique de l'extrait utilisé dans cette activité cicatrisante.

### ▪ Protocole expérimentale

On dépose à l'aide d'une seringue de 1ml, 0.5 ml de produit liquide, 0.5ml ou 0.5g pour le produit semi-liquide et pâteux et 0.5 g pour le produit solide sur une compresse, appliqué ensuite sur le flanc scarifié et le flanc normal. La gaze ainsi imbibée est recouverte par le parafilm, ce dernier est recouvert d'une bande adhésive. Les rats sont remis dans leurs cages.

**Observation de l'irritation cutanée :** Vingt-quatre heures plus tard, les pansements sont ôtés, les résultats sont lus au bout d'une demi-heure par au moins deux personne distinctes, une seconde lecture est faite 72 heures après l'application du produit. L'irritation cutanée a été appréciée aux sites d'application (scarifié et non scarifié) à l'aide d'une échelle d'évaluation numérique permettant de coter les érythèmes et la formation d'œdème.

L'évaluation porte sur la formation de l'érythème et de l'œdème qui sont notés suivant une Échelle numérique (voir Annexe E).

**G.2.** Le principe de l'activité cicatrisante consiste à créer des brûlures chez des animaux, préalablement anesthésiés puis à les traiter avec les extraits à tester selon le protocole expérimental adopté par (Belfadel, 2009) et (Arab, 2016).

Les extraits choisis pour ce test sont : l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens* L et aussi les huiles essentielles extraites des graines d'*Apium graveolens* L, ils sont testés sur les rats wistar.

A cet effet le dispositif ci-contre est appliqué :

### ▪ Choix des animaux et pesé

20 rats de type wistar mâles et femelles dont répartis en 04 groupes homogènes. Ils sont âgés de 02 à 03 mois, avec un poids compris entre 180 gr et 250 gr. Le poids de chacun est reporté en dans (Annexe E).

### ▪ Mise au point du type et de la dose de l'anesthésie

Pour se rassurer du type et de la dose de l'anesthésie exacte à administrer aux rats, un teste préliminaire a été effectué avant l'expérimentation. Trois rats ont été sélectionnés au hasard, pour ajuster la dose, le temps et le type de l'anesthésie.

Le choix est donc porté sur le thiopental comme produit anesthésiant, en testant trois doses 25 mg/kg, 35 mg/kg et 40 mg/kg, le temps d'induction est de 03 mn à 5 m, et le temps d'anesthésie est de 30 mn à 02 h.

Le matériel utilisé pour cette activité (produits et instruments) et reporté en (Annexe E).

- **Mise au point de la technique de brûlure et de la surface brûlée**

Afin d'ajuster la température du poinçon et le temps d'application sur la peau, un essai préliminaire doit être effectué sur trois rats, dans l'objectif d'avoir une idée sur les différents degrés de brûlure, et faire le choix de la brûlure du deuxième degré, en se référant à la règle des 09 de wallace (Kyle, 1950) et le travail de recherche réalisé par (Arab, 2016).

- **Mode opératoire**

### **Etape 1 : Répartition des rats par lot et marquage individuel des animaux**

Les rats sélectionnés et pesés ont été répartis de façon randomisée en quatre lots à raison de cinq par lot. Pour la différenciation des lots, on a attribué à chacun, une couleur spécifique. Et pour la différenciation de chaque rat au sein du même lot on a procédé au marquage individuel en numérotant chaque rat au niveau de la queue.

Chaque lot doit recevoir le produit à tester de la façon suivante :

**Le lot 1** : correspond au lot des rats testant la cicatrisation physiologique sans traitement surajouté.

**Le lot 02** : correspond au lot des rats testant la cicatrisation suite au traitement par l'extrait hydroalcoolique.

**Le lot 03** : correspond au lot des rats testant la cicatrisation suite au traitement par l'huile.

**Le lot 04** : correspond au lot des rats testant la cicatrisation suite au traitement par l'hibermine.

### **Etape 02 : Préparation de l'anesthésie**

Avant l'expérimentation une dose de 40 mg/Kg de thiopental est préparée et injectée par voie IP à chaque rat. L'induction est obtenue au bout de 3 à 5 min et l'anesthésie dure pendant 1 heures. Voir (Figure 15).





A



B

Figure 15 : Mise au point de l'opération d'anesthésie (Cliché Dellal, 2017).

A : Matériel biologique soumis sous anesthésie.

B : Produit utilisé comme anesthésie thiopental à la dose de 40mg/Kg.

### Etape 03 : Epilation des animaux

L'étape d'épilation vient juste après la fin de l'induction, l'animal est inconscient et ne répond pas aux stimuli nocicepteurs. L'épilation va porter sur les deux flancs ainsi que toute la partie dorsale de l'animal. Afin d'éviter le risque de contamination par les poils, cette étape est réalisée dans une salle séparée de celle où se déroulent les étapes suivantes (Figure 16).

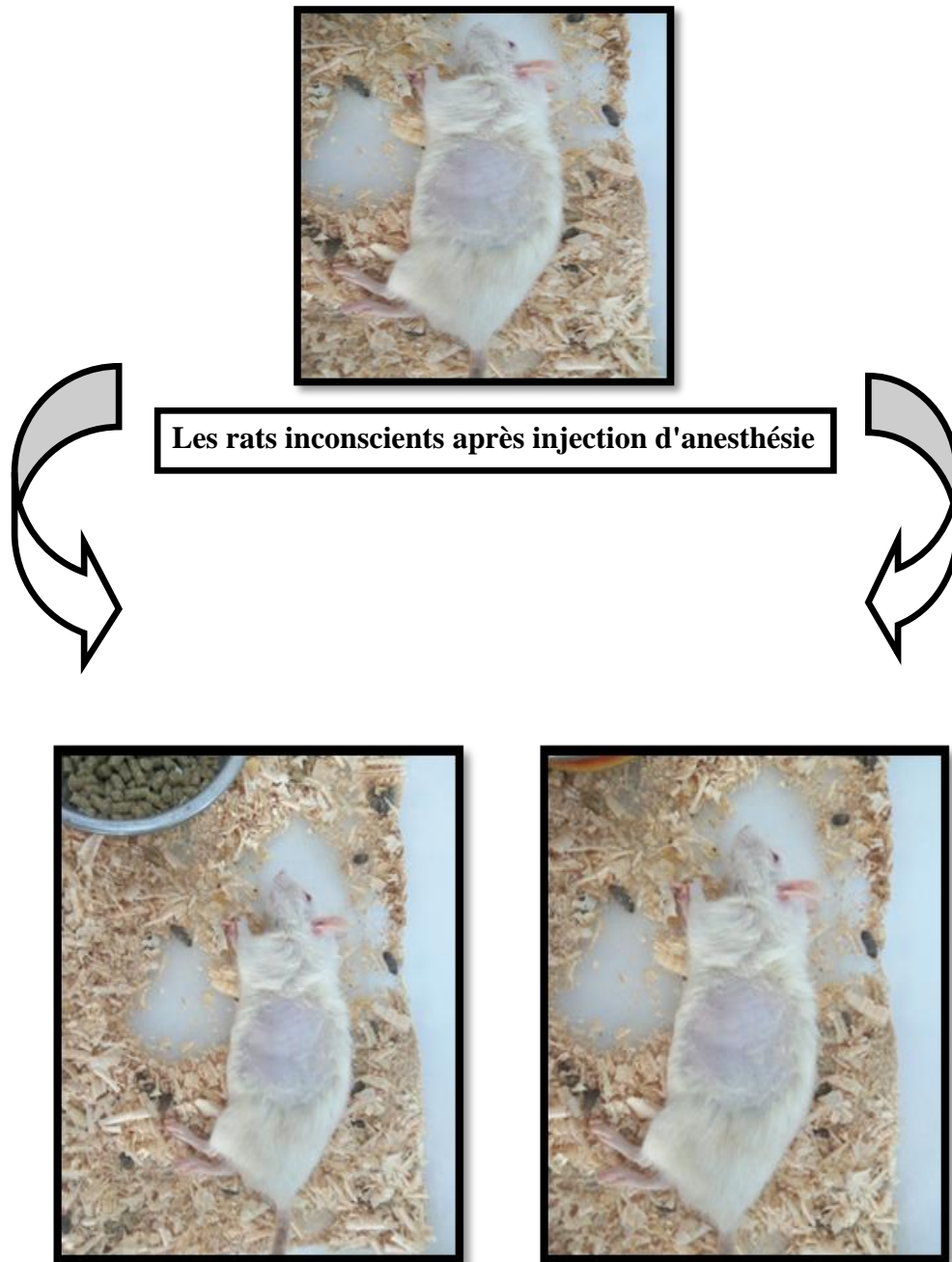


Figure 16 : Épilation des animaux après injection d'anesthésie (Cliché Dellal, 2017).

#### Etape 04 : Brûlure

Le poinçon est alors chauffé au contact de la flamme du bec Bensen, pendant 20 secondes à une température de 110 °C. L'animal est toujours inconscient et insensible aux stimuli nociceptifs, On pose le poinçon sur le flanc de l'animal, sans exercer de pression, pendant 05 secondes. On va procéder de la même manière pour tous les rats des quatre lots. (Figure 17).



Figure 1 : Brûlure au niveau du flanc de l'animal (Cliché Dellal, 2017).

### Etape 05 : Application du produit à tester

Chaque lot a reçu un produit dont on veut tester l'effet cicatrisant, par rapport à un lot témoin, correspondant à la cicatrisation physiologique spontanée (Figure 18).

**Lot 1** : témoin négatif, aucun traitement, application de deux compresses stériles.

**Lot 02** : teste la cicatrisation suite au traitement par l'extrait hydroalcoolique application de 0,5gr de l'extrait à chaque fois.

**Lot 03** : traitement par l'huile de l'*Apium graveolens* à raison de 50 $\mu$ l à chaque fois.

**Lot 04** : traitement par la crème cicatrisante à base d'hebermine 0,5 g à chaque fois.



Figure 18 : Application des produits testés après brûlure (Cliché Dellal, 2017)



**Etape 06 : Fixation avec des bandes adhésives**

Le produit appliqué est recouvert de parafilm, puis fixé par deux rubans adhésives URGO de 4x20 cm<sup>2</sup> (Figure 19).



Figure 19 : La fixation avec des bandes adhésives (Cliché Dellal, 2017).

**Etape 7 : Administration d'un analgésique**

Chaque rat reçoit une injection par voie IP d'une solution analgésique de paracétamol (à une concentration de 10 mg/ml), l'injection sera renouvelée toutes les 24 h pendant trois jours. (Figure 20).

**Etape 08 : Mise en cage**

Les rats sont hébergés dans des cages individuelles. Les cages, la sciure dépoussiérée et les biberons doivent être stérilisés ils sont renouvelés tous les deux jours (Figure 21).



Figure 20 : Les rats logés dans des cages après application des traitements (Cliché Dellal, 2017).

**Etape 09 : Renouvellement de l'application**

48 heures après, Les étapes 5, 6, 7 et 8 sont renouvelées. Et par la suite toutes les 72 heures, pendant 21 jours.

**Etape 10 : Etude planimétrique avec mesure de la surface brûlée.**

A la fin de cette opération, une étude planimétrique est mise en œuvre, pour évaluer l'activité cicatrisante des extraits étudiés, les longueurs et les largeurs de la brûlure sont

mesurées tous les 03 jours pendant 21 jours à l'aide d'un pied à coulisse, pour calculer la surface de la brûlure, les moyennes et les écarts types sont calculés.

- **Technique de mesure** : On a considéré l'axe le plus long de la plaie et le deuxième axe, le perpendiculaire, en conservant l'angle de 90°.

Le pourcentage de la réduction de la surface de la brûlure par rapport à la surface initiale a été mesuré selon la méthode décrite par (Kim et al. 2008).

$$S = \frac{(S_{J1} - S_{Jn})}{S_{J1}} \times 100$$

$S_n$  : Surface brûlée en  $cm^2$

$S_{J1}$  : Surface brûlée en  $cm^2$  le premier jour.

$S_{Jn}$  : Surface brûlée en au  $n^{ième}$  jour.

## H) Détermination de l'activité antimicrobienne (Test de sensibilité)

Les plantes aromatiques et médicinales « PAM » constitue une source de substances ayant des vertus thérapeutiques diverses, utilisées depuis l'Antiquité dans la pharmacopée traditionnelle de nombreux pays. Ces extraits volatils ont été utilisés en traitement des maladies infectieuses présentes avant la découverte des micro-organismes (Buchbauer, 2011). Les limites de l'antibiothérapie, vis-à-vis des bactéries multi-résistantes nous incitent à chercher de nouvelles possibilités, pour lutter contre celles-ci. L'essor actuel de la thérapie par des substances d'origine végétale telles que les huiles essentielles offrent de nouvelles perspectives thérapeutiques. En effet, depuis quelques années, un intérêt accru est porté sur les huiles essentielles ayant montré des propriétés antibactériennes (Kempf et al., 2011).

Dans ce contexte, notre travail consiste à évaluer l'activité antimicrobienne à travers le teste biologique, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ; ce dernier constitue le meilleur précurseur permettant de découvrir les substances bioactives des produits finaux obtenus (huile essentielle et l'extrait hydroalcoolique) sur des souches microbiennes. Cette étude a été réalisé au laboratoire de microbiologie, département de science de l'environnement, la faculté des sciences de nature et de vie Djillali liabés (Sidi Bel Abbés).

### ▪ Les souches microbiennes testées

Trois bactéries ont été utilisé pour évaluer l'activité antimicrobienne : deux bactéries (Gram-) *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*) et une bactéries Gram+ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus*).

Elles sont choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité. Les souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie (Institut Pasteur) d'Alger. Ce sont des lots de l'ATCC (American Type Culture

---

Collection). Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 heures à l'obscurité et à une température de 37°.

### *Escherichia coli*

Nous rappelons que *Escherichia coli* est une bactérie qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, un germe que l'on trouve le plus communément dans les intestins de l'homme et des animaux à sang chaud. Toutefois, à l'intérieure de cette espèce, on trouve quatre principaux types de souches pathogènes E-coli entéropathogène (EPEC), E-coli enterotoxinogène (ETEC), E-coli enteroinvasif (EIEC), E-coli enterohémorragique (EHEC). Ces souches pathogènes sont responsables de maladies intestinales qui varient en gravité, des formes bénignes jusqu' à des formes graves même être mortelle (**Joly et Reynaud, 2002**). Il en résulte que la lutte contre les maladies provoquées par ces souches passe nécessairement par une bonne hygiène personnelle et de l'éducation sanitaire du personnel chargé de manipulation des aliments (**Manil, 2004**).

### *Pseudomonas aeruginos*

Pour le *Pseudomonas aeruginos* ce germe appartient à la famille des Pseudomonaceae. Bacille à gram négatif, aérobie et très mobile, très répandu dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistant aux biocides et aux antibiotiques. Il s'agit de bactérie d'altération ou pathogène (parfois même mortelle). Un pathogène opportuniste puisqu'il va profiter de la diminution des défenses de l'organisme pour se développer. *aeruginos* est un modèle, utilise l'opportunité que représente la baisse des défenses immunitaires de l'organisme pour provoquer des dommages chez l'hôte (**Mann et al., 2000**).

### *Staphylococcus aureus*

Font partie de la famille des Micrococcaceae, et sont des germes ubiquistes que l'on trouve dans l'eau, l'air, la poussière, le lait, les sols et les eaux usées. Le principal réservoir et habitat est constitué par le nez, la gorge, la peau des animaux et des humains. Les toxi-infections alimentaires causées par *S. aureus* sont très fréquentes, se manifestent surtout en faveur d'une hygiène défectueuse. Les symptômes qui peuvent survenir dans les 2 à 4 heures qui suivent la consommation des aliments contaminés sont les nausées, les vomissements et parfois des diarrhées. Les complications liées à *S. aureus* peut être considérables, engendrant parfois des taux de mortalité de l'ordre de 20% (**Devrisse et al., 2005**). De bonnes pratiques sanitaires ainsi que le contrôle de la température sont nécessaires pour éviter la contamination, la prolifération et la production des toxines (**Vincenot et al., 2008**).

### H.1. Etapes à suivre pour l'évaluation de cette activité

#### ▪ Préparation de l'inoculum

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage sur gélose nutritive pré-coulée dans des boîtes de Petri, puis incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Pour préparer l'inoculum, trois à cinq colonies similaires bien isolées sont déchargées dans de l'eau physiologique stérile. La turbidité de cette suspension est ajustée à la suspension bactérienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex ; son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarlane, soit une densité optique égale 0,08 à 0,10, lue à une longueur d'onde de 620 nm, correspondant à  $10^8$  UFC/ml (**Gachkar, 2007**). Il est à signaler que la suspension ajustée devra contenir  $10^8$  UFC /ml (unités faisant colonies /ml).

Cet inoculum sert à ensemercer des géloses de Mueller Hinton coulées dans des boites de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (qui correspond à 20 ml pour les boites de 90 mm de diamètre) puis séchées à l'étuve à 37°C avant emploi (Figure 21), (Figure 22).

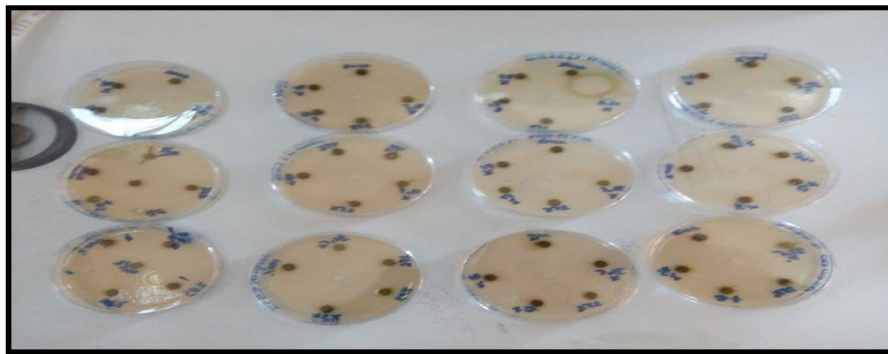


Figure 21 : Inoculum ensemercé dans des boîtes de Pétri coulées des géloses de Mueller Hinton (Cliché Dellal, 2017).



Figure 22 : Incubation des boîtes de Pétri (Cliché Dellal, 2017).

---

---

- **L'ensemencement**

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension, puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises, sur la totalité de la surface gélosée, de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60°C, après chaque application, pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, 03 boîtes de Pétri, (trois répétitions) sont écouvillonnées par le même écouvillon à condition qu'elles soient rechargées pour chacune d'elles.

- **Tests microbiologiques : technique de diffusion en milieu gélosé**

Le test de sensibilité des bactéries est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme), Son principe est inspiré de l'antibiogramme et consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion, de l'extrait sur le milieu solide et avec la création d'un gradient de concentrations entre le composé et le micro-organisme ciblé.

A l'aide d'un emporte-pièce stérile, des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose (**Janakat et al., 2005**). Chaque puits a reçu 50 µl de la substance à tester aux concentrations 100%, 75%, 50%, 25% et 12,5% (Huile essentielle et extrait hydroalcoolique de l'espèce). Après 30 min de diffusion à la température du laboratoire, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h. La présence ou non d'une zone d'inhibition est donc notée.

La lecture s'effectue par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo translucide autour de chaque puits ; la présence ou l'absence de l'halo expliquerait la sensibilité ou la résistance des germes vis-à-vis les extraits testés, selon une échelle de notation symbolique allant de – à +++ et dont la lecture d'après (**Ponce et al., 2003**), se fait comme suit :

Les résultats sont symbolisés par des signes suivant la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle : (–) : non sensible ou résistant ( $\emptyset < 08$  mm).

(+) : sensible ( $09 > \emptyset > 14$  mm).

(++) : très sensible ( $15 > \emptyset > 19$  mm).

(+++): extrêmement sensible ( $\emptyset > 20$  mm).

- **Antibiogramme**

Ce test a été réalisé avec la technique de la diffusion sur gélose et dans les mêmes conditions, pour étudier l'antibiogramme des germes utilisés et le comparer avec l'effet de l'extrait hydroalcoolique et de l'huile essentielle à différentes concentrations. A l'aide d'une pince métallique, des disques de papiers buvard de 06 mm de diamètre imprégnés d'antibiotiques commercialisés à des doses connus (Tableau 06), sont appliqués à la surface, à

---

---



des distances déterminées. Les boîtes sont ensuite incubées dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures.

**Tableau 06 : Liste des antibiotiques commercialisés utilisés**

| <b>Abréviations</b> | <b>Nom d'antibiotique</b> | <b>Charge</b> |
|---------------------|---------------------------|---------------|
| <b>AM</b>           | <b>Ampicilline</b>        | <b>10 µg</b>  |
| <b>E</b>            | <b>Erythromycine</b>      | <b>15 µg</b>  |
| <b>CT</b>           | <b>Colistine</b>          | <b>10 µg</b>  |

### **I) Analyse statistique**

Toutes les activités étudiées durant ce travail de thèse, ont été répétées trois fois (trois répétitions) et les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart-type. L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique (IBM SPSS. Statistics. Version 23. 2015), en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie du test LSD de test de Dunnett pour les comparaisons multiples. Les différences sont considérées significatives quand le seuil de probabilité de 5 % ( $p < 0,05$ ), hautement significative quand  $p < 0,1$  et fortement significative quand  $p < 0,01$ .

Toutes les données recueillies à partir des expériences d'extraction ont été centrées en utilisant trois mesures parallèles de  $\pm$  SD. Les données de RSM ont été analysées à l'aide d'un système d'analyse statistique. (STATISTICA version 10, Stat Soft. Inc. 2011. Tulsa, USA) et utilisé pour concevoir la conception rotative composite centrale et analyser les données expérimentales. L'analyse du modèle de régression (ANOVA) est également réalisée. La valeur  $p < 0,05$  était considérée comme significative ; très significative à  $p < 0,01$  et fortement significative à  $p < 0,001$ .

---

---

## **Chapitre VI : Résultats et discussion**

---

---

## VI. Résultats et Discussion

### 6.1. Enquête ethnobotanique

#### A. Fréquence d'utilisation de la plante selon le sexe et selon la situation familiale

Nous rappelons que l'enquête est portée sur une population constituée de 300 personnes dans la ville de Sidi Bel Abbes, cette population est répartie entre les deux sexes, dont 180 de sexe féminin (soit 60%), et 120 de sexe masculin (soit 40%). Les données récoltées à partir de l'enquête selon le sexe et la situation familiale, à révélé que les femmes utilisent beaucoup plus le céleri, comme condiment et comme traitement contre certaines maladies par rapport aux hommes. D'ailleurs 83.79% des femmes questionnées utilisent quotidiennement le céleri pour aromatiser les plats et pour ses vertus thérapeutiques, contre 19.87 % de la population masculine. Cette prédominance peut être expliquée par l'utilisation de cette plante par les femmes dans d'autres domaines que la thérapie, ou plus tôt par leurs responsabilités en tant que mères, ce sont elles qui donnent les premiers soins en particulier pour leurs enfants. (Figure 23). Ces résultats confirment d'autres travaux ethnobotaniques de (**Mehdioui et Kahouadji 2007**) et les travaux de **Bakiri Nouara (2016)**, ces résultats sont confirmés aussi par **Bouzid khadidja (2015)** et (**Benkhniue Ouafae, 2011**), qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel.

Ainsi, 89.17 % des utilisateurs sont les personnes mariées, en effet l'utilisation de la plante autant que médicament, leurs permettent d'éviter et de minimiser les charges matérielles exigées par les médecins et les pharmaciens (Figure 24).

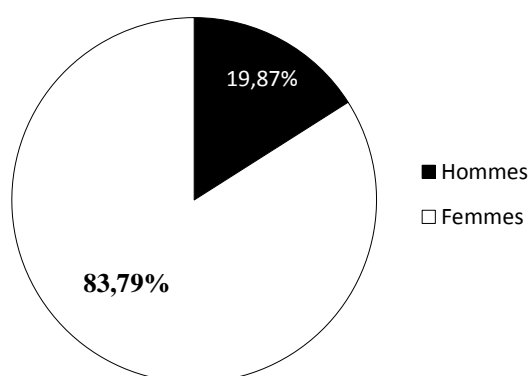


Figure 23 : Répartition des utilisateurs e selon le sexe

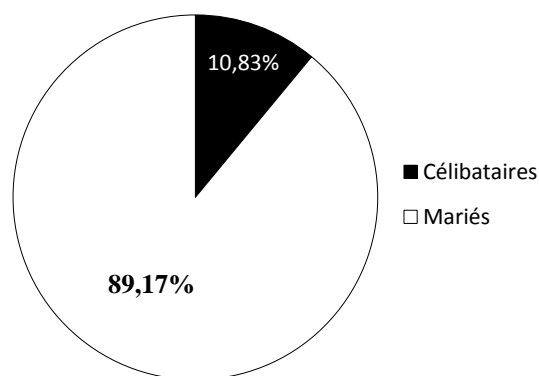


Figure 24 : Répartition des utilisateurs selon la situation familiale

#### B. Fréquence d'utilisation de la plante selon la classe d'âge

L'utilisation du Céleri par la population de Sidi Bel Abbés est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 50 à 80 ans avec 59,88%, Cependant, pour la tranche d'âge de 35 à 50 ans on note un taux de 29,36%. Cependant, et

pour les personnes âgées de 20 à 35 ans, les moins âgées, l'utilisation de Céleri n'est que de 10,76% et ne représente pas un grand intérêt thérapeutique (Figure 25). Les résultats obtenus montrent effectivement que les personnes les plus âgées ont plus de connaissances en plantes médicinales par rapport aux autres classes d'âges. Nos résultats sont semblables des résultats de **Benkhignie Ouafae (2011)** et celle de **Kechar kheira (2016)**, nos résultats obtenus sont on même rang que ceux de **Bakiri Nouara (2016)**.

D'ailleurs, la connaissance des propriétés et usages des plantes médicinales sont généralement acquises suite à une longue expérience accumulée et transmise d'une génération à l'autre. Les résultats obtenus montrent effectivement que les personnes qui appartiennent à la classe d'âge de 50 à 80 ans ont plus de connaissances en plantes médicinales, par rapport aux autres classes d'âges. L'expérience accumulée avec l'âge constitue la principale source d'information à l'échelle locale, au sujet de l'usage des plantes en médecine traditionnelle.

En revanche, on remarque aussi une perte d'informations sur l'utilisation de notre plante, chez la tranche d'âge 20 à 35 ans, ce qui s'explique par la méfiance de certaines personnes, particulièrement les jeunes, qui ont tendance à ne plus trop croire en cette médecine traditionnelle.

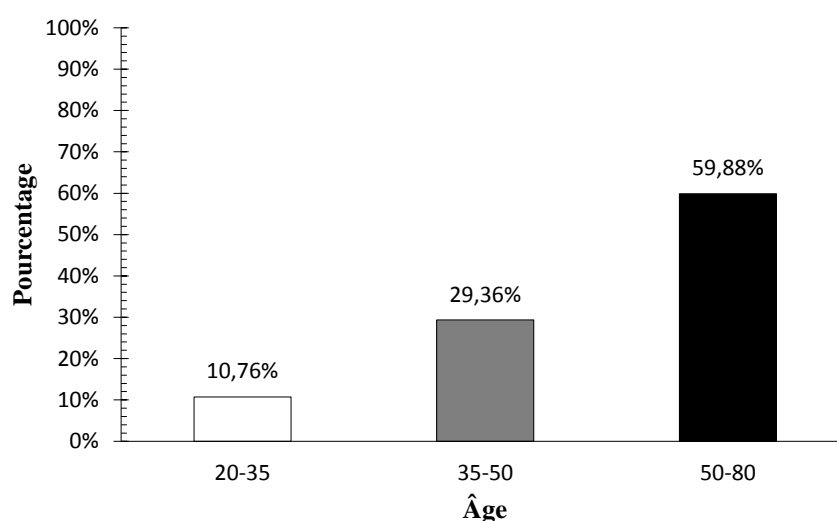


Figure 25 : Répartition de la population étudiée selon les tranches d'âge

### C. Utilisation de la plante selon le niveau académique

La grande majorité des gens enquêtés sont analphabètes 68%, ce pourcentage relativement élevé est en corrélation directe avec le niveau d'études de la population enquêtés. Néanmoins, les personnes ayant le niveau de l'école primaire ont un pourcentage d'utilisation non négligeable 26%, les personnes ayant le niveau universitaire utilisent très peu les plantes médicinales, avec un pourcentage de 6% ; ces derniers estiment que ces plantes permettent

seulement une amélioration de l'état de santé, d'ailleurs il y'a ceux qui croient que les plantes médicinales provoquent des effets secondaires, des états de toxicité et même une aggravation de la maladie surtout dans le cas des administrations orales de (Figure 26).

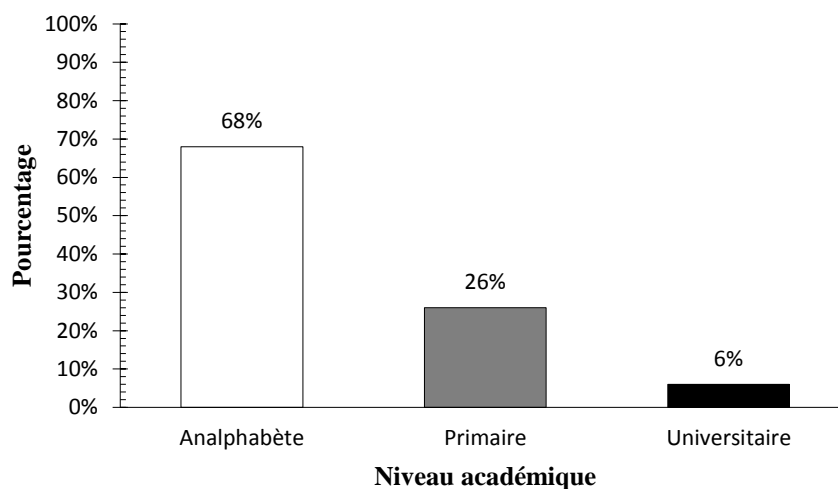


Figure 26 : Répartition de la population étudiée selon le niveau d'étude

#### D. Etat de la plante et partie utilisée

Notre enquête, menée sur le Céleri, a permis de constater que les gens l'utilisent beaucoup plus sous forme fraîche 62,40%, notamment la partie feuillage. Les parties végétales utilisées sont classées par ordre d'importance décroissante : les Feuilles (59,29%), les Graines (29,83%), et la plante entière (10,88 %). (Figure 27).

Pour ce qui est de l'utilisation des feuilles, cette fréquence élevée peut être expliquée par l'aisance et la rapidité de la récolte, aussi par la disponibilité dans les marchés, concernant l'utilisation des grains, cela peut être expliqué par la facilité de leur obtention chez les herboristes et leur stockage aussi.

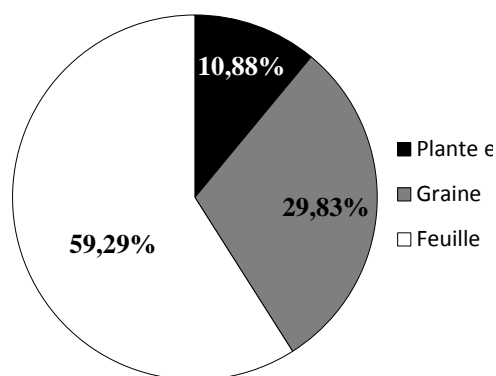


Figure 27 : Les parties de la plante utilisées

### E. Mode de préparation et doses utilisées

Afin de faciliter l'administration du principe actif, plusieurs modes de préparations sont employés à savoir la décoction, l'infusion, la fumigation, le cataplasme et poudre. La décoction et l'infusion sont les deux modes de préparation les plus utilisables avec un taux respectivement de 42,80 % et 36,29%, ces deux modes de préparation sont les plus utilisés, Ce pourcentage montre que la population locale croît au mode de décoction et le trouve adéquat pour réchauffer le corps et désinfecter la plante (Lahsissène *et al.*, 2010).

D'autre part, la décoction permet de recueillir le plus de principes actifs et atténue ou annule l'effet toxique de certaines recettes (Salhi *et al.*, 2010).

Les résultats de l'enquête indiquent aussi que 18,23% de la population enquêtées utilisent la plante sous forme d'une préparation pâteuse (cataplasme), et 2,68% de la population utilisent la plante sous forme fumigation pour les maladies respiratoire (figure 28).

On constate que 83% de la populations enquêtés utilisent les plantes médicinales avec des doses non précises, dont 14,60 % par pincée 38,50 % par cuillère et 29,90 % par poignée. La dose reste encore aléatoire ce qui se manifeste par des effets néfastes sur la santé car il ne se dit « aucune substance n'est poison elle-même, c'est la dose qui fait le poison ». Alors que 17 % de la population utilisent les plantes médicinales avec des doses bien précises (Figure 29).

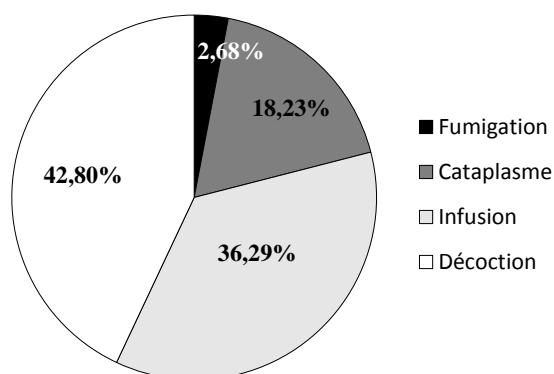


Figure 28 : Différents modes de préparation préconisés

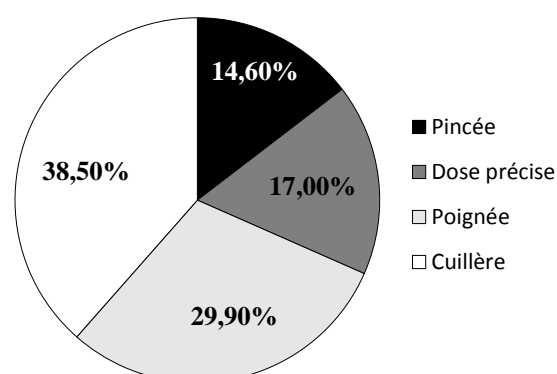


Figure 29 : Différentes doses adoptées

### F. Origine des informations sur les pratiques traditionnelles médicinales de la plante

62 % des enquêtées se référant aux expériences des autres, leurs grands-mères pour utiliser des plantes médicinales comme remèdes, contre des maladies bien déterminées (Figure 30) ; Ceci reflète l'image de la transmission relative des pratiques traditionnelles d'une génération à l'autre. 16% de la population se référant aux herboristes et les pharmaciens, alors que 22% de la population enquêtées se référant à eux-mêmes soit en consultant les livres de la

médecine traditionnelle arabe soit en suivant les programmes télévisés ou bien en se basant sur leur propre expérience grâce à l'existence de nombreuses plantes médicinales dans leur entourage.

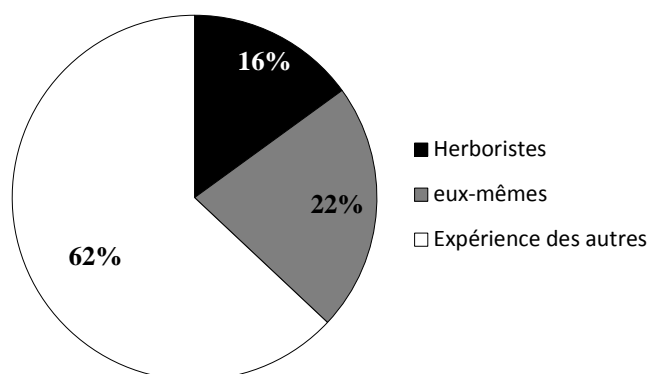


Figure 30 : Origine des informations sur les pratiques médicinales du céleri

### G. Différentes maladies traitées par le Céleri

Cette enquête nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par le Céleri, les résultats obtenus montrent que cette plante intervient dans le traitement des inflammations de divers genres 34%, les douleurs rhumatismales 26%, elle est très souvent utilisée pour traiter les lésions et guérir diverses plaies (cicatrisation) 15%, antispasmodique pour le ballonnement de ventre 9%, pour les maladies rénales 6%, 8% utilise la plante comme anticholestérol, bain de bouche contre les caries dentaire 3% (Figure 31).

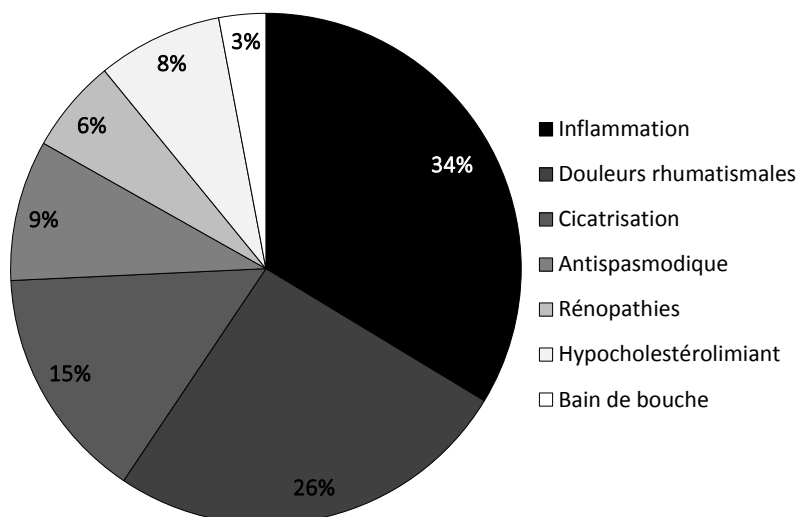


Figure 31 : Maladies traitées par le céleri selon les enquêtées.

L'étude ethnobotanique réalisée au cours de cette enquête nous permet de dire que la fréquence d'utilisation de Céleri (*Apium graveolens L*) comme plante médicinale dans le la wilaya de Sidi Bel Abbés est très liée au profil des personnes enquêtées. Ainsi, les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas le nom scientifique ni

l'utilité de la plante. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal partagé, avec un léger avantage allant aux femmes.

L'enquête ethnobotanique a révélé une multitude de résultats sur l'utilisation de la plante, sur les parties utilisées et sur les maladies traitées.

- Les analphabètes prédominent avec un taux de 68 %.
- Le feuillage et la graine constituent les parties les plus utilisées, ils occupent la première place avec un pourcentage de 88 %.
- Les inflammations occupent la première place, avec un taux de 34 %, suivies par les douleurs rhumatismales 26%, %, en troisième rang on trouve le pouvoir cicatrisant 15% et antispasmodique pour le ballonnement de ventre 9%, maladies rénales 6%.

En outre, ces résultats bien qu'ils soient préliminaires, ils nous ont permis d'établir une source d'information qui contribue à une connaissance plus profonde concernant l'utilisation traditionnelle de céleri d'une part, et d'autre part, constituer une base de données pour la valorisation de la plante en vue de découvrir de nouveaux principes actifs utilisables en pharmacologie.

## 6.2. Résultats de l'étude phytochimique

### 6.2.1. Résultats du screening phytochimique

Nous rappelons que les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existant dans la partie étudiée de la plante, par des réactions de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Selon le degré de la réaction entre les extraits à étudier et les réactifs utilisés dans le criblage phytochimique sont présentés dans le (Tableau 7) ci-contre :

Tableau 7 : Résultats du test de screening de l'extrait hydroalcoolique et aqueux.

| Composants          | Extrait hydroalcoolique | Extrait aqueux |
|---------------------|-------------------------|----------------|
| Tanins              | ++                      | ++             |
| Flavonoïdes         | +++                     | ++             |
| Flavanes            | ++                      | +++            |
| Anthocyanes         | -                       | -              |
| Quinones            | -                       | -              |
| Stéroïdes           | ++                      | -              |
| Saponisides         | +++                     | +++            |
| Glucosides          | +                       | -              |
| Composés réducteurs | ++                      | ++             |
| Terpenoïdes         | ++                      | +              |
| Proanthocyanidols   | +++                     | ++             |

+++ : Test fortement positif ++ : test moyennement positif + : test faiblement positif - : test négatif.



A l'exception des tests des anthocyanes, des quinones, des glucosides et des stéroïdes, les résultats de screening phytochimique montrent que tous les tests de caractérisation des groupes chimiques dans l'extrait hydroalcoolique sont positifs. Les tests préliminaires effectués sur les différents extraits d'*Apium graveolens L* révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpènes et des saponines, ces métabolites secondaires ont un large potentiel d'activités pharmacologiques, et sont de ce fait à l'origine des vertus thérapeutiques de notre plante, notamment les flavonoïdes et les saponisides qui ont une valeur thérapeutique importante.

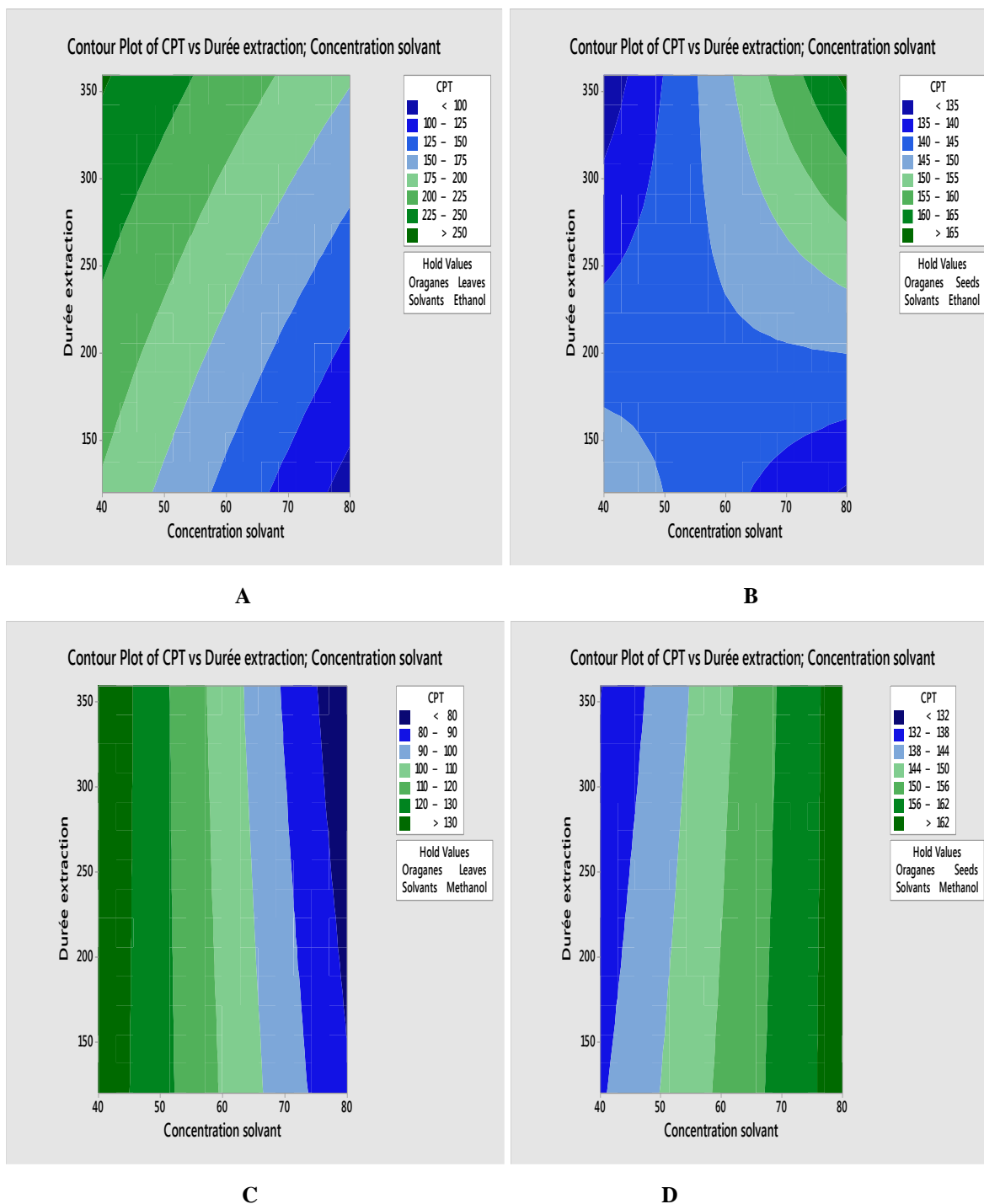
En revanche, (Baananou et al., 2013) ayant travaillé sur les familles d'*Apium graveolens* originaire de Tunisie ont prouvé eux aussi que l'extrait hydroalcoolique ainsi que l'extrait aqueux de leur plante renferment des composés naturels notamment les flavonoïdes, les tanins et les saponisides.

### **6.2.2. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols par la méthode de réponse de surface (RSM).**

Nous rappelons que l'objectif de cette étude est de chercher les meilleures conditions d'extraction des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins, à partir des feuilles et des graines du céleri en testant et en modifiant la nature du solvant, la concentration de solvant ainsi que la durée d'extraction en utilisant le RSM.

#### **▪ Optimisation d'extraction des phénols totaux (CPT)**

Les résultats dégagés de l'optimisation par la méthode de réponse de surface (Figure 32) nous a révélé un optimum des phénols totaux chez les feuilles de céleri avec une concentration prédit de (253,03mg EAG/g). Le diagramme de pareto (Figure 33) nous a donné un coefficient de régression de 2,086 avec une forte corrélation entre (A et C) c'est-à-dire entre l'organe (Feuille et la concentration du solvant utilisé). Pour la nature du solvant d'extraction, il s'est révélé que le solvant idéal pour les phénols totaux est l'éthanol avec une concentration de 40%.



**A** : Contour de surface de repense de l'interaction des phénols totaux contenus dans les feuilles et l'éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**B** : Contour de surface de repense de l'interaction des phénols totaux contenus dans les feuilles et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**C** : Contour de surface de repense de l'interaction des phénols totaux contenus dans les graines et éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**D** : Contour de surface de repense de l'interaction des phénols totaux contenus dans les graines et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**Figure 32 : Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des phénols totaux.**

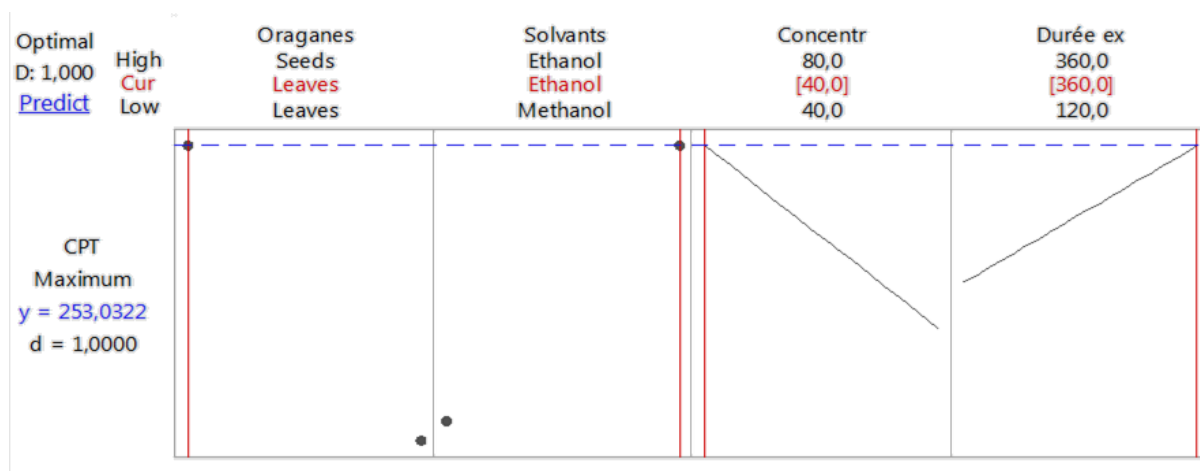


Figure 33 : Diagramme de Pareto des phénols totaux selon les trois prédicteurs (temps, durée et concentration du solvant).

En ce qui concerne la durée d'extraction, la meilleure durée est de 3 heures (Figure 34). Nos résultats rejoignent ceux trouvés par (Katalinic et al., 2010), (Mulinacci et al., 2004) et par (Koffi et al., 2010).

Le contenu en CPT a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction s'élève. En effet La prolongation du temps d'extraction des CPT fait donc accroître leur rendement. Des résultats similaires ont été obtenus par plusieurs auteurs tels que : (Chewet al., 2011), (Chirinos et al., 2007), (Drużyńska et al., 2007) et (Silva et al., 2007).

La comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques (prédites) des concentrations maximales en phénols totaux dosés montre que les deux ensembles de valeurs sont très proches. En effet, Les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de (251.58mg EAG/g) proche de la concentration prédique de (253,03mg EAG/g).

A cette effet l'analyse des résultats de la teneur en phénols totaux révèle que les feuilles sont l'organe le plus riche en phénols totaux (253,03mg EAG/g) par rapport aux graines, d'une part et d'autre part, un temps d'extraction prolongé favorise la diffusion et la solubilité des substances extraites. Il est a signalé aaussi que l'éthanol reste le meilleur d'extraction. Enfin, l'interaction entre les deux facteurs permet d'avoir le meilleur rendement en phénols totaux.

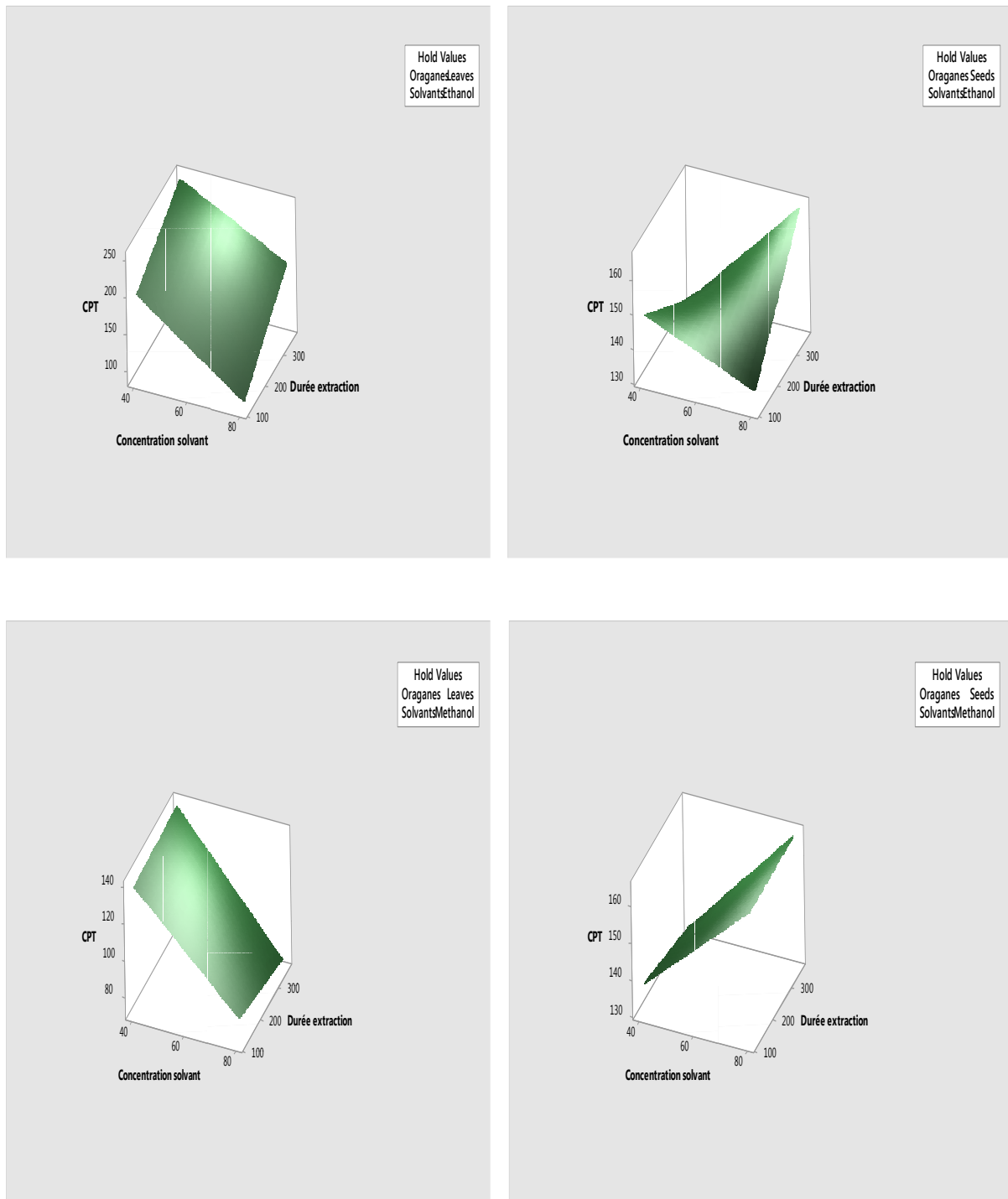


Figure 34 : Surfaces de réponses selon les trois prédicteurs des phénols totaux (temps, durée et concentration du solvant).

### ▪ Optimisation d'extraction des Flavonoïdes (CFT)

De la même manière que pour les phénols totaux, la méthode de RSM a montré que les feuilles de notre plante représentent l'organe le plus riche en flavonoïdes, avec une concentration prédite de (174,15 mg EC/g), et que le solvant idéal pour l'extraction de ces flavonoïdes est l'éthanol et toujours un temps d'extraction prolongé favorise la dissolution des principes actifs en l'occurrence les flavonoïdes (Figure 36).

Les conditions de l'optimum théorique ont été confirmés dans le laboratoire ces derniers ont données une concentration de (176 mg EC/g), proche de concentration prédite de (174,15 mg EC/g) selon le diagramme de pareto (Figure 35).

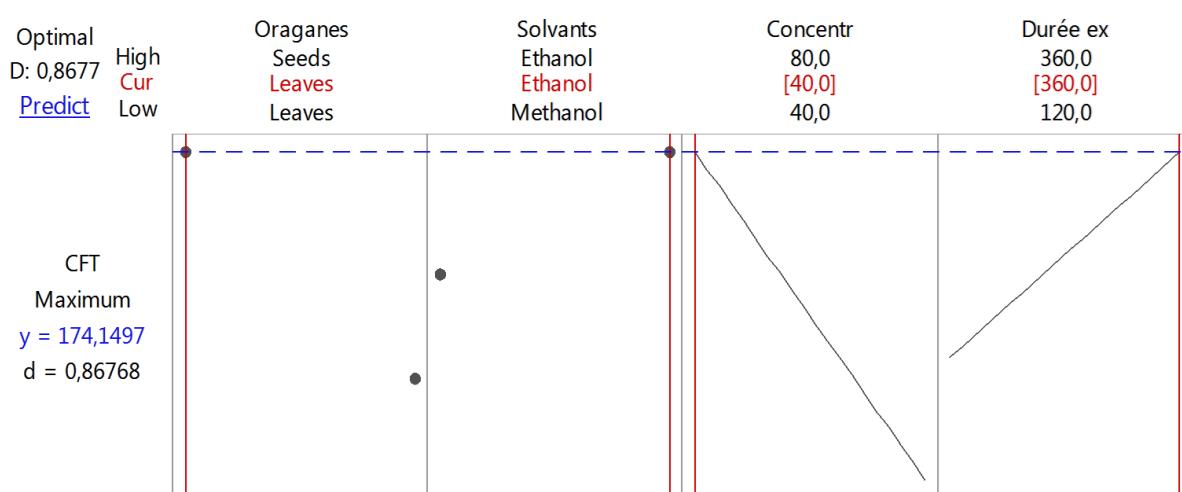
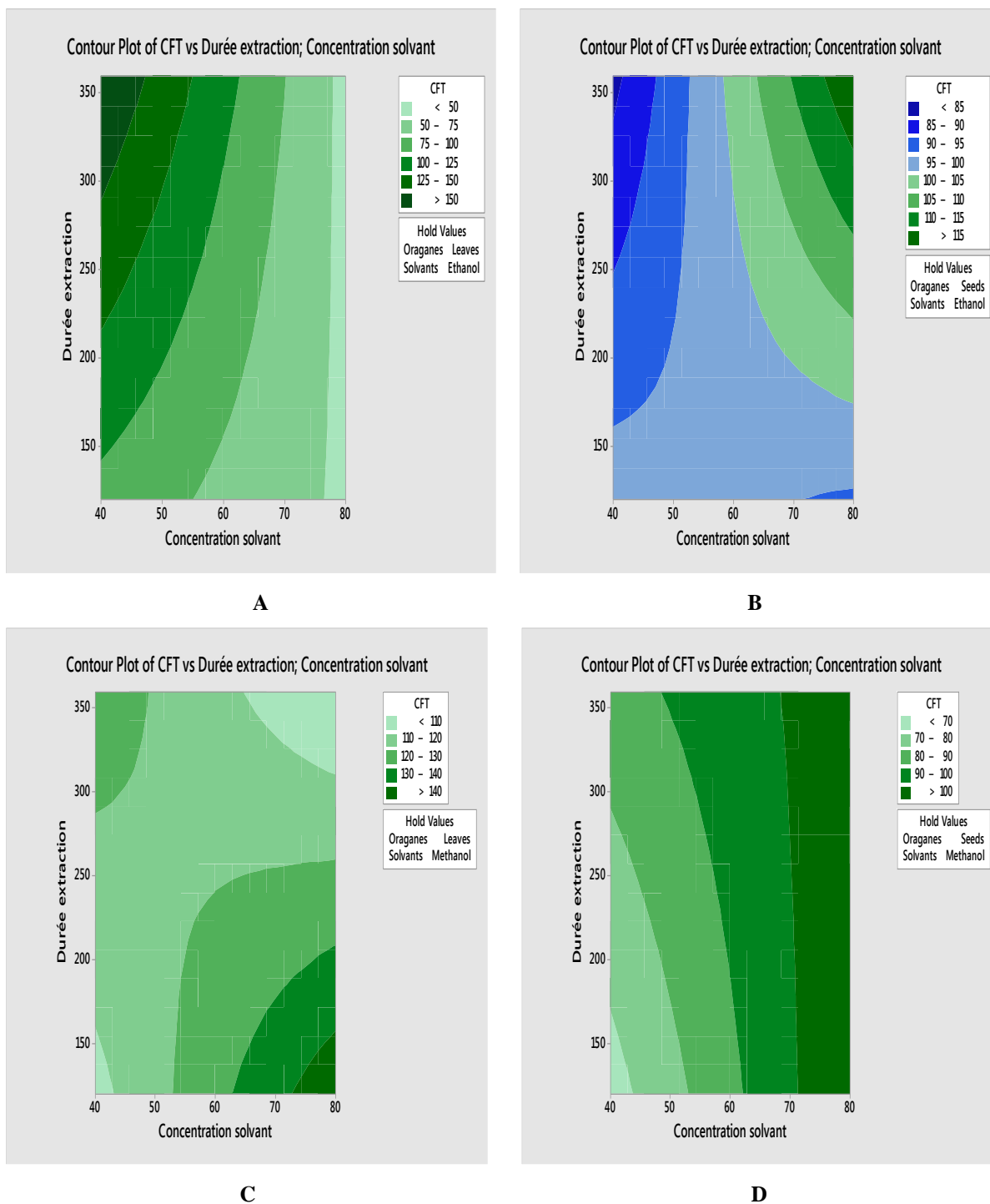


Figure 35 : Diagramme de Pareto des flavonoïdes selon les trois prédicteurs (temps, durée et concentration du solvant)



**A :** Contour de surface de repense de l'interaction des flavonoïdes contenus dans les feuilles et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**B :** Contour de surface de repense de l'interaction des flavonoïdes contenus dans les graines et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**C :** Contour de surface de repense de l'interaction des flavonoïdes contenus dans les feuilles et éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**D :** Contour de surface de repense de l'interaction des flavonoïdes contenus dans les graines et éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**Figure 36 : Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des flavonoïdes.**

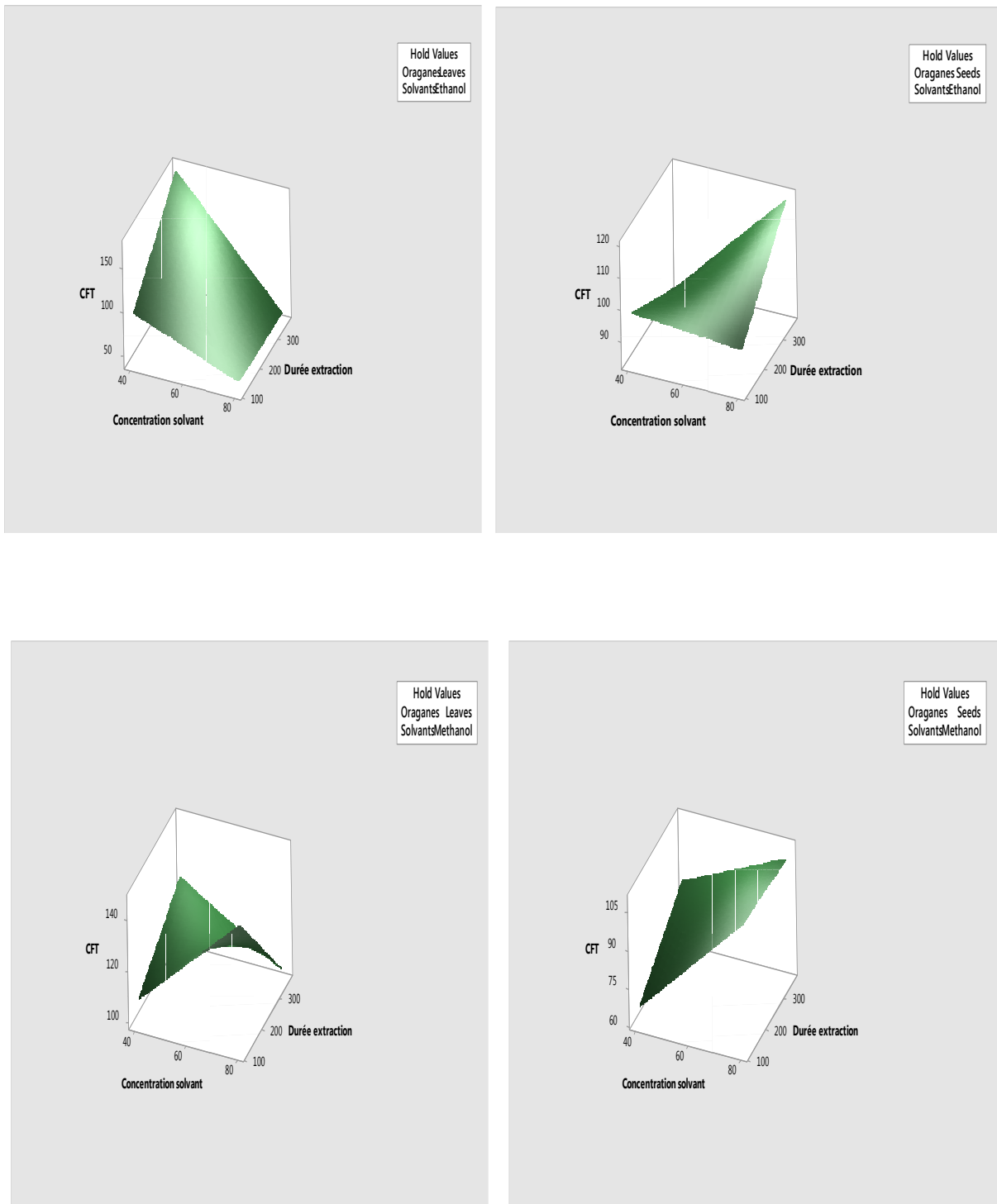


Figure 37 : Surfaces de réponses selon les trois prédicteurs des flavonoïdes (temps, durée et concentration du solvant).

### ▪ Optimisation d'extraction des Tanins (CTT)

Tout comme les phénols totaux et les flavonoïdes, les résultats proviennent de l'optimisation par la méthode de repense de surface nous a révélé un optimum de concentration prédit des tanins qui est de (26,77mg EC/g). Les conditions de l'optimum théorique ont été confirmés dans le laboratoire ces derniers ont données une concentration de (25 mg EC/g) (Figure 38), avec une forte corrélation entre l'organe et le solvant utilisé, d'autre part il s'est révélé que les feuilles sont l'organe qui renferme la teneur la plus élevé des tanins. Est-ce qui concerne le solvant à l'inverse des phénols totaux et les flavonoïdes le solvant idéal c'est le méthanol (Figure 39).

Concernant la concentration de solvant et le temps d'extraction, on a trouvé que l'augmentation du temps d'extraction et la concentration de solvant permet d'enregistrer une teneur très importante en tanins.

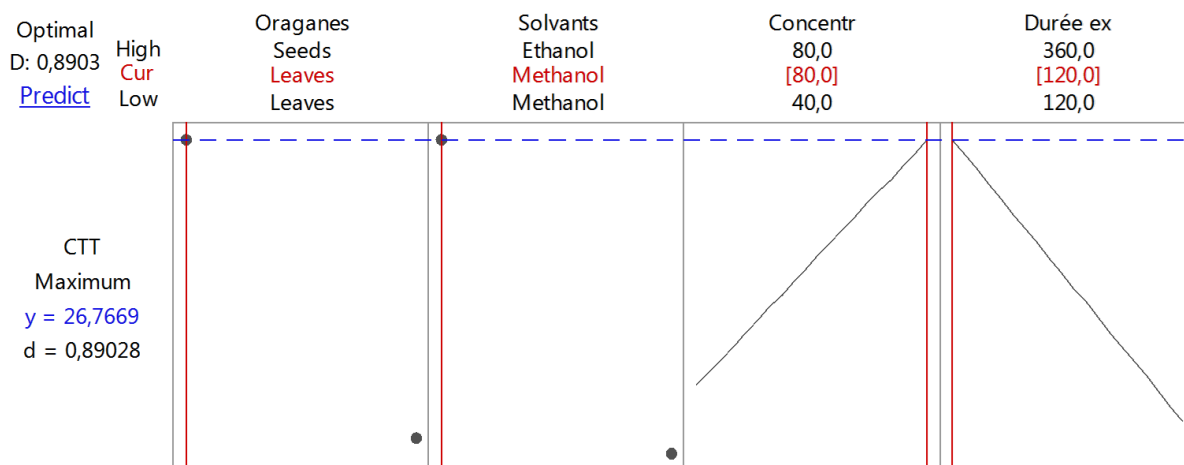
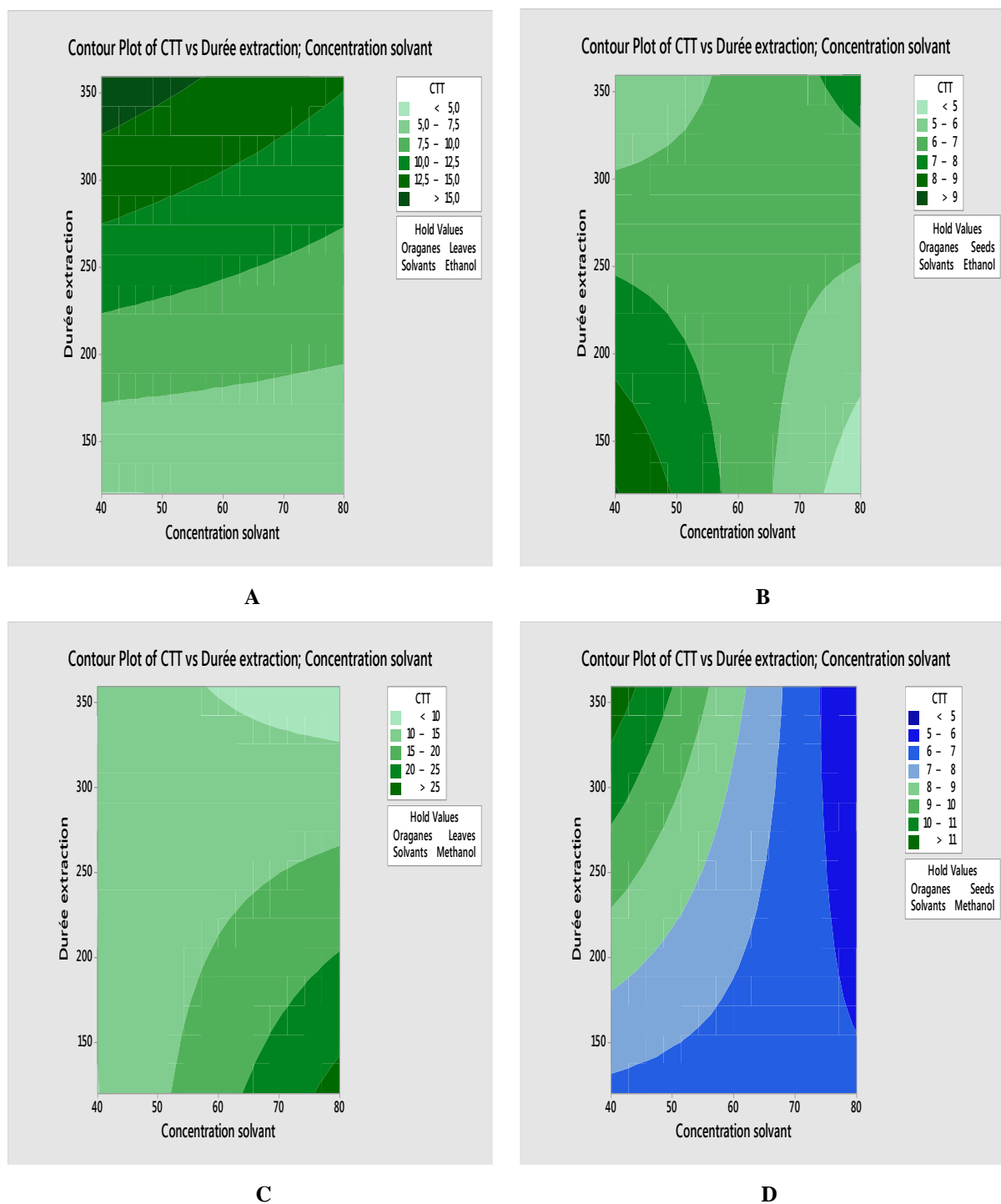


Figure 3 : Diagramme de Pareto des tanins selon les trois prédicteurs (temps, durée et concentration du solvant)





**A :** Contour de surface de repense de l'interaction des tanins contenus dans les feuilles et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**B :** Contour de surface de repense de l'interaction des tanins contenus dans les graines et méthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**C :** Contour de surface de repense de l'interaction des tanins contenus dans les feuilles et éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**D :** Contour de surface de repense de l'interaction des tanins contenus dans les graines et éthanol comme solvant, la concentration et la durée d'extraction.

**Figure 39 :** Contour de surface de repense de l'interaction et l'effet du solvant, concentration du solvant et la durée d'extraction des tanins.

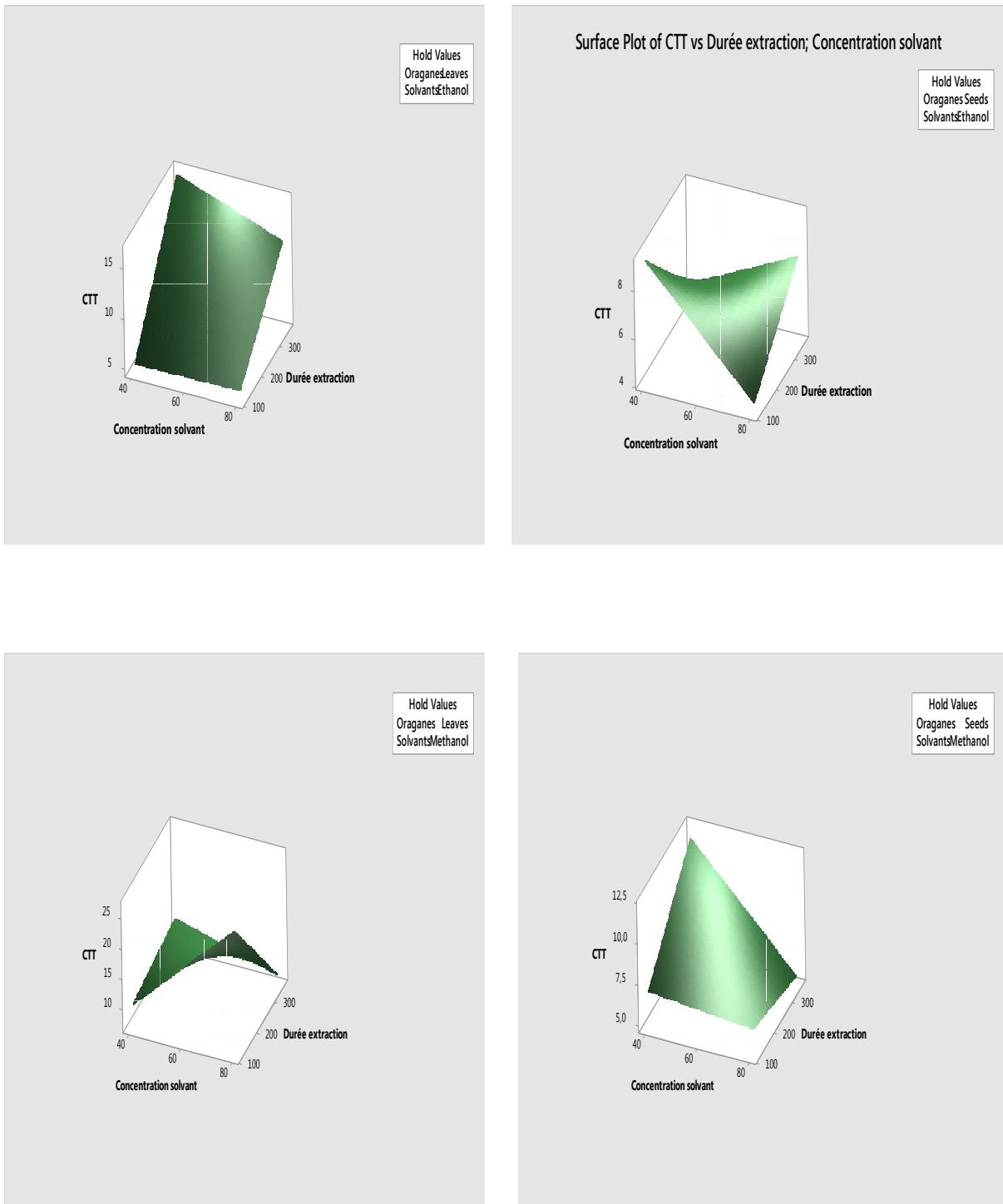


Figure 40 : Surfaces de réponses selon les trois prédicteurs des tanins (temps, durée et concentration du solvant).

En conclusion on peut dire que pour une extraction efficace et optimale des polyphénols d'*Apium graveolens L* certaines conditions s'imposent avec acuité :

- Le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols de l'*Apium graveolens L* est l'éthanol.
- La concentration de 80% favorise l'extraction complète de ces composés.
- Le temps prolongé 03 h favorise le meilleur rendement.

Autres paramètres ont aussi un rôle considérable dans l'extraction et le rendement de ces composés naturels, et qui n'ont pas fait l'objet d'étude dans ce travail, nous citons à titre d'exemple : la température, le mode d'extraction ....

Les résultats de cette étude ont été prise en considération au cours de l'étude suivante (extraction et dosage des composés phénoliques), cependant, ce sont les feuilles qui sont choisies pour l'extraction des polyphénols, en utilisant comme solvant l'éthanol dilué à 20% et comme mode d'extraction la macération pendant une période de 03 heures.

### **6.2.3. Résultats de l'extraction et dosage des composés phénoliques**

#### **Résultats de l'extraction**

Nous rappelons que la préparation de l'extrait hydroalcoolique à partir des feuilles d'*Apium graveolens L* a été effectuée par un mélange de l'éthanol et de l'eau distillée (80%/20%, V/V) solvants à polarité décroissante, il s'agit d'un extrait hydroalcoolique. Cette extraction nous a permis d'obtenir un extrait de nature visqueuse de couleur verte, le rendement et de 39 gr (soit un pourcentage de 39%).

Le dosage des composés phénoliques à partir de l'extrait hydroalcoolique des feuilles a révélé des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins assez remarquable et sont illustrés dans la (Figure 41). Indique clairement la richesse de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L* en flavonoïdes (105,20±5,17 mg EC/g d'extrait) c'est le composant majoritaire suivie par les phénols totaux avec une teneur de (102,23±1,36 mg GAE/g d'extrait). Les tanins viennent en dernier avec une teneur moins remarquable (19,77± 1,69 mg EC/g d'extrait).

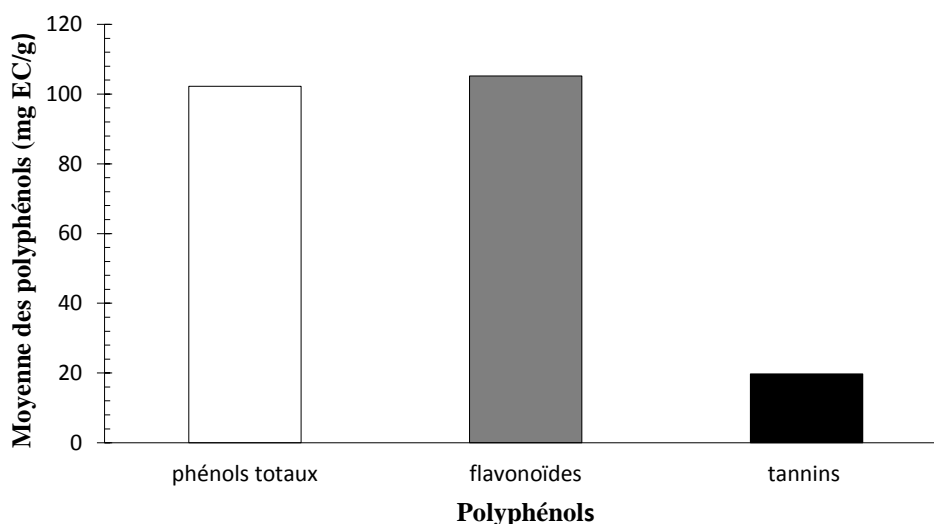


Figure 41 : Teneurs en polyphénols de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens*

#### 6.2.4. Extraction et dosage des huiles essentielles

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation. Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée dans l'hydrodistillation, soit :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Mhe}}{\text{Mvg}} \times 100$$

Où :

**Rdt** : rendement en HE (en%).

**Mhe** : masse de l'huile essentielle extraite

**Mvg** : masse végétale utilisés

Le rendement en huile essentielle des graines d'*Apium graveolens* est de l'ordre de 1%, de couleur jaune clair et odeur aromatique typique et forte de céleri et un aspect liquide (Figure 42). Nos résultats sont proches de ceux qui ont été obtenus avec cette même espèce par (**El Mostaphi, 2017**), ce dernier a travaillé sur les graines d'*Apium graveolens* il a trouvé un rendement de 0.9%. D'autre part, les travaux de (**Simo Kamdem, 2015**) sur les feuilles d'*Apium graveolens L* ont donnés un rendement de 0,1%. En parallèle (**Baananou et al., 2013**) ont travaillé sur les feuilles ils ont trouvé un rendement de 0,25%, ces résultats sont confirmés par les travaux de (**Praveen, 2012**) qui a trouvé un rendement de 0,25% toujours sur la même espèce.

Selon tous les auteurs cités ci-dessus ; le rendement d'extraction varie d'un organe a un autre avec une teneur assez importante en huile essentielle dans les graines par rapport aux feuilles.



Figure 42: Photo d'huile essentielle des graines d'*Apium graveolens* (Cliché Dellal, 2017).

▪ **Caractérisation des composés chimiques des huiles essentielles**

Afin de contribuer à la caractérisation de l'huile essentielle d'*Apium graveolens* L nous avons procédé à une analyse qualitative et quantitative par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS). Cette analyse nous a permis l'identification 20 composés (Tableau 8) représentant 98,7 % de l'huile essentielle.

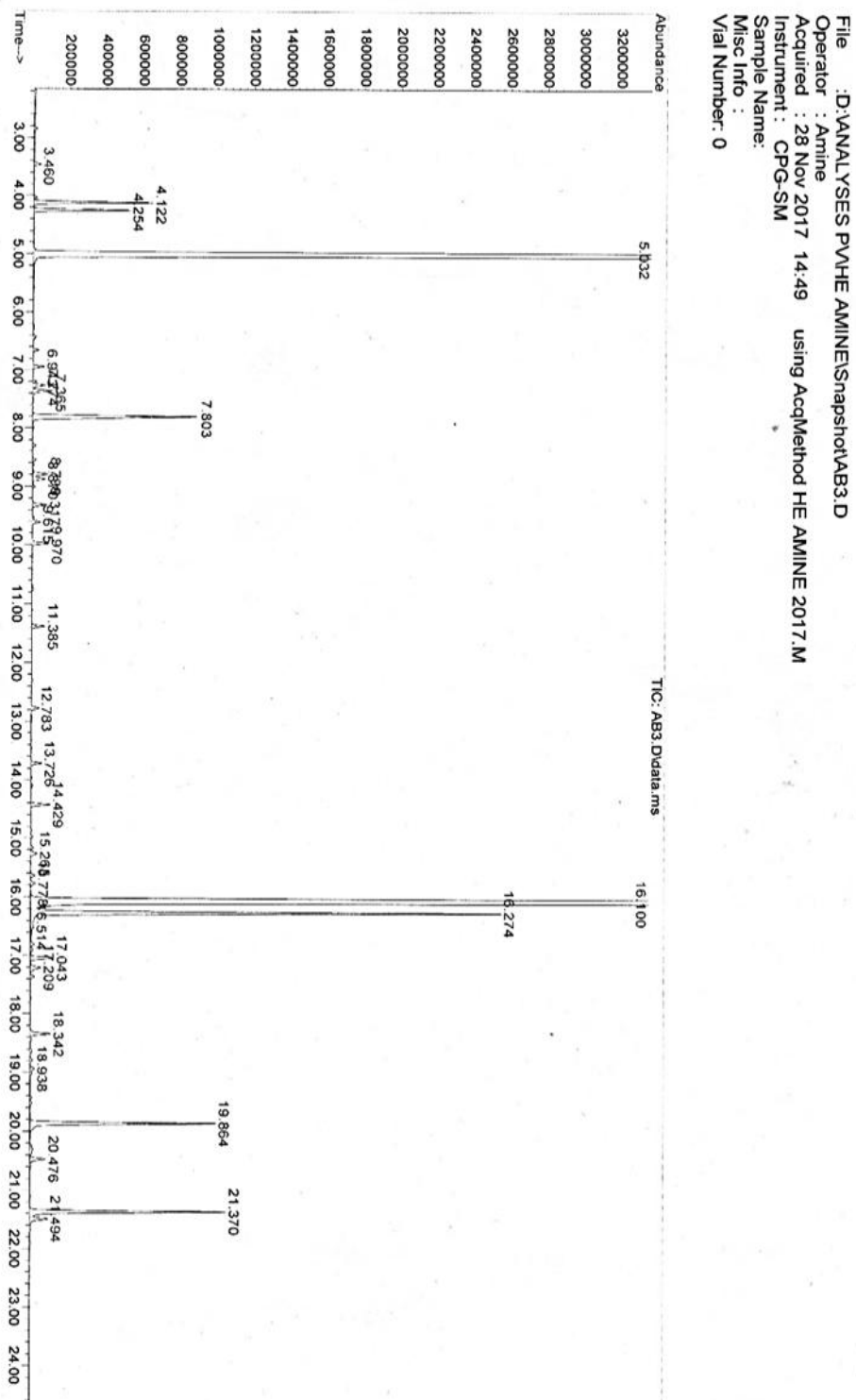


Figure 43 : Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'*Apium graveolens L.*

Tableau 08 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Apium graveolens L*

| Composition (Pourcentage)               | HE %         | IR   | TR     |
|---|--------------|------|--------|
| <b><math>\alpha</math>-pinène</b>       | 0,11         | 925  | 3,46   |
| $\beta$ -Pinène                         | <b>0,26</b>  | 980  | 4,122  |
| Myrcène                                 | <b>0,88</b>  | 985  | 4,254  |
| Limonène                                | <b>53,96</b> | 1030 | 5,032  |
| <b>Trans-Limonène oxyde</b>             | 0,19         | 1143 | 7,365  |
| Pentyl- benzène                         | <b>1,98</b>  | 1155 | 7,803  |
| <b>Trans-Carveol</b>                    | 0,16         | 1221 | 9,317  |
| <b>Cis-Carveol</b>                      | 0,11         | 1230 | 9,615  |
| <b>Carvone</b>                          | 0,16         | 1252 | 9,97   |
| <b>1-phenyl -1-Pentanone</b>            | 0,11         | 1340 | 12,783 |
| <b><math>\beta</math>-Elemène</b>       | 0,12         | 1398 | 13,726 |
| <b><math>\beta</math>-Caryophyllène</b> | 0,31         | 1432 | 14,429 |
| <b>Alpha-Caryophyllène</b>              | 0,11         | 1464 | 15,265 |
| $\beta$ -Selinène                       | <b>30,72</b> | 1485 | 16,1   |
| $\alpha$ -selinène                      | <b>4,96</b>  | 1497 | 16,274 |
| <b>Gamma-Selinène</b>                   | 0,13         | 1531 | 17,209 |
| <b>Oxyde caryophyllène</b>              | 0,23         | 1595 | 18,342 |
| 3-Butyl-phthalide                       | <b>1,93</b>  | 1650 | 19,864 |
| 3-butyl-4,5-dh-Phthalide                | <b>2,04</b>  | 1672 | 21,37  |
| 3-butyl-3a,4,5,6-th-Phthalide           | <b>0,23</b>  | 1680 | 21,494 |
| <b>Total : 20</b>                       | <b>98,7%</b> |      |        |

**Remarque :** les taux des composés majoritaires des trois huiles sont mentionnés en gras.

**HE % :** pourcentages de composant.

**IR :** Indice de rétention.

**TR :** Temps de rétention.

Le profil chromatographique de l'essence d'*Apium graveolens L* montrent la dominance des monoterpènes avec trois molécules ( $\beta$ -Pinène, Myrcène et Limonène) avec un pourcentage total de 55,1% dont le Limonène est le composant majoritaire ayant un pourcentage de 53,96% suivie par le Myrcène 0,88% et enfin  $\beta$ -Pinène avec un pourcentage de 0,26%. En revanche, les autres monoterpènes sont également présents en très faibles teneurs comme le Trans-Carveol 0,16% et le Cis Carveol 0,11%.

En plus, la caractérisation d'huile essentielle de notre plante indique également la présence des sesquiterpènes qui sont respectivement  $\beta$ -Selinène 30,72%,  $\alpha$ -Selinène 4,96% et

caryophyllène 0,65 y compris (Oxyde caryophyllène 0,23%,  $\beta$ -Caryophyllène 0,31%, Alpha-Caryophyllène 0,11%) (figure 57).

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par d'autres chercheurs, en particulier les travaux de (**Simo Kamdem, 2015**) de la région de Yaoundé, qui caractérisent la composition chimique de l'huile essentielle extraite des graines d'*Apium graveolens* par la même technique d'analyse et ont identifié que le composant majoritaire est le Limonène 50,7%.

En parallèle (**El Mostaphi, 2017**) qui a travaillé sur les graines de l'*Apium graveolens* de la région de Marrakech à signaler que le composant majoritaire est le Limonène avec un pourcentage de 79,15%.

Ainsi, **Baananou et al., (2013)**, ont montré que l'huile essentielle extraite des graines d'*Apium graveolens* originaire de Monastir contient le même composant majoritaire : le Limonène avec un pourcentage de 39,4% proche de nos résultats.

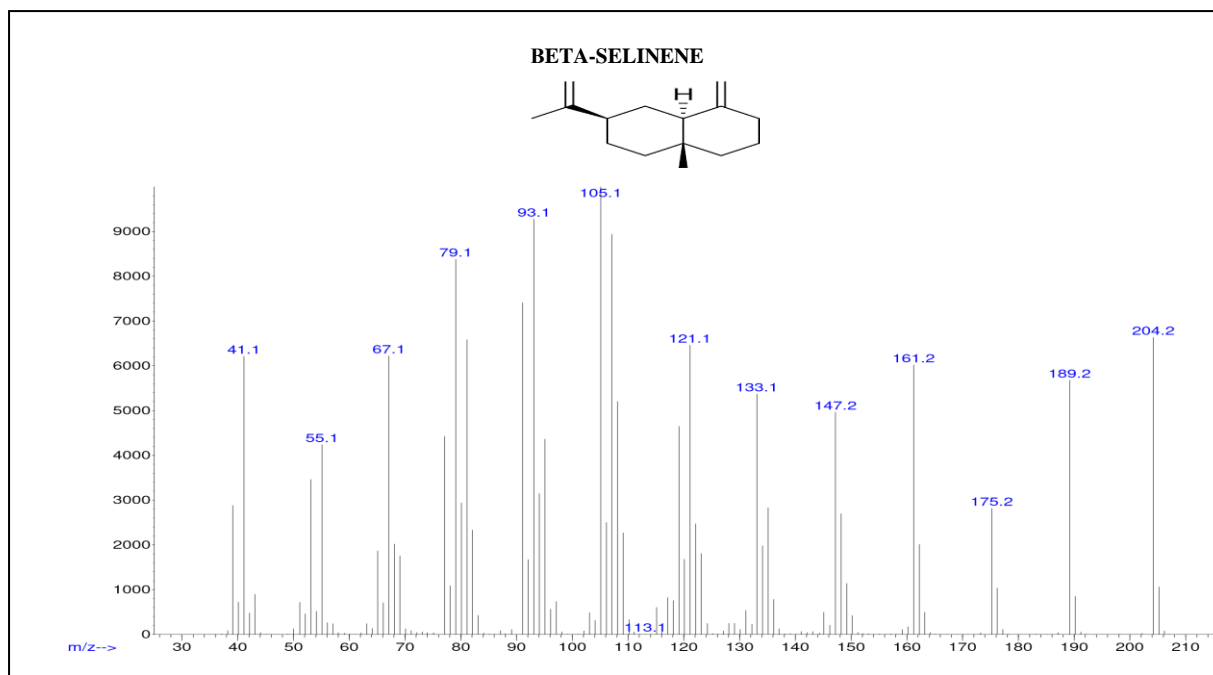
De plus, **Marongiu et al., 2013** qui ont travaillé sur l'huile essentielle d'*Apium graveolens L* originaire de l'Italie ces derniers ont trouvé la présence de Selinene à un pourcentage de 1,8%, les résultats de (**El Mostaphi, 2017**) qui a identifié la présence de  $\beta$ -Selinene avec un pourcentage de 3,73%. Ces résultats sont similaires à nos résultats qui indiquent la présence de  $\alpha$ -Selinène avec un pourcentage de 4,96%.

Par ailleurs, la comparaison de nos résultats avec les travaux de (**Simo Kamdem et al., 2015**) effectués sur l'huile essentielle d'*Apium graveolens L* présente le même composé majoritaire que celui de nos échantillons  $\beta$ -selinene avec un pourcentage de 1,3% et celle de (**Baananou et al., 2013**) avec un pourcentage de 3,2%.

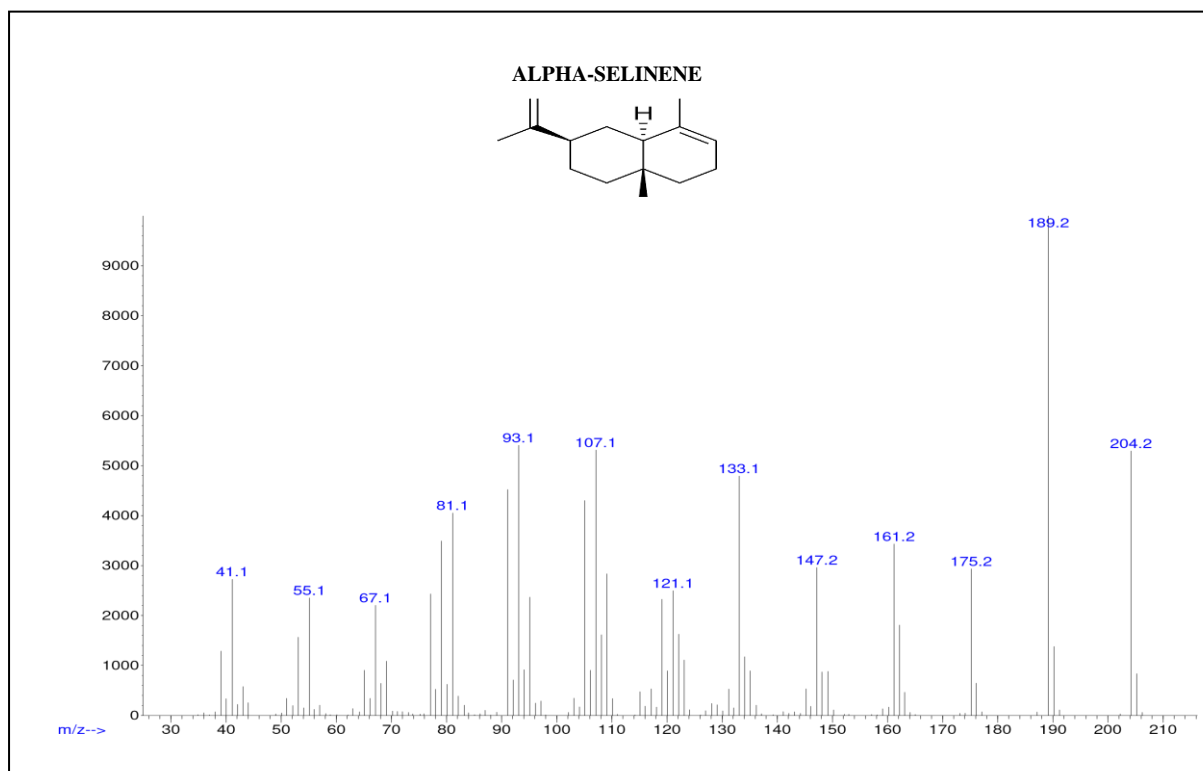
En revanche, on a mis en évidence la présence d'un composant qui représente un taux de 4,2% et qui est 3-Butyl-phthalide, qui est absent dans les autres travaux sauf celui de (**Marongiu, 2013**) sur l'*Apium graveolens L* qui a identifié la présence de 3-Butyl phthalide avec un taux de 7%.

A la lumière de cette étude, l'analyse qualitative et quantitative de l'huile essentielle de l'*Apium graveolens* a permis d'identifier 20 composants répartis dans deux familles monoterpènes et sesquiterpènes, avec une prédominance des composés monoterpéniques mais à des proportions différentes, on a remarqué aussi que même si la composition chimique des huiles essentielles extraites des graines d'*Apium graveolens L* de différentes provenances est plus en moins la même, le rendement en ces composés n'est pas le même, Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage et la méthode d'extraction (**Svoboda et Hampson, 1999**).

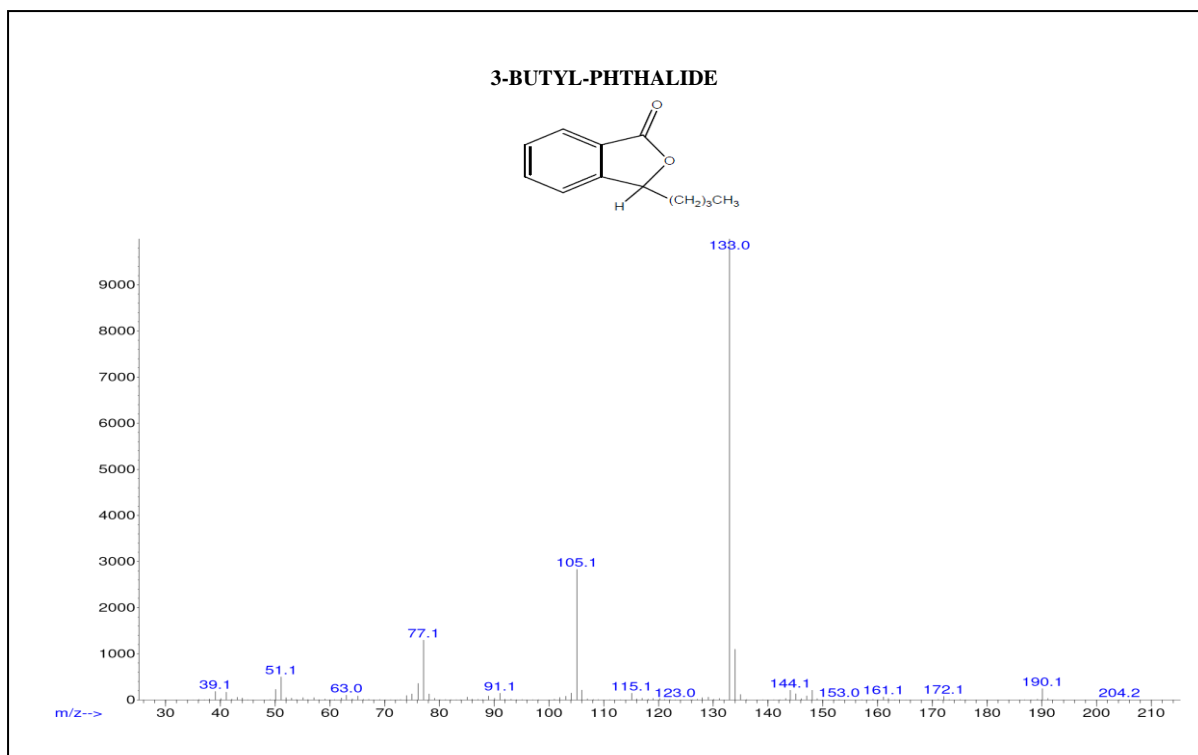




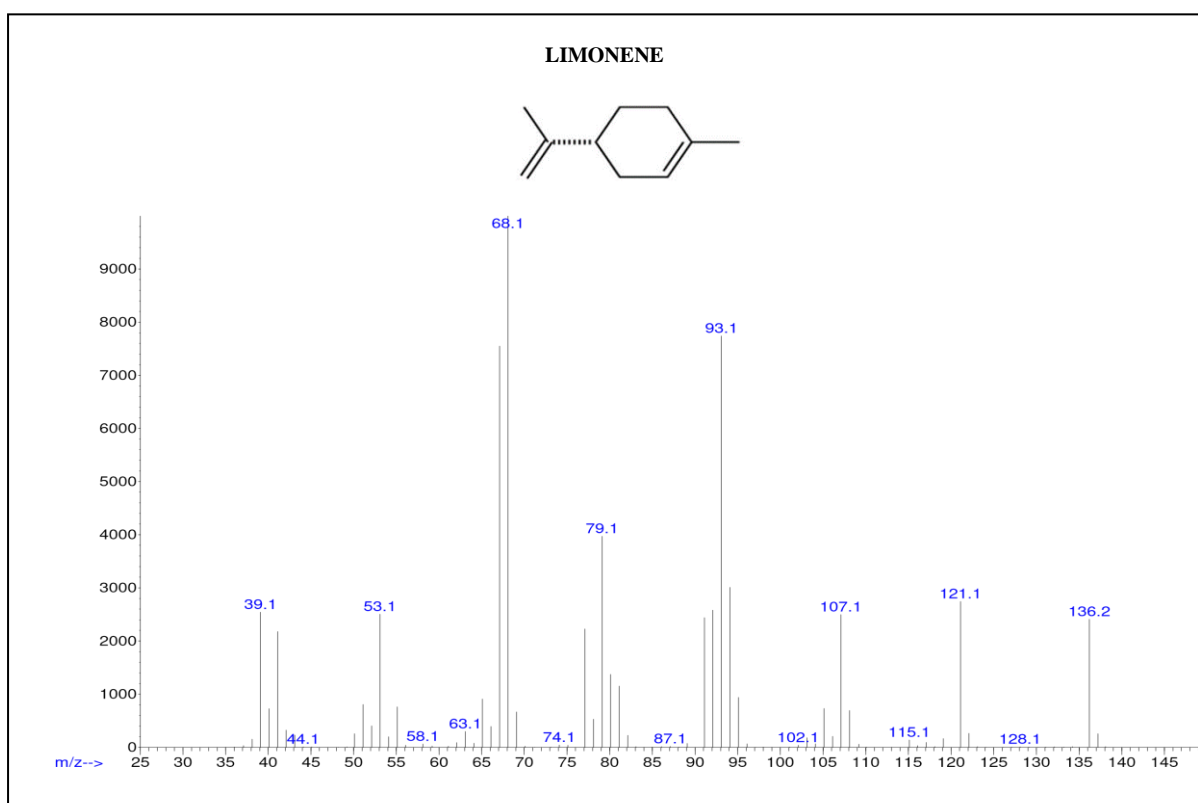
**Figure 43 a :** Spectre de composé majoritaire **BETA-SELINENE**



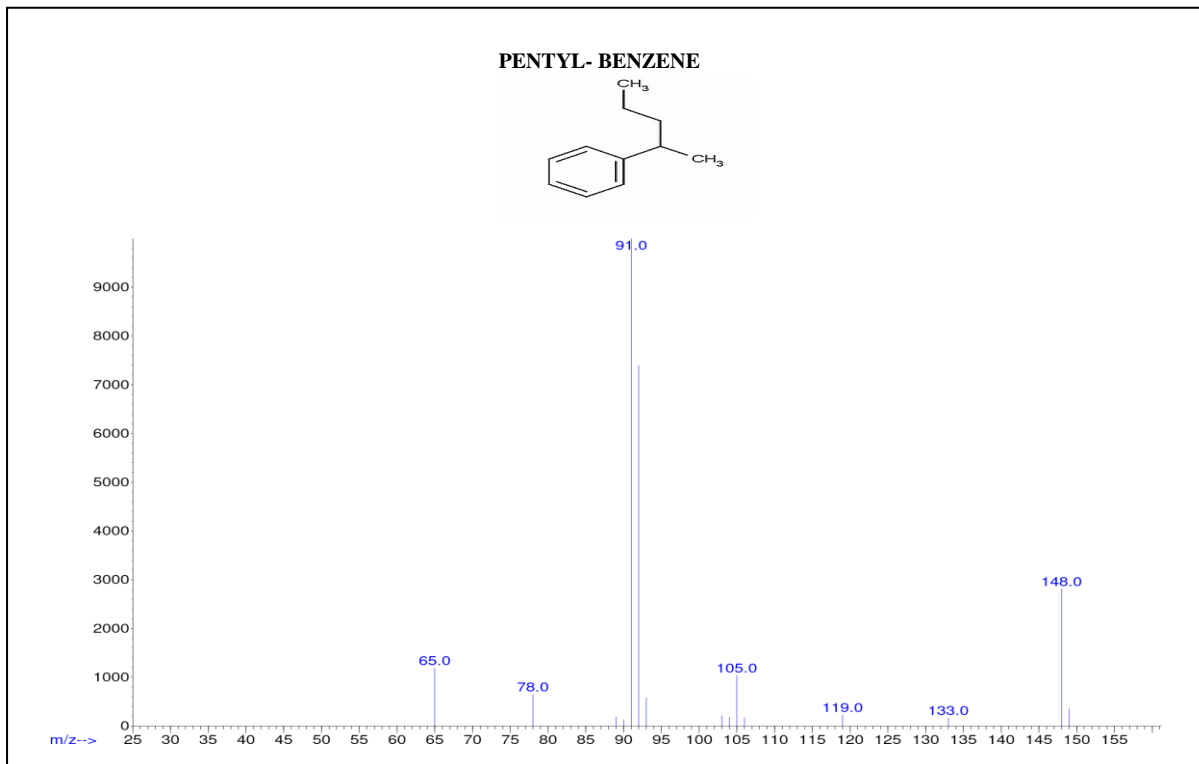
**Figure 43 b :** Spectre de composé majoritaire **ALPHA-SELINENE**



**Figure 43 c :** Spectre de composé majoritaire **3-BUTYL-PHTHALIDE**



**Figure 43 d :** Spectre de composé majoritaire **LIMONENE**



**Figure 44 : Les spectres GC/MS et les structures chimiques des cinq composés majoritaires d'huile essentielle d'*Apium graveolens*.**

### 6.3. Résultats des activités biologiques

#### 6.3.1. Résultats de l'activité antioxydante (Piégeage du radical libre DPPH)

L'activité antiradicalaire de l'extrait a été évaluée par le test au DPPH, celle-ci est souvent utilisée pour la rapidité et l'efficacité des résultats. L'effet antioxydant d'extraits vis-à-vis du radical DPPH est exprimé par la concentration inhibitrice à 50 % ( $IC_{50}$ ) qui correspond à la concentration nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH, une  $IC_{50}$  faible représente l'activité antiradicalaire la plus élevée. Tous les  $IC_{50}$  sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents composés à tester avec un coefficient de corrélation ( $R^2$ ) inférieur à 0,9 (Figure 45).

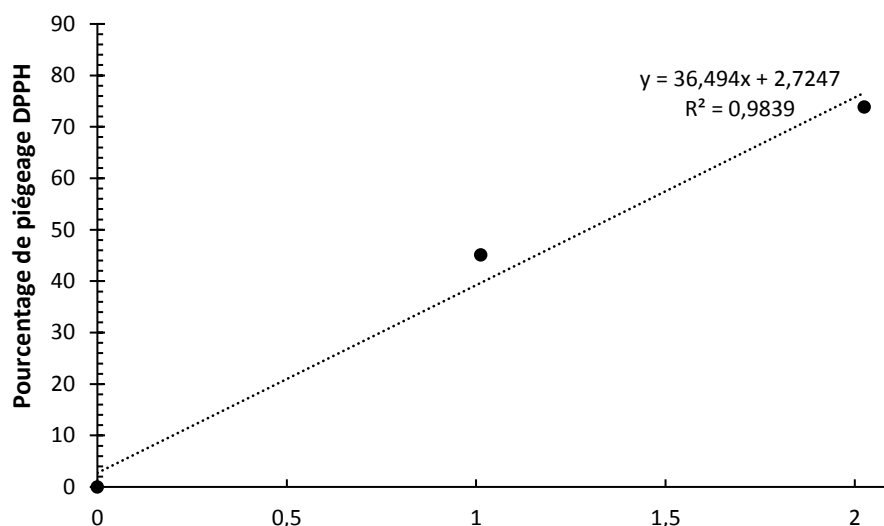


Figure 45 : Courbe de l'activité antioxydante par la méthode (DPPH)

Selon les résultats enregistrés dans la (Figure 45) de l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique testé par la méthode de DPPH. L'extrait hydroalcoolique est doté d'un pouvoir antioxydant remarquable avec un  $IC_{50}=1.29$  mg/ml.

#### 6.3.2. Résultats de test de toxicité aigue

Les résultats de ce test de toxicité obtenus après l'administration orale des différentes doses de l'extrait de notre plante (500, 1000, 3000, 5000, 10000 mg/kg P.C), indique que ce dernier n'induit aucun signe visible de toxicité ou de mort instantanée chez les souris testées, au cours de la période d'observation, mais l'administration de l'extrait à la dose de 2000mg/Kg a causé la mort d'une seule souris.

Nous pouvons conclure que la  $DL_{50}$  de cette espèce est supérieur ou égale à 1000mg/Kg.

*Apium graveolens L* est une drogue considérée comme non toxique.

### 6.3.3. Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo

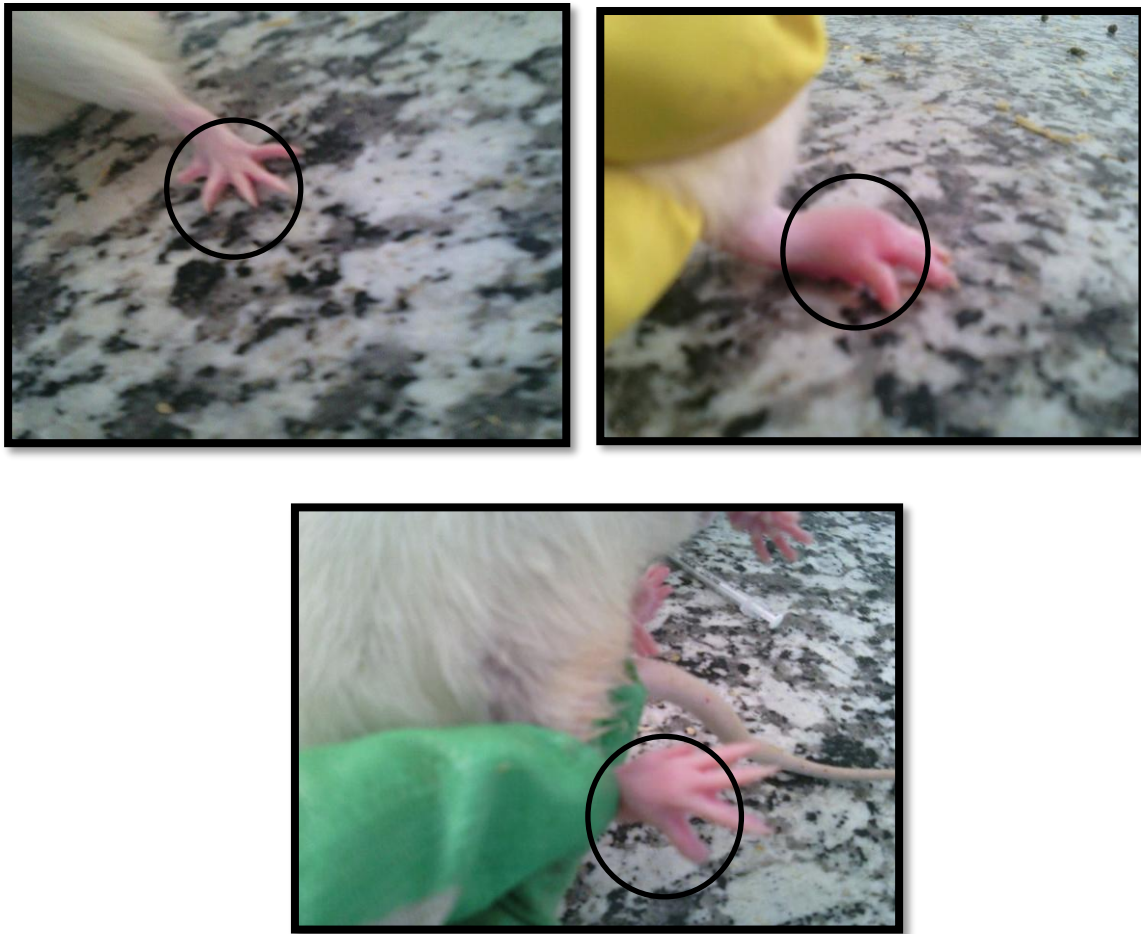
Nous rappelons que l'essai primordial le plus largement utilisé pour évaluer l'activité d'un nouvel agent anti-inflammatoire est sa capacité à réduire l'œdème local induit dans la patte de rat, par l'injection d'un agent irritant comme le montre la (Figure 46). Cet œdème dépend de la participation des kinines et des leucocytes nucléaires avec leurs facteurs pro-inflammatoires comprenant des prostaglandines. Le développement de l'œdème dans la patte du rat après l'injection du carragénine a été décrit comme événement biphasé. La phase initiale, observée autour d'une heure, est attribuée au dégagement de l'histamine et de la sérotonine, selon (Crunkhorn, 1971), la deuxième phase de gonflement est due au dégagement des substances prostaglandine-like. Il est a signalé que la deuxième phase de l'œdème est sensible aux agents anti-inflammatoires non astéroïdaux.

L'injection de 0,1 ml de carragénine à 1 % dans une solution saline isotonique sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat a induit un œdème qui augmente progressivement avec le temps. Ainsi les résultats de cette étude sont portés dans le (tableau 9) et illustré dans la (Figure 46).

**Tableau 09 : Effet de l'extrait hydroalcoolique de l'*Apium graveolens L* et l'indométacine sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.**

| Traitements         | Avant     | 1h        | 02h       | 03h       | 04h       | 05h       | 06h       |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Indométacine</b> | 3,12±0,10 | 5,05±0,40 | 5,09±0,49 | 5,73±0,46 | 5,46±0,65 | 4,89±0,69 | 4,31±0,6  |
| <b>E.H (200)</b>    | 2,78±0,14 | 4,43±0,76 | 4,46±0,63 | 5,07±0,50 | 4,63±0,20 | 4,37±0,20 | 3,77±0,33 |
| <b>E.H (300)</b>    | 2,72±0,20 | 4,96±0,87 | 5,36±0,95 | 4,93±0,89 | 4,33±0,54 | 3,75±0,56 | 3,4±0,42  |
| <b>E.H(500)</b>     | 2,69±0,20 | 4,19±0,44 | 5,35±0,20 | 4,74±0,20 | 4,18±0,42 | 3,68±0,46 | 3,12±0,32 |
| <b>NaCl</b>         | 3,12±0,07 | 5,95±0,11 | 6,22±0,11 | 6,88±0,20 | 7,29±0,38 | 7,71±0,42 | 8,12±0,22 |

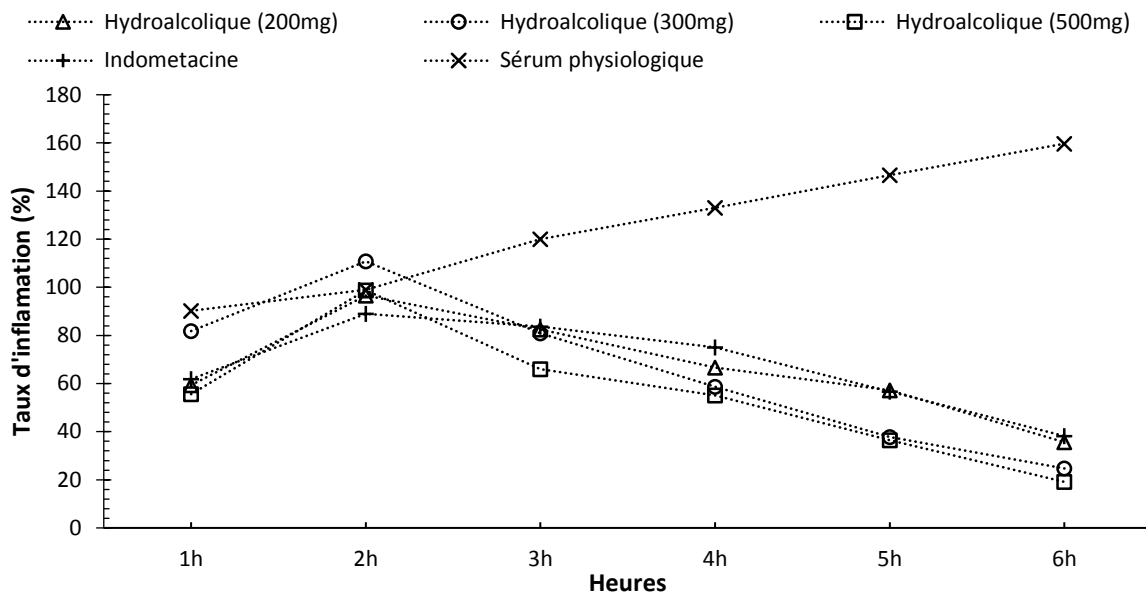
**EH** : extrait Hydroalcoolique ; **NaCl** : sérum physiologique ; **h** : heures



**Figure 46 : Augmentation de volume de pied des rats au cours de six heures (Cliché Dellal, 2017).**

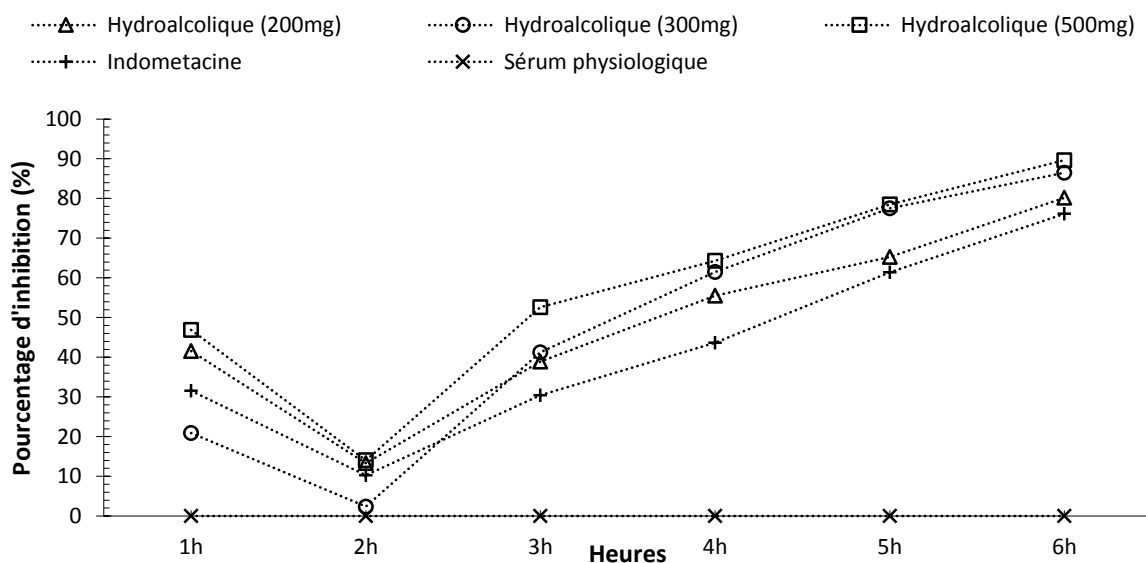
L'injection de carragénine est à l'origine d'une réaction inflammatoire vasculo-exsudative. Il s'agit d'une vasodilatation artériolaire, puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. La congestion est déclenchée rapidement, par un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) et par l'action de médiateurs chimiques. L'œdème inflammatoire résulte du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou dans les cavités séreuses, d'un liquide appelé exsudat, constitué d'eau et de protéines plasmatiques. Sa traduction clinique est un gonflement des tissus, ce qui induit une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques (Weill et Batteux, 2003).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de notre extrait sujet de cette étude ont été comparés à ceux de l'Indométacine (groupe de référence et à ceux du groupe témoin), ayant reçu le sérum physiologique. L'évolution de l'inflammation pour les différents groupes est représentée dans la (Figure 47) ; en revanche le pourcentage d'inhibition pour les mêmes groupes est illustré dans la (Figure 48).



**Figure 47: Evolution de l'inflammation (œdème plantaire) en fonction du temps pour les différents groupes.**

**Groupe 1** : témoin traité avec le sérum physiologique (10 ml/kg PC) ; **groupe 02** groupe de référence traité par l'Indométacine à la dose de (12 mg/kg) ; **groupes (03, 04 et 05)** ; traités respectivement avec 200, 300 et 500 mg/kg PC d'extrait hydroalcolique des feuilles de (*Apiumgraveolens*).



**Figure 48 : Evolution du taux d'inhibition e l'inflammation en fonction du temps pour les différents groupes.**

**Groupe 1** : témoin traité avec le sérum physiologique (10 ml/kg PC) ; **groupe 02** référence ont reçues l'Indométacine à la dose de (12 mg/kg) ; **groupes (03, 04 et 05)** ; ont été traités respectivement avec 200, 300 et 500 mg/kg PC d'extrait hydroalcolique des feuilles de (*Apium graveolens*).

Nous constatons, pour le groupe témoin ayant reçue le sérum physiologique, que l'inflammation causée par la carragénine, augmente en fonction du temps et atteint un maximum de 98,97% autour d'une heure et demi à deux heures après l'injection de caragénine.

Cela est dû à la libération de l'histamine et de la sérotonine qui persiste au cours du reste du temps jusqu'à dépassé le 100% après six heures, L'administration du L'indométacine à une dose de (12mg/kg PC) prévient de façon significative ( $p < 0,05$ ), l'évolution de l'inflammation au niveau plantaire de la patte du rat, à partir de la deuxième heures, après l'injection de caragénine, avec un taux d'inhibition de 30,42% pour atteindre le maximum à partir de la 5<sup>ème</sup> h et la 6<sup>ème</sup> heures, avec un taux d'inhibition de 57,52% et 76,13% comme le précise la (Figure 47).

En revanche, pour les lots traités par l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'*Apium graveolens* à des doses de (200, 300 et 500 mg/kg PC) prévient de façon significative ( $p < 0,05$ ), l'œdème plantaire chez les rats à partir de la deuxième heure du traitement, avec des taux d'inhibition différents qui sont respectivement 38,89%, 41,23% et 52,63%.

En plus, le traitement avec ces doses, provoque un effet inhibiteur important, qui persiste pendant 6 h après l'injection de la carragénine et qui est significativement différent du lot témoin (Figure 48).

Parailleurs, L'administration de l'extrait hydroalcoolique à des doses de 200mg/Kg, 300mg/Kg et 500mg/Kg de poids corporelle a un effet inhibiteur très important qui s'étale jusqu'à la sixième heure, avec un pourcentage de 80,17%, 86.50% et 89.66% ces résultats sont semblables à ceux marqués par le traitement de référence l'indométacine avec un taux d'inhibition de 76,13% à la sixième heure après l'injection de caragénine.

Aussi, on remarque que l'administration de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens* à la dose de (500mg/Kg PC) présente un effet antiinflammatoire assez important à raison de 89,66% par rapport au médicament synthétisé l'indométacine, durant la deuxième phase de l'inflammation.

Nous avons à signalé aussi, une forte diminution de pourcentage de l'inflammation durant, la deuxième phase, voire (Figure 47) ; c'est-à-dire à partir de la deuxième heure pour toutes les doses administrées de l'extrait hydroalcoolique ; cela peut être expliquée par l'inhibition de la cyclooxygénase grâce à l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens* et l'inhibition des prostaglandine-like, qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines et les prostaglandine-like, (ces derniers sont responsables de l'apparition de l'œdème) ce qui explique la disparition de l'inflammation à la sixième heures de l'administration de l'extrait qui se traduit par la diminution du volume de la patte inflammée et l'absence du gonflement.

Ces résultats indiquent que l'effet de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens* L est dose dépendant, et l'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que cet extrait possède



une activité anti-inflammatoire importante du fait qu'il est riche en composés bioactifs, principalement les flavonoïdes, les saponines et les iridoïdes.

En effet, plusieurs études montrent que les saponines ont un pouvoir antiinflammatoire très important tels que ceux de **(Della Loggia, 1994)**, **(Geptiremen, 2005)** et **(Navarro, 2001)**. D'autres études montrent que les iridoïdes sont aussi responsables de l'effet antiinflammatoire **(Mesia-Vela, 2004)**.

En plus beaucoup de travaux réalisés sur l'effet antiinflammatoire d'*Apium graveolens* de différentes origines, montrent une ressemblance à nos résultats, nous citons de ce fait :

Les résultats obtenus par **(Amezouar et al., 2008)** qui ont démontré qu'à la troisième heure, l'extrait éthanolique d'*Apium graveolens*, aux doses (200 et 400 mg/kg PC) assurent un pourcentage d'inhibition de 42,7% et 59% respectivement, ces résultats sont plus ou moins identiques aux pourcentages d'inhibition de 38%, 41,23% et 52,63% de notre plante.

Les résultats trouvés par **(Ouédraogo, 2012)** sont en accord avec nos résultats, ce dernier confirme que le pourcentage d'inhibition augmente de façon considérable à partir de la deuxième phase c'est-à-dire, à partir de la deuxième et la troisième heures jusqu'à atteindre le maximum après six heures.

Les résultats de **(Khabbal, 2006)** montre qu'à partir de trois heures, l'effet de l'extrait aqueux de céleri augmente pour arriver à un taux d'inhibition maximum de 82% au sixième heure après l'injection de caragénine ce qui est semblable à notre résultat de 89,66% au cours de six heures après l'induction de l'inflammation.

Enfin, nos résultats sont similaires à ceux de **(Baananou et al., 2011)** qui ont prouvés qu'à partir de la deuxième heure après l'injection de caragénine, le volume du pied de rat inflammé diminue d'une façon significative avec un taux d'inhibition de 73 % ; aussi nos résultats ont montré qu'il y a eu une régression de l'épaisseur de pied inflammé du rat à partir de la deuxième heure, c'est-à-dire à partir de la deuxième phase de l'inflammation.

En conclusion nous disons que à l'issue de cette étude qui complètent les données de la littérature et qui confirment que *Apium graveolens* est une plante intéressante pourrait être utilisée de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation. En effet les résultats significatifs obtenus au cours de cette étude ont montré que l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *l'Apium garveolens* à une dose de 500mg/Kg possèdent des propriétés antiinflammatoires plus importantes que celles de l'indométacine.

A la fin, les résultats de l'activité antiinflammatoire d'*Apium graveolens* constituent une base scientifique intéressante prouvant et confirmant l'utilisation traditionnelle de cette espèce par la population locale, pour lutter et soigner les inflammations.

Des travaux sont en cours pour essayer d'isoler et identifier les molécules actives responsables de cette activité.

### 6.3.4. Etude de l'activité analgésique périphérique et centrale

#### A). Activité analgésique périphérique

##### ▪ Test de Koster (constriction abdominales)

Nous rappelons que cette activité est évaluée à partir des contractions abdominales des souris. Les résultats de ce test qui se traduisent par le nombre des contractions sont mentionnés dans le (Tableau 10) ci-dessous :

**Tableau 10 : Résultats de test de koster effet analgésique de paracétamol et de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L***

| Groupe (n=06)           | Doses       | Nombre de contorsions | %inhibition |
|-------------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| Témoin                  | 10ml/kg PC  | 69,50±3,08            | ---         |
| Extrait hydroalcoolique | 200mg/Kg PC | 39,66±2,73            | 42,93%      |
|                         | 300mg/kg PC | 36,50±2,16            | 47,48%      |
|                         | 500mg/Kg PC | 17,00±2,36            | 75,53%      |
| Paracétamol             | 150mg/kg PC | 30,50±3,61            | 64,51%      |

Les valeurs exprimées en moyenne± ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

Les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique ont été utilisées pour évaluer l'effet analgésique périphérique de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens*.

Nous signalons que le mécanisme d'apparition de la douleur résulte d'une lésion tissulaire responsable d'une augmentation de la libération de nombreux médiateurs chimiques tels que : l'histamine, la prostaglandine et la sérotonine, dans le liquide intrapéritonéal, qui stimulent les récepteurs nociceptifs situés au niveau péritonéal (**Kouakou, 2010**).

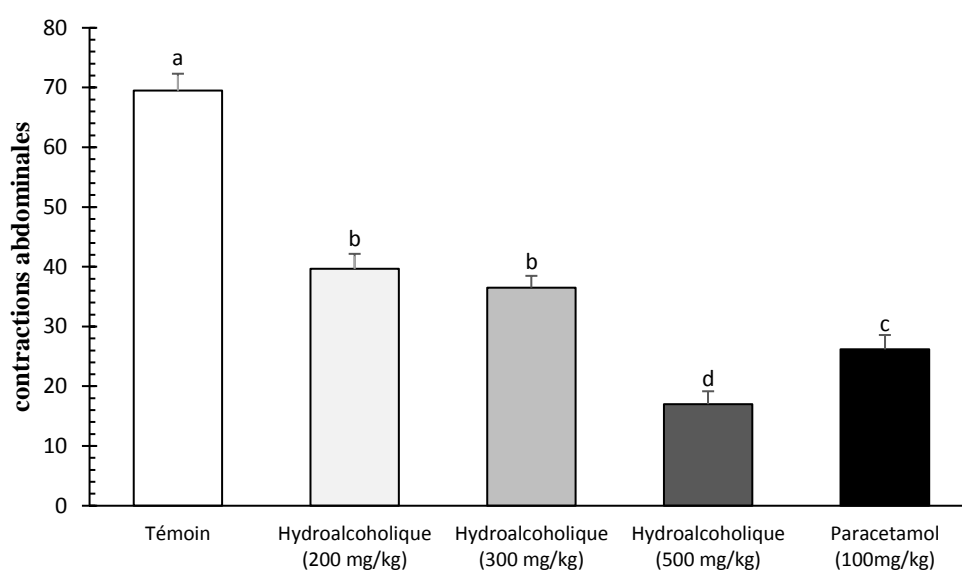
Chez les souris, les douleurs sont manifestées sous formes de crampes abdominales (contorsion).

D'après les résultats obtenus on constate que l'acide acétique induit une moyenne de 69,5±3,08 crampes comptabilisés au bout de 15 minutes chez le lot témoin. Ces crampes survenues sous l'effet de l'acide acétique, impliquent l'action des récepteurs péritonéaux locaux et sont accompagnées par des douleurs dues à la libération de la sérotonine, de l'histamine, de la bradykinine, de la substance P, des prostaglandines (PGE<sub>2α</sub>, PGF<sub>2α</sub>) et des cytokines (TNF-α, IL-1β, IL-8) (**Bentley, 1983 ; Negus, 2006**). Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire en provoquant les douleurs chez nos souris traitées.

Les résultats obtenus indiquent aussi que l'administration de l'extrait hydroalcoolique à des doses de 200mg/kg et 300mg/kg réduisent les contractions abdominales de manière dose-dépendante et significative  $p < 0.05$ , à raison de  $(39,66 \pm 2,73)$  et  $(36,5 \pm 2,16)$  respectivement comparativement au lot témoin, avec un taux d'inhibition de 42,93% et 47,48% après 15 minutes de l'injection de l'acide acétique (Figure 48). L'extrait hydroalcoolique aux doses 200mg/Kg et 300mg/kg PC révèle aussi un effet très significatif  $p < 0.01$ , par rapport au lot référent, traité avec le paracétamol, à une dose de 150mg/Kg. PC qui est de  $(30,50 \pm 3,61)$ .

En parallèle l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500mg/kg PC réduit le nombre des crampes de façon hautement significatif  $p < 0.001$ , en passant de  $69,5 \pm 3,08$  à  $17 \pm 2,36$  avec un taux d'inhibition de 75,53% par rapport au lot témoin ayant reçue l'eau distillé.

Par ailleurs l'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500 mg/kg PC peut être comparable à celui du paracétamol avec un nombre de constructions de  $30,50 \pm 3,61$  et un taux d'inhibition de 64,51% ce qui signifie l'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique de *A. graveolens* pourrait être lié à l'inhibition de la libération des médiateur chimiques.



**Figure 49 :** Effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens L* par l'injection de l'acide acétique.

Les barres avec des lettres différentes son significativement différentes ( $p < 0.05$ ).

Nos résultats montrent que l'administration de l'extrait hydroalcoolique aux doses 200mg/kg et 300mg/kg PC inhibe les contractions abdominales avec un taux satisfaisant mais, moins important par rapport au paracétamol, tandis que l'administration du même extrait à la dose de 500mg/kg, inhibe de façon hautement significatif  $p < 0.001$  les contractions

abdominales par rapport au lot témoin d'une part et même aux deux doses 200mg/kg et 300mg/kg PC et par rapport au paracétamol.

*A graveolens L* est une espèce riche en composés naturels notamment les flavonoïdes, les tanins, anthocyanosides et des saponosides ces composés sont donc très probablement et avec d'autre, responsable de l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques responsables de l'apparition du symptôme douloureux.

Les résultats de **(Baananou, 2013)** sur l'extrait méthanoïque des feuilles de céleri (*Apium graveolens L*) à la dose de 300mg/kg à un taux d'inhibition de 60% alors que dans notre étude l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 300mg/kg PC inhibe les contractions abdominales avec un taux de 47,48% seulement.

L'étude de **(Nisar et al., 2015)** a montré que l'administration de l'extrait aqueux d'*Apium graveolens L* réduit le nombre des contractions abdominales avec un taux d'inhibition de 68.72%.

### ▪ Test au formaldéhyde

Le test au formol est un modèle couramment utilisé de la douleur clinique dans laquelle la première phase semble être liée à une stimulation chimique directe des nocicepteurs alors que la deuxième phase dépend de l'inflammation périphérique. L'injection de la solution de formaldéhyde, chez la souris, provoque une réponse biphasique. La première phase est déclenchée immédiatement après l'injection de la solution de formaldéhyde ; elle est un peu courte de quelques minutes, et est caractérisée par la stimulation des fibres C et la libération de la substance P et la bradykinine ; la seconde phase est due à la douleur inflammatoire locale causée par la production de la sérotonine, l'histamine et les prostaglandines.

Les résultats de ce test sont portés dans le tableau ci-contre n°11 et illustré dans la (Figure 50).

**Tableau 11 : Résultats du test au formaldéhyde (temps de léchage des pieds des souris compté après l'injection du formaldéhyde).**

| Traitements                           | 1 <sup>ère</sup> phase (0 à 5 minutes) |        | 2 <sup>ème</sup> phase (15 à 30 minutes) |        |
|---------------------------------------|--|--------|--|--------|
|                                       | Temps de léchage                       | % inh  | Temps de léchage                         | % inh  |
| Témoin                                | 88 seconds                             | ----   | 122 seconds                              | ----   |
| Extrait hydroalcoolique (200mg/Kg PC) | 83 seconds                             | 5,68%  | 68 seconds                               | 44,26% |
| Extrait hydroalcoolique (300mg/Kg PC) | 57 seconds                             | 35,22% | 48 seconds                               | 60,65% |
| Extrait hydroalcoolique (500mg/Kg PC) | 38 seconds                             | 56,81% | 27 seconds                               | 77,04% |
| Paracétamol (300mg/Kg PC)             | 41 seconds                             | 53,40% | 42 seconds                               | 65,57% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  écartype.SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

Durant la 1<sup>ère</sup> phase, les résultats obtenus montrent que le groupe témoin ayant reçu de l'eau distillée présentent un temps de léchage très important (88 secondes) et l'administration de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens L* à la dose de (200mg/Kg PC) permet d'avoir un temps de léchage aussi important que celui de témoin, à raison de 83 secondes et qui est de ce fait, un effet non significatif avec un taux d'inhibition presque négligeable 5,68%.

Ce temps de léchage est réduit à 57 secondes, quand une dose de 300mg/Kg PC a été administré avec un taux d'inhibition plus ou moins remarquable (35,22%), par contre l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500mg/Kg PC, réduit le temps de léchage jusqu'à 38 secondes avec une différence fortement significative  $p < 0.001$  et taux d'inhibition de 56,81% (Tableau 11).

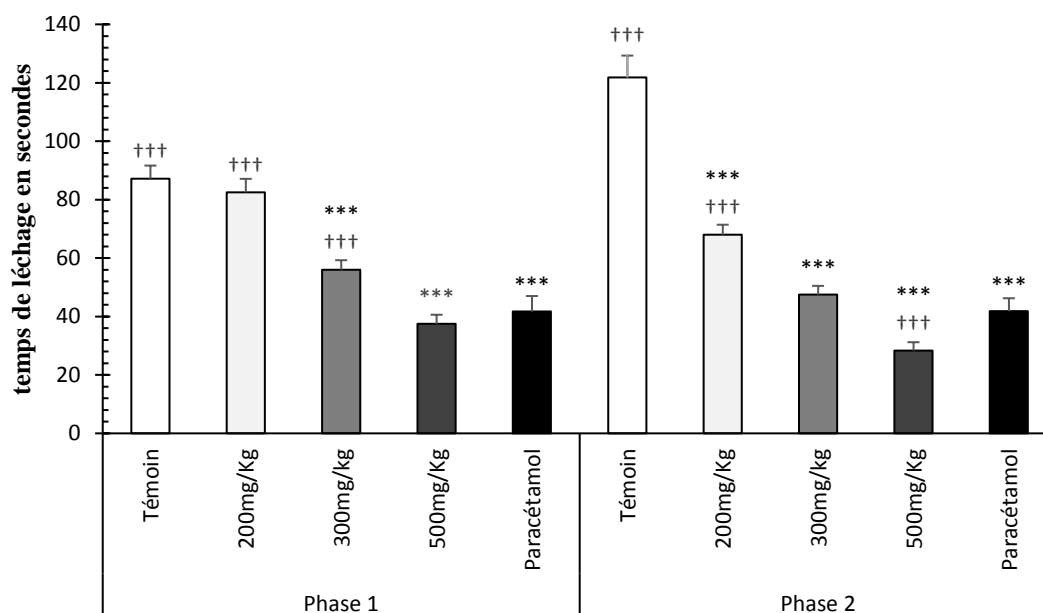
Durant la deuxième phase, l'administration de l'extrait hydroalcoolique aux doses de 200mg/Kg et 300mg/Kg respectivement réduit le temps de léchage à 48 secondes et 68 secondes respectivement (Figure 50), tandis que l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500mg/Kg inhibe de façon fortement significatif ( $p < 0.001$ ) le temps de léchage, avec un taux d'inhibition de 77,04%.

Quant au paracétamol, son administration à la dose de 300mg/Kg, permet d'inhiber de façon significative l'effet analgésique, avec un taux de 65,57% durant la deuxième phase. L'effet analgésique est plus significatif à la seconde phase on suggère que l'effet de ce médicament pourrait être lié à un effet périphérique, avec l'inhibition de production des médiateurs inflammatoires tel que la sérotonine, l'histamine et les prostaglandines ; en effet les analgésiques centraux inhibent les deux phases tandis que les analgésiques périphériques (les AINS) comme le paracétamol antagonisent la phase inflammatoire (la deuxième phase). Cela justifie l'augmentation de taux d'inhibition de 53,40% lors de la première phase à 65,57% durant la deuxième phase, avec un temps de l'échage, presque le même (41 secondes, 42 secondes), respectivement.

Les résultats de cette activité biologique sont bien illustrés dans la figure ci-dessous n°50, qui met en relief l'effet remarquable de l'extrait hydroalcoolique de notre espèce *Apium graveolens*, notamment l'extrait à la dose de 500mg/Kg, qui réduit de façon hautement significatif  $p < 0.001$ , le temps de léchage par rapport au lot de référence ayant reçu de paracétamol.

Il est signalé que notre extrait inhibe les deux phases avec un effet analgésique plus significatif à la deuxième phase (phase tardive), et un taux d'inhibition de 77,04% et 56,81% respectivement.

Nous déduisant que l'*Apium graveolens L.*, est une espèce médicinale agissant comme les AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens), et pourrait de ce fait, réduire la production des différents médiateurs chimiques intervenant dans les deux phases et agit à la fois comme analgésique central par l'inhibition de la production des fibres C et la libération de la substance P et la bradykinine lors de la première phase (phase précoce), et aussi comme analgésiques périphériques les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) par l'inhibition de la production des différents médiateurs synthétisés lors de la deuxième phase (phase tardive) tel que la sérotonine, l'histamine et les prostaglandines.



**Figure 50 : Résultats de l'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens L* par l'injection de formaldéhyde**

\* :  $p < 0,05$  significative, \*\* :  $p < 0,01$  hautement significatif, \*\*\* :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au témoin (l'eau distillée)

† :  $p < 0,05$  significatif, †† :  $p < 0,01$  hautement significatif, ††† :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au référentiel paracétamol.

## B). Activité analgésique central

### ▪ Test de Tail-Flick

Les résultats du test de Tail Flick sont regroupés dans le (tableau 12), reflétant ainsi l'action analgésique centrale de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'*Apium graveolens L* aux doses de (200 mg/kg, 300 mg/kg et 500 mg/kg PC) et l'action de la tramadol à la dose de 30mg/Kg, ils représentent le temps moyen de réflexe de retraitement de la queue et son écart type standard chez les souris à 30 min, 60 min, 90 min. et 120 min.

**Tableau 12 : Résultats du test de Tail-Flick (temps moyen de réflexe de retraitement de la queue chez les souris prétraitées par l'extrait hydroalcoolique).**

| Témoin<br>10ml/kg                          | 1,86±0,26<br>---    | 2,12±0,13<br>---    | 2,54±0,68<br>---    | 2,78±0,21<br>---    | 2,6±0,17<br>---      |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| Extrait<br>hydroalcoolique<br>(200mg/KgPC) | 2,03±0,14<br>08,26% | 2,75±0,22<br>23,07% | 2,95±0,53<br>14,02% | 3,44±0,38<br>19,06% | 5,02±0,30<br>48,22%  |
| Extrait<br>hydroalcoolique<br>(300mg/KgPC) | 2,34±0,41<br>20,32% | 3,18±0,28<br>33,58% | 4,60±0,55<br>44,80% | 5,46±0,42<br>49,06% | 6,08±0,40<br>57,27%  |
| Extrait<br>hydroalcoolique<br>(500mg/KgPC) | 3,61±0,28<br>48,31% | 4,98±0,72<br>57,44% | 5,69±0,69<br>55,41% | 8,25±0,67<br>66,28% | 12,20±1,11<br>78,69% |
| Tramadol<br>30mg/Kg                        | 3,56±0,37<br>47,61% | 5,42±0,54<br>60,94% | 7,40±0,56<br>65,69% | 9±0,81<br>69,06%    | 11,87±1,33<br>78,09% |

Les valeurs exprimées en moyenne ± écartype.SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec n = 5.

Toutefois, l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L* aux doses de 200mg/Kg et 300mg/kg, ne présentent aucun effet sur le temps de retrait de la queue des souris, et enregistre alors, un temps inférieur à 6 secondes, à raison de (5,02±0,30) secondes et (5,46±0,42) secondes respectivement avec les doses administrées, ce qui ne permet pas d'atteindre le seuil d'inhibition de la douleur qui est de 56,66%.

Les deux doses (200mg/Kg et 300mg/Kg PC) de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L*, n'ont pas d'action analgésique central, ni effet significatif, en les comparant avec l'effet de la dose de 500mg/Kg de l'extrait ou bien l'effet de tramadol.

Les résultats montrent que le traitement des souris avec le Tramadol a augmenté le temps de réaction au stimulus thermique nociceptif (les temps de latence de retrait de la queue de la chaleur, des souris traitées et qui sont plus importants que ceux des souris témoins).

Cet effet anti-nociceptif commence à partir de 30 min, le temps de latence au stimulus nociceptif était de (5,42±0,54) secondes, qui est hautement significatif  $p < 0.001$  et persiste tout au long de l'expérimentation, avec un effet maximal à deux heures, après l'administration de tramadol où on a enregistré un temps de latence de (11,87±1,33) secondes, soit un taux d'inhibition de douleur de 78,09% (Tableau 12) qui est hautement significatif  $p < 0,001$  par rapport au lot témoin ayant reçu de l'eau distillée.

L'administration de tramadol à la dose de 30 mg/Kg, augmente de façon significative le réflexe de retrait de la queue chez les souris, 60 minutes après l'administration et dépasse le seuil normal de douleur chez les souris qui est de six secondes. En effet selon (El Houcine, 2008) un temps de retrait de queue égal ou supérieur à 6 secondes, témoigne d'une élévation du seuil de la douleur chez les souris, soit une action analgésique centrale du produit reçue.

Après une heure de l'administration, le temps de retrait de la queue passe à (7,40±0,56) secondes qui signifie un effet important ; ce dernier continue à augmenter jusqu'à atteindre un maximum de (11,87±1,33) après deux heures.

Les résultats indiquent aussi que, l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500 mg/Kg montre une augmentation du temps de réaction de retrait de la queue qui passe de (3,61±0,28) seconde, avant l'administration de l'extrait hydroalcoolique, à (5,69±0,69) secondes après 60 minutes. Donc, l'extrait hydroalcoolique possède un effet fortement significative  $p < 0.01$ , par rapport au lot témoin (l'eau distillée). En plus l'administration de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500 mg/Kg a provoqué une élévation du temps de retrait de la queue au-delà de 6 secondes (8,25±0,67) secondes, 90 minutes après son administration voir (Tableau 12), elle dépasse alors le seuil d'inhibition de la douleur normal, qui est de 06 secondes avec un pourcentage de 78,69% à la 120<sup>ème</sup> minutes



(Figure 51). L'extrait de notre plante à la dose de 500 mg/Kg semble avoir un effet analgésique centrale semblable à celui de chlorhydrate de tramadol.

En conclusion nous disons que, toute éventualité d'un effet analgésique de ces doses 200mg/Kg et 300mg/Kg semble être sans effet.

Pa contre, la dose 500mg/Kg PC de l'extrait hydroalcoolique pourrait présenter une action analgésique centrale ( $12,20 \pm 1.11$ ) secondes, similaire à celle de tramadol ( $11,87 \pm 1,33$ ) secondes.

Dans le même contexte, (Jawad, 2006), montre que le l'administration de l'extrait aqueux d'*Apium graveolens L* augmente le temps de retraitement de la queue jusqu'à ( $6.9 \pm 2.1$ ) soit un pourcentage d'inhibition de 76.9%.

Par ailleurs, Les résultats obtenus par (Nisar et al., 2015) ont démontré que l'administration de l'extrait aqueux de graines de céleri à une dose de 75 mg/kg inhibe la douleur avec un pourcentage de 53.58%.

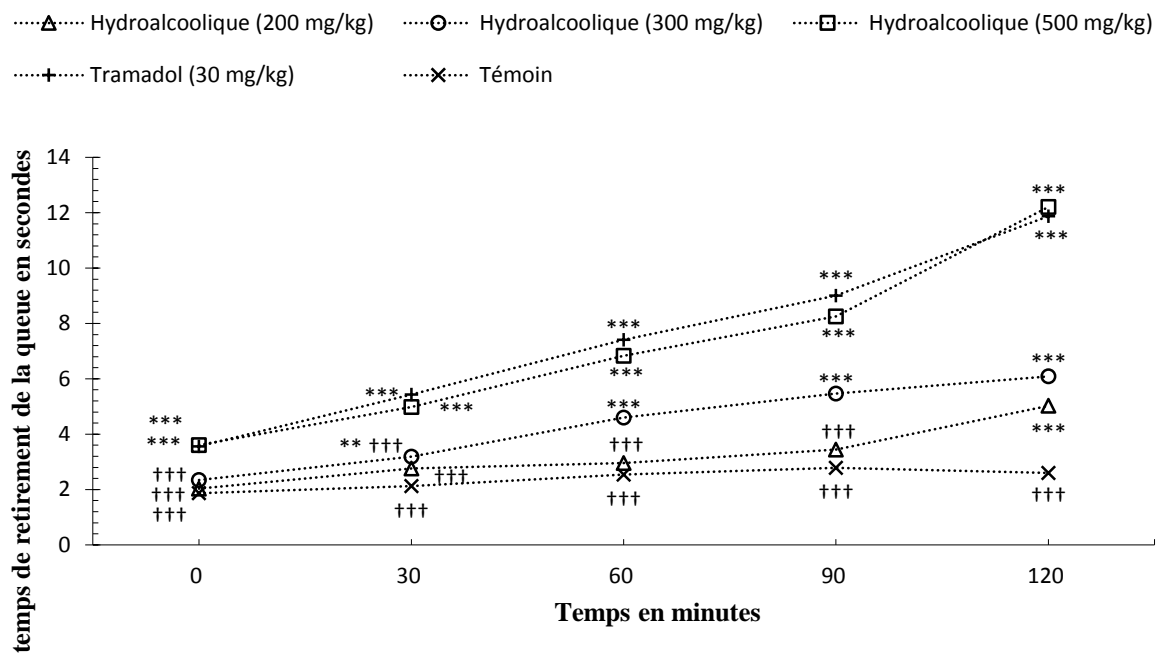


Figure 51 : Effet analgésique centrale de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens L*, du témoin et de tramadol par le test de Tail-Flick

\* :  $p < 0,05$  significative, \*\* :  $p < 0,01$  hautement significatif, \*\*\* :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au témoin (l'eau distillé).

† :  $p < 0,05$  significatif, †† :  $p < 0,01$  hautement significatif, ††† :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au référence tramadol.

### 6.3.5 Activité antipyrétique

Nous rappelons que l'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antipyrétique de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L.* Pour cela nous avons utilisé des souris auxquels nous avons injecté en sous-cutané dans la région dorsolatérale une suspension aqueuse de levure de bière à 20 %. Cette levure provoque chez ces animaux une hyperthermie. Les résultats de l'injection de ce produit sont mentionnés dans le (Tableau 13).

**Tableau 13 : Variation de la température corporelle chez les souris après injection sous-cutané de la levure de bière en fonction du temps.**

| Traitements                           | T° Avant   | Après 24 h | T° à 1h              | T° à 2h              | T° à 3h              | T° à 4h              | T° à 5h              |
|---------------------------------------|------------|------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Témoin 10ml/kg                        | 36,21±0,17 | 38,87±1,10 | 39,46±0,21           | 39,31±0,24           | 39,13±0,20           | 38,87±0,25           | 38,34±0,10,42        |
| Extrait hydroalcoolique (200mg/Kg PC) | 36,18±0,31 | 39,25±0,16 | 39,06±0,17<br>3,86%  | 38,88±0,16<br>9,97%  | 38,56±0,12<br>23,79% | 38,30±0,20<br>29,26% | 38,13±0,20<br>36,66% |
| Extrait hydroalcoolique (300mg/Kg PC) | 36,2±0,31  | 39,03±0,36 | 38,76±0,34<br>10,42% | 38,43±0,35<br>17,5%  | 38,19±0,27<br>29,17% | 37,86±0,3<br>39,17%  | 37,44±0,33<br>50,00% |
| Extrait hydroalcoolique (500mg/Kg PC) | 36,26±0,34 | 38,85±0,17 | 38,35±0,22<br>17,78% | 38,04±0,1<br>29,78%  | 37,08±0,25<br>79,56% | 36,81±0,0<br>85,33%  | 36,59±0,24<br>92,00% |
| Paracetamol 150mg                     | 36,18±0,28 | 38,69±0,23 | 38,12±0,38<br>18,50% | 37,47±0,29<br>44,09% | 36,74±0,16<br>84,25% | 36,51±0,13<br>94,09% | 36,07±0,42<br>96,06% |

Les valeurs exprimées en moyenne ± écartype.SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec n = 6

La pyrexie (hyperthermie) ou la fièvre est causée soit par une infection ou bien une inflammation. Le tissu infecté ou endommagé provoque la formation des médiateurs pro-inflammatoires (les cytokines comme les interleukines 1 $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  et TNF- $\alpha$ ), qui augmentent la synthèse des prostaglandines PGE2 au niveau de l'hypothalamus et déclenche par ce fait l'élévation de la température corporelle (Math et al., 2011).

D'après les résultats de ce test, nous constatons que l'administration de paracétamol à la dose de 150mg/Kg à réduit la température d'une façon fortement significative  $p < 0,01$  dès la première heure avec une différence de 0,5°C, par rapport au lot témoin, ayant reçu de l'eau distillé ; les résultats obtenus montrent aussi que l'administration de paracétamol montrent une diminution qui est maintenue de manière très fortement significative  $p < 0,001$  dès la première 1 heure jusqu' à la cinquième heure.

En effet la température passe de 38,12±0,38 à 36,07±0,42 °C durant le cinquième heur avec un taux d'inhibition qui augmente de 18,50% à 96,06% durant la cinquième heurs (Tableau 13), et on observe une stabilité marquée à partir de la troisième heure (Figure 52). Cet effet très important est dû à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines au sein du cerveau par l'inhibition de l'expression de COX<sub>2</sub> (cyclooxygénase). Weissmann et al., 1980 ont montré que les AINS produisent leur action antipyrétique par l'inhibition de la synthèse de

PG au sein de l'hypothalamus. En outre d'après la littérature le paracétamol agirait en inhibant, au niveau central, la production des prostaglandines impliquées dans les processus de la douleur et de la fièvre (**Aronoff, 2006**).

Par ailleurs, l'administration de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Apium graveolens L* à la dose de 500 mg/Kg a provoqué une baisse de température rectale significatif dès la première heure  $p < 0,001$ , en comparaison avec le lot témoin ayant reçu de l'eau distillé. L'effet de l'extrait s'étale dans le temps jusqu'à atteindre son taux d'inhibition maximum de 92% dans la sixième heure après l'administration. Nous constatons que l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500 mg/Kg à une action similaire au paracétamol sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les souris. En effet le paracétamol a introduit une baisse de la température qui passe de 38,12 °C durant la première heure à 36,07°C à la cinquième heure, du même, l'extrait hydroalcoolique à la dose de 500 mg/Kg à son tour, a réduit la température chez les souris de 38,35°C à 36,59 à la fin de l'expérimentation. Par conséquent, il s'avère que l'action antipyrétique de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L* à la dose de 500 mg/Kg est semblable à celle de paracétamol, cette action similaire est due à l'interférences sur la biosynthèse des prostaglandines au sein de l'hypothalamus qui sont responsable de l'apparition de la fièvre. En outre, ces propriétés antipyrétiques de l'extrait hydroalcoolique peuvent être dues aux saponosides, qui selon (**Gepdiremen et al., 2004**) sont de puissants inhibiteurs des prostaglandines. Les effets de l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L* sont des doses dépendantes.

En parallèle, l'administration de l'extrait hydroalcoolique aux doses 200 mg/kg et 300mg/kg réduit la température d'une manière significatif  $p < 0,05$  par rapport au lot témoin (l'eau distillé), mais cet effet antipyrétique est moins important par rapport à la dose de 500 mg/kg ; et l'extrait hydroalcoolique à ces doses enregistre un taux d'inhibition durant la cinquième heure de 36,66% et 50% respectivement. Ainsi, la figure ci-contre illustre parfaitement les résultats de cette activité.

Dans le même contexte, (**Bursac et al., 2008**) a motrer que l'administration de l'extrait de céleri entraine une diminution significative de la température qui passe de 35.5°C au cours de la 02<sup>ème</sup> heure à 34°C dans la 5<sup>ème</sup> heure.

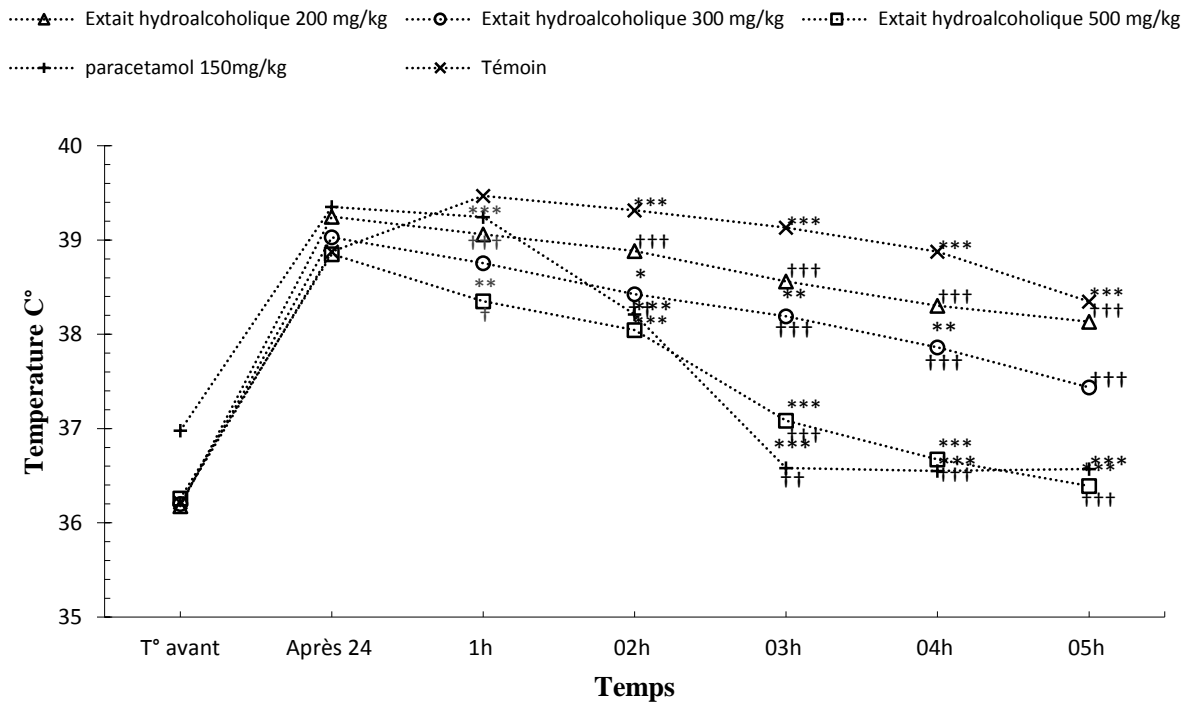


Figure 52 : Evolution de température rectale des souris avant et après injection de levure de bière.

\* :  $p < 0,05$  significative, \*\* :  $p < 0,01$  hautement significatif, \*\*\* :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au témoin (l'eau distillé).

† :  $p < 0,05$  significatif, †† :  $p < 0,01$  hautement significatif, ††† :  $p < 0,001$  fortement significatif par rapport au référence paracétamol.

### 6.3.6. Activité cicatrisante

#### ▪ Teste d'irritation cutané (teste de Draize)

**Évaluation de l'indice d'irritation cutanée primaire (IP) :** L'indice d'irritation primaire cutanée (IP) a été déterminé en additionnant les chiffres obtenus pour l'érythème et l'œdème, à chaque temps de lecture (24 et 72 heures après l'application), sur les 12 zones d'application animaux puis en divisant le total par 24 :

#### 1) Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée de l'extrait hydroalcoolique :

Les résultats de l'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'extrait hydroalcoolique sont dans le (tableau 14) :

**Tableau 14 : L'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'extrait hydroalcoolique**

| Résultats après 24 heures |       |          | Résultats après 72 heures |       |          |
|---------------------------|-------|----------|---------------------------|-------|----------|
| Rtas                      | Œdème | Érythème | Rats                      | Œdème | Érythème |
| <b>Rat 1</b>              | 02    | 1        | <b>Rat 1</b>              | 1     | 00       |
| <b>Rat 02</b>             | 02    | 1        | <b>Rat 02</b>             | 1     | 00       |
| <b>Rat 03</b>             | 02    | 1        | <b>Rat 03</b>             | 1     | 00       |
| <b>Rat 04</b>             | 03    | 02       | <b>Rat 04</b>             | 02    | 1        |
| <b>Rat 05</b>             | 1     | 1        | <b>Rat 05</b>             | 00    | 00       |
| <b>Rat 06</b>             | 02    | 1        | <b>Rat 06</b>             | 1     | 00       |

Pour classer notre produit, il faut calculer l'indice d'irritation primaire à partir de l'équation

$$\text{IP} = \frac{\sum 24 \text{ h ( Œdème + Erythèmes )} + \sum 72 \text{ h ( Œdème + Erythèmes )}}{24}$$

$$\text{IP} = 1,08$$

Selon le résultat obtenu, l'indice d'irritation primaire  $0.5 < \text{IP} < 2$ , ce qui nous amène à conclure que l'extrait hydroalcoolique est légèrement irritant voir (Figure 52).

#### 2) Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée d'huile essentielle :

Les résultats de l'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'huile essentielle sont dans le (tableau 15) :

**Tableau 15 : L'évaluation de l'irritation primaire chez les rats traités par l'huile essentielle**

| Résultats après 24 heures |       |          | Résultats après 72 heures |       |          |
|---------------------------|-------|----------|---------------------------|-------|----------|
| Rats                      | Œdème | Érythème | Rats                      | Œdème | Érythème |
| <b>Rat 1</b>              | 00    | 00       | <b>Rat 1</b>              | 00    | 1        |
| <b>Rat 02</b>             | 00    | 1        | <b>Rat 02</b>             | 00    | 00       |
| <b>Rat 03</b>             | 00    | 1        | <b>Rat 03</b>             | 00    | 00       |
| <b>Rat 04</b>             | 00    | 1        | <b>Rat 04</b>             | 00    | 00       |
| <b>Rat 05</b>             | 00    | 1        | <b>Rat 05</b>             | 00    | 00       |
| <b>Rat 06</b>             | 00    | 00       | <b>Rat 06</b>             | 00    | 00       |

Pour classer notre produit, il faut calculer l'indice d'irritation primaire à partir de l'équation suivantes :

$$\text{IP} = \frac{\sum 24 \text{ h ( Œdème + Erythèmes )} + \sum 72 \text{ h ( Œdème + Erythèmes )}}{24}$$

$$\text{IP} = 0,20$$

Selon le résultat obtenu, l'indice d'irritation primaire  $IP < 0.5$ , nous amène à conclure que l'huile essentielle est non irritante. D'après le (tableau 15) les phénomènes observés sont uniquement des érythèmes avec un degré variable au cours de la 1<sup>ère</sup> observation et une diminution remarquable après 72 heures. Il est noté également l'absence totale d'œdème durant toute la période de l'expérimentation, ce qui nous permet l'application cutanée de l'huile essentielle d'*Apium graveolens L* n'est pas irritant ce qui nous permet l'utiliser on application cutanée sur la peau au cours de cette activité cicatrisante, l'extrait hydroalcoolique est légèrement irritant cela ne nous empêche pas de l'utiliser dans l'activité cicatrisante.

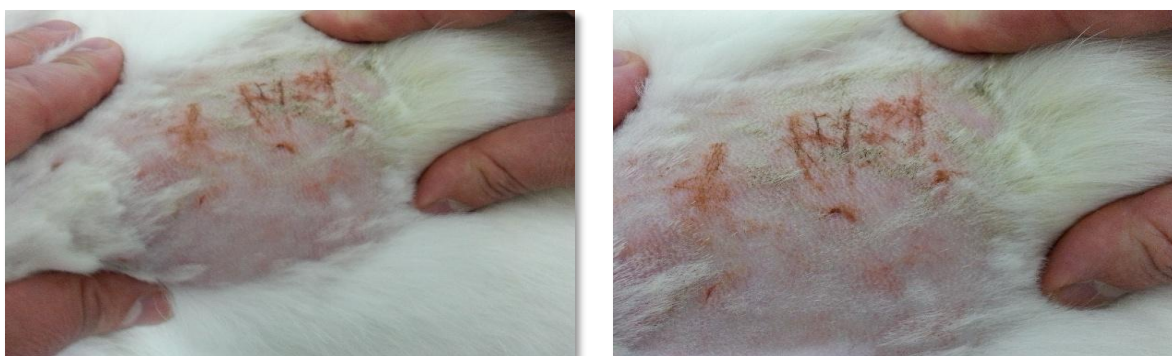


Figure 53 : Photo de l'apparition Œdème et Érythème chez les rats après 24 h et 72 heures (Cliché Dellal, 2017).

#### Evaluation des paramètres (Poids, Température et cicatrisation)

##### ▪ Evolution du poids pondéral

Les animaux ont été pesés le jour de l'opération ( $J_0$ ) et la mesure de poids est suivie régulièrement tout au long de l'expérience ( $J_0$ ,  $J_{03}$ ,  $J_{06}$ ,  $J_{09}$ ,  $J_{12}$ ,  $J_{15}$ ,  $J_{18}$  et  $J_{21}$ ). Les résultats sont montrés dans le (Tableau 16) et la (Figure 53).

Tableau 16 : Evolution du poids pondéral (gr) pendant la période de cicatrisation selon les différents types du traitement.

| Traitements               | $J_0$     | $J_3$    | $J_6$     | $J_9$      | $J_{12}$  | $J_{15}$  | $J_{18}$  | $J_{21}$  |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Témoin                    | 246,2±6,8 | 236,2±8  | 227±8,6   | 216,4±10,8 | 202±8,09  | 179,2±8,5 | 193,2±9,7 | 228,4±7,4 |
| Référence (Hibermine)     | 254,6±5,4 | 246,6±09 | 242,8±6,6 | 253,4±5,7  | 264±5,8   | 277±6,2   | 286,2±6,5 | 308,6±12  |
| L'extrait hydroalcoolique | 251,8±5,4 | 244±5,6  | 235,2±3,9 | 226,6±2,4  | 219,4±4,1 | 230,8±3,8 | 243,6±3,9 | 256,4±2,8 |
| Huile essentielle         | 254,8±4,4 | 247±7,6  | 236,8±6,3 | 247,8±6,02 | 257,2±4,4 | 267,4±6,1 | 276,4±5,8 | 294,4±4,7 |

Les valeurs exprimées en moyenne± ecartype.SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec  $n = 5$ .

Au début de l'expérience Il n'existe pas de différence significative entre les poids des différents groupes avec un poids moyen initial pratiquement identique d'environ 250 grammes.

Après trois jours de l'opération  $J_3$  et jusqu'au sixième jour, les valeurs obtenues indiquent une baisse légère et significative ( $p < 0,05$ ) du poids corporel chez les rats opérés et traités par

l'huile essentielle et l'hibermine (Figure 54), avec une diminution d'environ 09% mais, cette diminution ne dure qu'un peu de temps elle est temporaire et les rats vont rapidement reprendre de poids à partir de 09 jours. En effet les valeurs obtenues vingt-quatre jours de l'opération montrent clairement un rétablissement du poids pondéral chez les deux groupes (huile essentielle et hibernine), avec une augmentation moyenne de plus 39,6 gr et 54 gr respectivement pour les deux groupes, soit une augmentation de 15% pour lot traitée par l'huile essentielle et 21% pour le lot traité par hibernine (Tableau 16).

La même variation de poids pondéral est observée dans le groupe traité avec de l'extrait hydroalcoolique et le groupe témoin non traité mais, la période de perte de poids est assez longue dans ces deux groupes par rapport aux lots traités par l'huile essentielle et hibernine. En effet la diminution de poids pondéral chez les rats non traités commence à partir 03<sup>ème</sup> jour et s'étale jusqu'au 18<sup>ème</sup> jours de l'opération, avec une diminution d'environ 21, % soit 53 gr de poids perdu.

La même remarque est observée chez le lot traité avec de l'extrait hydroalcoolique qui enregistre une diminution de poids à partir de 03<sup>ème</sup> jours jusqu'au 15<sup>ème</sup> jours de l'opération avec une diminution de 21 gr soit une augmentation de 3,6%.

Malgré cette prise de croissance pondérale 3,6% à la fin de la période de l'expérimentation, pour les deux groupes traités par l'extrait hydroalcoolique et le lot non traité (témoin), il reste très faible par rapport à celle enregistrée par les deux groupes traités par l'huile essentielle et hibernine qui ont enregistrés une croissance pondérale de 15% et 21% respectivement.

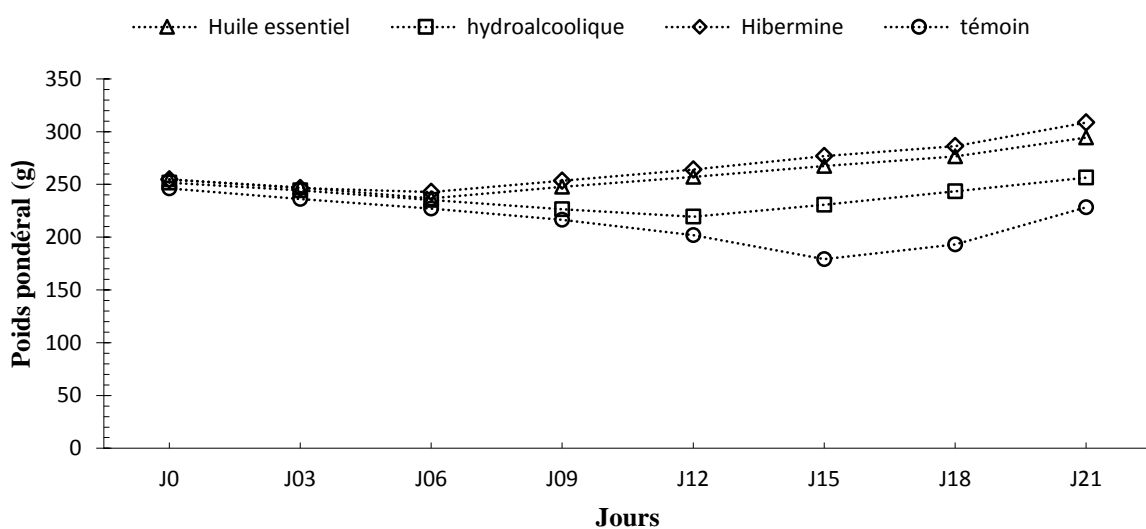


Figure 4 : Evolution du poids corporel (gr) pendant la période de cicatrisation selon les différents types du traitement et en fonction du temps.

Durant la période de cicatrisation qui s'étale sur 21<sup>ème</sup> jours, l'évolution pondérale a été suivie tout au long de l'expérience. Au début de l'expérience tous les rats ont un poids moyen pratiquement identique ( $251,85 \pm 4$ ) puis un ralentissement de la croissance pondérale des rats traités et non traités est observé 03<sup>ème</sup> jours après l'opération ; la durée de cette baisse de poids varie d'un groupe ou bien d'un lot à un autre. En effet la diminution de poids chez lot traité par l'huile essentielle et hibermine est très courte et le reprise de poids s'installe rapidement avec une augmentation de poids pondéral moyenne de 45 gr. Tandis que la diminution de poids 21gr chez lots traités par l'extrait hydroalcoolique et 67gr pour lot non traité est cela persiste dans le temps et dure jusqu'au 15<sup>ème</sup> jours de l'opération.

Ces résultats durant la première période de l'opération montrent clairement que la diminution du poids corporel, indépendamment de la nature du traitement, est probablement liée à l'effet direct du traumatisme lésionnaire et d'autres facteurs physiopathologiques du processus de cicatrisation.

En effet, plusieurs facteurs pourraient être impliqués dans cette diminution ou cette altération de la croissance pondérale. Etant donné l'importance du processus de défense de l'organisme, le traumatisme de l'excision qui nécessite l'intervention de plusieurs systèmes est fonctions organiques et biologiques telles que la synthèse protéique (ex : collagène) et la croissance de différentes souches cellulaires participant et/ou impliquées dans le processus physiopathologique post-traumatique. Ainsi la diminution de la consommation des nourritures constatée durant la première période de l'opération sous l'effet de la douleur induite par la brûlure, peut être indirectement impliquée dans le ralentissement de la croissance pondérale chez les animaux.

#### ▪ Evolution de Température (C°) corporelle :

La température corporelle des animaux a été mesuré tout le long de l'expérimentation tous les trois jours en parallèle avec le poids. Les résultats sont mentionnés dans le (Tableau 17) et la (figure 55).

**Tableau 17 : Evolution de la température corporelle (C°) pendant la période de cicatrisation selon les différents traitements.**

| Traitements                  | J <sub>0</sub> | J <sub>3</sub> | J <sub>6</sub> | J <sub>9</sub> | J <sub>12</sub> | J <sub>15</sub> | J <sub>18</sub> | J <sub>21</sub> |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Témoin                       | 36,4±0,3       | 36,54±0,       | 36,58±0,       | 36,76±0,1      | 36,58±0,1       | 36,62±0,2       | 36,68±0,2       | 36,66±0,2       |
| Référence<br>(Hibermine)     | 36,46±0,3      | 36,5±0,1       | 36,36±0,1      | 36,34±0,2      | 36,32±0,3       | 36,22±0,2       | 36,38±0,1       | 36,34±0,2       |
| L'extrait<br>hydroalcoolique | 36,3±0,2       | 36,5±0,2       | 36,66±0,2      | 36,76±0,2      | 36,84±0,2       | 36,56±0,2       | 36,36±0,2       | 36,32±0,2       |
| Huile essentielle            | 36,7±0,4       | 36,8±0,3       | 36,7±0,4       | 36,54±0,3      | 36,7±0,2        | 36,64±0,2       | 36,78±0,2       | 36,78±0,2       |

Les valeurs exprimées en moyenne± ecartype.SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec n = 5.



La température est quotidiennement évaluée au niveau rectal. Selon les résultats obtenus on constate une stabilité des valeurs enregistrées qui varient entre  $(36,3\pm 0,2$  et  $36,86\pm 0,2)$  tout au long de l'expérience. Quel que soit la nature des animaux (traités et intacts) et/ou le type du traitement, la température corporelle reste statiquement identique proche aux valeurs normales ou physiologiques (Tableau 17).

Contrairement au phénomène de décroissance pondéral observé chez les rats opérés durant la première période de la cicatrisation, la température corporelle des animaux n'a pas significativement modifié et/ou augmentée chez tous les groupes, quel que soit le lot traité ou sans traitement, malgré les douleurs lie à la brûlure (Figure 55). Ceci peut être expliqué par la résistance de ces animaux aux processus inflammatoire qui s'installe après la brûlure d'une part, et à l'action du système immunitaire chez le rat d'autre part.

Les résultats obtenus de l'évolution du poids pondéral et de la température corporelle des rats traités ou sans traitement durant la période de cicatrisation nous permet d'exclure une possible implication ou une influence de ces paramètres généraux sur l'évolution du processus cicatriciel.

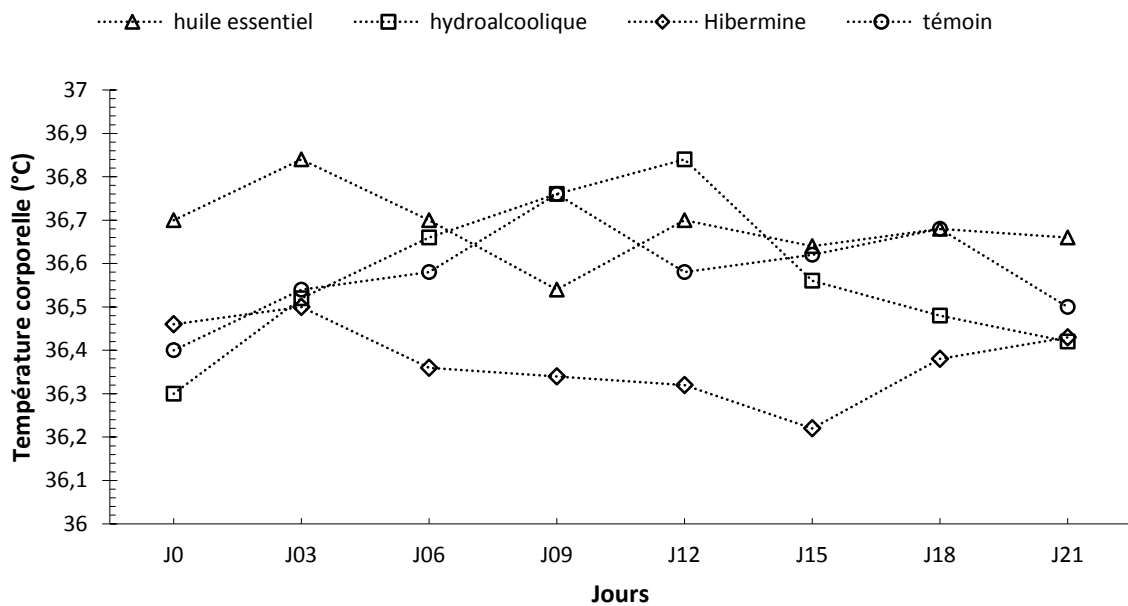


Figure 55 : Evolution de la température corporelle chez les rats traités et non traités en fonction du temps.

### ▪ Evolution du processus cicatriciel des plaies


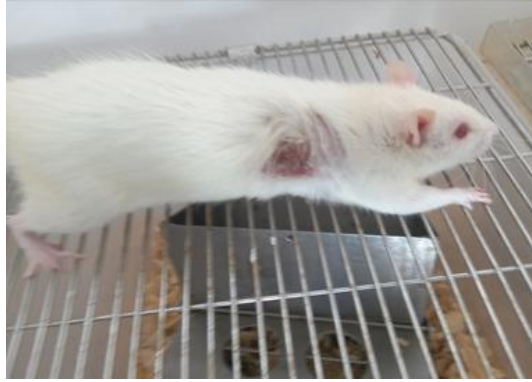
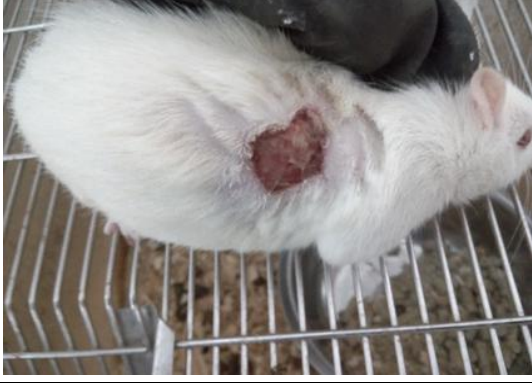



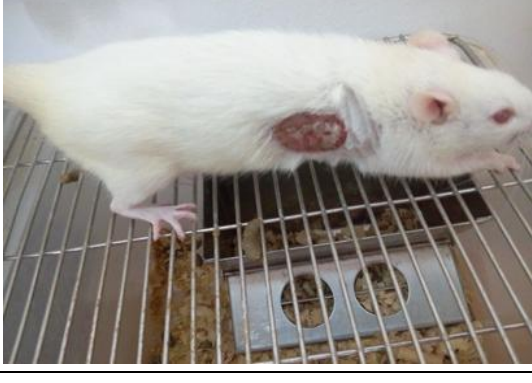

Au cours de la période de cicatrisation de 21 jours et selon un intervalle du temps précis, les surfaces de brûlure ont été régulièrement mesurées et photographiées. L'évaluation de l'évolution de la surface de chaque plaie d'excision est réalisée sur les animaux traités et non traités, la comparaison entre les différents groupes est indiquée dans le (Tableau 18) et la (Figure 56).

**Tableau 18 : Surface moyenne (cm<sup>2</sup>) et % de rétrécissement de la surface initiale de la brûlure dans le temps**

| Traitements                      | J <sub>0</sub> | J <sub>3</sub> | J <sub>6</sub> | J <sub>9</sub> | J <sub>12</sub> | J <sub>15</sub> | J <sub>18</sub> | J <sub>21</sub> |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>Témoin</b>                    | 05,86±0,3      | 04,95±0,3      | 04,27±0,23     | 03,6±0,32      | 03,26±0,27      | 02,99±0,2       | 02,68±0,2       | 0,79±0,28       |
|                                  | ---%           | ----%          | ----%          | ----%          | ----%           | ----%           | ----%           | ----%           |
| <b>Référence (Hibermine)</b>     | 05,95±0,30     | 2,99±0,35      | 2,10±0,29      | 1,42±0,37      | 0,005±0,00      | 0,00±0,00       | 0,00±00         | 0,00±00         |
|                                  | <b>00,00 %</b> | <b>39,57%</b>  | <b>50,78%</b>  | <b>60,38%</b>  | <b>99,83%</b>   | <b>100%</b>     | <b>100%</b>     | <b>100%</b>     |
| <b>Huile essentielle</b>         | 05,69±0,3      | 3,84±0,37      | 2,74±0,05      | 1,99±0,2       | 0,18±0,02       | 0,05±0,0        | 00±00           | 00±00           |
|                                  | <b>02,93%</b>  | <b>22,82%</b>  | <b>35,81%</b>  | <b>44,72%</b>  | <b>94,22%</b>   | <b>98,25%</b>   | <b>100%</b>     | <b>100%</b>     |
| <b>L'extrait hydroalcoolique</b> | 05,75±0,3      | 04,72±0,4      | 3,79±0,3       | 3,15±0,4       | 2,07±0,33       | 1,46±0,2        | 0,43±0          | 0,19±0          |
|                                  | <b>08,43%</b>  | <b>04,51%</b>  | <b>11,19%</b>  | <b>12,32%</b>  | <b>36,45%</b>   | <b>51,29%</b>   | <b>83,9%</b>    | <b>100%</b>     |

Les valeurs exprimées en moyenne± ecartype. SEM. (Erreur standard sur la moyenne) avec n=5.

Les résultats obtenus de notre étude montrent qu'aucune modification significative de la surface des plaies n'est observée durant les trois premiers jours de brûlure (Tableau 18) et (Figure 55) durant les quelles le pourcentage de l'évolution de rétrécissement, (%) est varié entre 0 % pour le groupe de référence (hibermine), 2,93% pour le lot traité par l'huile essentielle et 8,43% pour lot traité par l'extrait hydroalcoolique voir (Tableau 18). Donc, au cours de la première phase qui s'étale entre le premier et le troisième jour de processus cicatriciel il n'y a pas de différence significative entre les quatre groupes.

|                                |   |  |
|--------------------------------|---|--|
| <b>Non traité</b>              |    |    |
| <b>Extrait hydroalcoolique</b> |    |    |
| <b>Hibernine</b>               |   |   |
| <b>Huile essentiel</b>         |  |  |
| <b>Jour</b>                    | <b>J0</b>   | <b>J03</b>   |

L'évolution du processus cicatriciel des plaies est observée après la période qui s'étale entre le 06<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jours du traitement (Tableau 16) clairement indique que le pourcentage de rétrécissement de la surface de plaie et hautement significative  $p < 0,001$  dans

les deux groupes traités avec l'huile essentielle et l'hibermine avec un pourcentage de cicatrisation de 94,22% et 99,83% respectivement entre le 9<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour, l'effet bénéfique et potentialisant de l'huile essentielle et l'hibermine est nettement observé durant la période entre le 6<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour de l'opération. Par ailleurs, les deux lots traités par l'extrait hydroalcoolique et non traité n'enregistrent aucun rétrécissement dans la surface de plaie dans cette même période de processus cicatriciel avec un taux de cicatrisation de 12,32%, 36,45% respectivement dans le 9<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour.

Les observations visuelles indiquent la présence des signes d'infection autour de la plaie chez les animaux contrôles (non traité) durant cette même période et un degré moindre avec le lot traité par l'extrait hydroalcoolique. De même un ralentissement est enregistré durant cette période chez le groupe traité avec l'extrait hydroalcoolique, avec un taux de cicatrisation qui ne dépasse pas 36,45% qui est très faible en comparaison avec de taux de cicatrisation chez les groupes traités avec l'huile essentielle et l'hibermine avec un taux qui dépasse 94 % et 99 % respectivement (Figure 56).

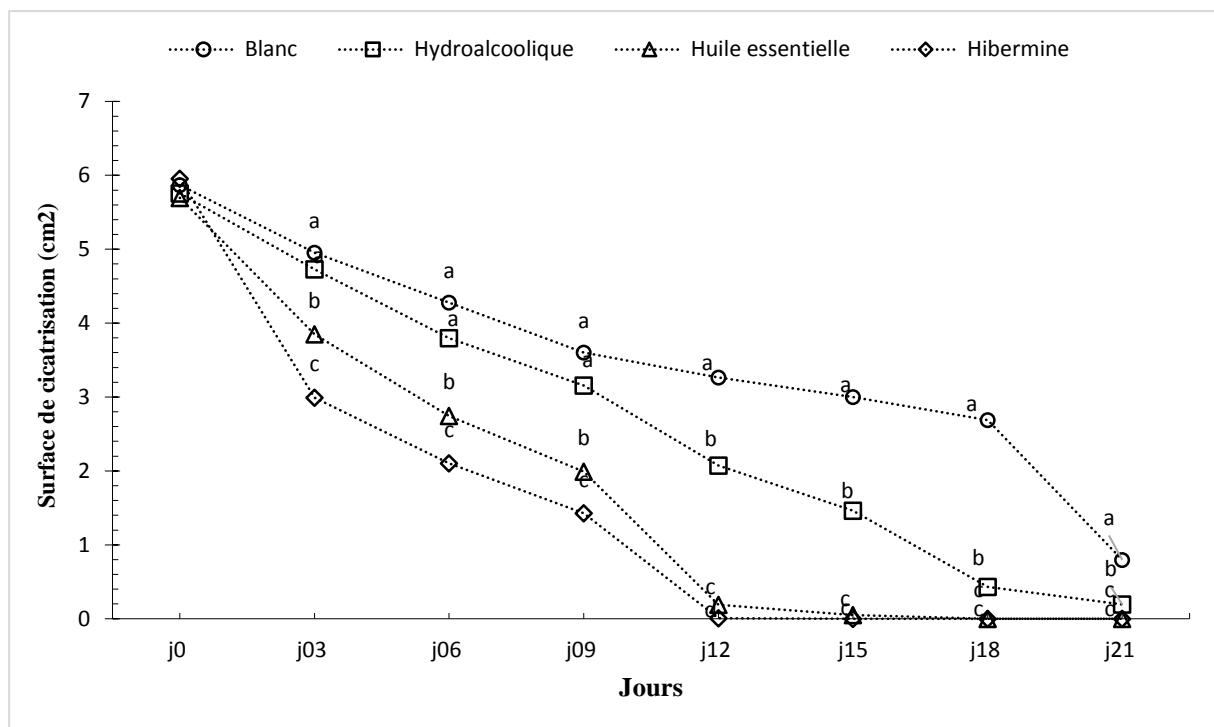
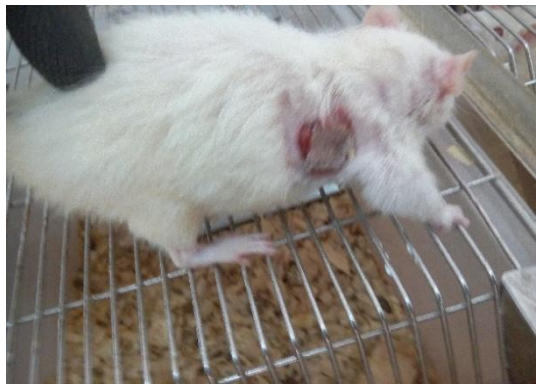
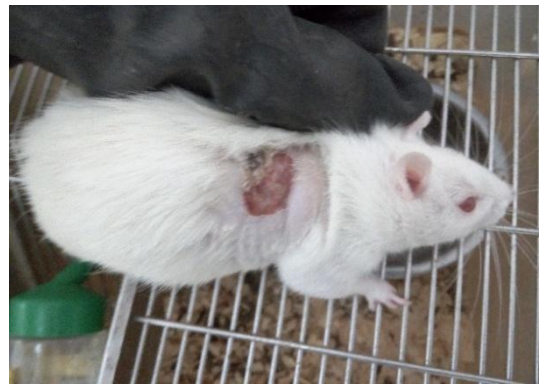
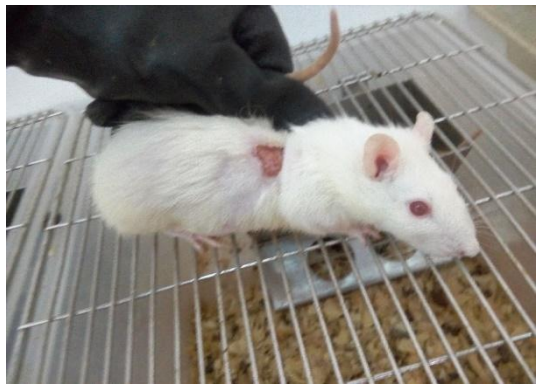



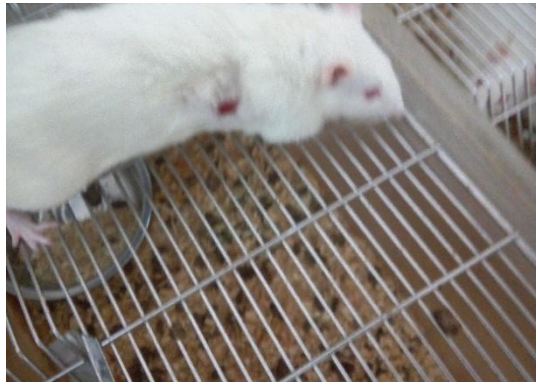



Figure 56 : Evolution de processus cicatriciel des différents traitements en fonction du temps.



|                         |   |  |
|-------------------------|---|--|
| Non traité              |    |    |
| Extrait hydroalcoolique |    |    |
| Hibermine               |   |   |
| Huile essentielle       |  |  |
| Jour                    | <b>J09</b>  | <b>J12</b>   |

Durant la troisième partie de processus de cicatrisation qui s'étale entre quinzième et le vingtième jour, et qui représente la phase finale de la cicatrisation ont remarqué que lot traité par hibernine produit de référence à marquer un taux de rétrécissement de 100%, la même remarque pour le lot traité par huile essentielle d'*Apium graveolens* avec un taux de






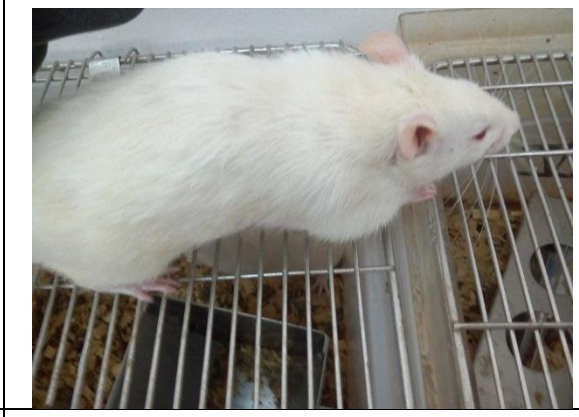


rétrécissement de la surface de brûlure estimé par 100%. L'évaluation morphologique à l'œil nues des plaies indique chez les deux lots traités respectivement par l'hibermine et l'huile essentielle, une réépithélisation spontanée à partir des bords de la plaie d'une part et une diminution remarquable du diamètre de la plaie, la cicatrisation est presque totale, d'autre part, de plus l'intensité de la coloration rouge, diminue progressivement durant cette phase on peut la justifier par la formation du collagène. Cette diminution de la coloration rouge et accompagné par la formation d'une croûte protectrice brunâtre observée à la fin de cette troisième phase, le rôle de cette croûte c'est la protection de la plaie contre les infections et les irritations cutanées.

En effet, selon les études physiopathologiques, cette période correspond à la phase proliférative du processus cicatriciel, elle est caractérisée par la formation du tissu de granulation et du phénomène épithélialisation (Martin, 1997 ; Singer et Clark, 1999 ; MacKay et Miller, 2003 ; Enoch et John Leaper, 2005, Bensegueni, 2007).

A la fin de notre expérience, on a remarqué une repousse des poils chez les rats des deux lots traités toujours par l'hibermine et l'huile essentielle qui ont récupéré leurs poils entièrement cela signifie la cicatrisation totale de plaie, d'ailleurs les follicules pileux sont d'importants réservoirs de cellules souches pouvant régénérer l'épiderme. Ils jouent probablement un rôle important dans la guérison des plaies, contrairement aux lots traités par l'extrait hydroalcoolique qui ont récupéré que 50% de leurs poils alors que les rats du lot non traité n'ont aucun cas de repousse.

A la lumière des résultats de cette étude, on peut conclure que l'huile essentielle d'*Apium graveolens L* a une action cicatrisante très remarquable durant les phases du processus cicatriciel des plaies d'excision chez les rats. Cette activité est probablement associée aux différents constituants phytochimiques, notamment la présence des monoterpènes comme le limonène, myrcène et bêta-caryophyllène ces derniers représentent les constituants essentiels d'huile essentielle d'*Apium graveolens L* ils ont à la fois une action anti-inflammatoire, donc ils empêchent les infections au niveau des plaies d'une part et ils agissent comme un antiseptique topique d'autre part ce qui favorise le processus cicatriciel. En plus l'analyse phytochimique d'huile essentielle a montré la présence de dihydrocarvone dérivé de la molécule de carvone appartient à la famille des terpènes ce dernier aide à la cicatrisation en favorisant la reconstitution de la peau après une blessure.



|                                |   |  |
|--------------------------------|---|--|
| <b>Non traité</b>              |    |    |
| <b>Extrait hydroalcoolique</b> |   |   |
| <b>Hibermine</b>               |  |  |
| <b>Huile essentielle</b>       |  |  |
| <b>Jour</b>                    | <b>J15</b>  | <b>J21</b>   |

### 6.3.7. Etude du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'extrait hydroalcoolique

#### ▪ Sensibilité des souches aux antibiotiques (Antibiogramme)

La connaissance de la sensibilité des bactéries pathogènes est un élément essentiel pour une thérapeutique adaptée et une utilisation rationnelle des antibiotiques. La sensibilité des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés est décrite dans le (tableau 19).

**Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'antibiogramme et sensibilités des souches microbiennes**

| Antibiotiques        | µg/ml | Diamètres des zones d'inhibitions et sensibilités |     |                              |     |                               |    |
|----------------------|-------|---|-----|------------------------------|-----|-------------------------------|----|
|                      |       | <i>Escherichia coli</i>                           |     | <i>Staphylococcus aureus</i> |     | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |    |
|                      |       | D   | S   | D                            | S   | D                             | S  |
| <b>Ampicilline</b>   | 10 µg | 14,66±0,57  | +   | 27,33±0,57                   | +++ | 00,00±0,00                    | -  |
| <b>Erythromycine</b> | 15 µg | 24,00±1,00  | +++ | 29,33±0,57                   | +++ | 00,00±0,00                    | -  |
| <b>Colistine</b>     | 10 µg | 00,00±0,00  | -   | 00,00±0,00                   | -   | 15,00±0,00                    | ++ |

**D : diamètre de la zone d'inhibition ; S : sensibilité ; - : résistante ; + : sensible ; ++ : très sensible.**

Pour les trois souches, la comparaison de la sensibilité, traduite par les diamètres des zones d'inhibition obtenus, selon la méthode de diffusion, montre que les trois souches ont exprimé une sensibilité variable vis-à-vis les trois antibiotiques utilisés. Erythromycine présente un spectre antimicrobien très important sur les deux souches *E. coli* et *S. aureus* par contre pour *P. aeruginosa* elle est résistante, la même chose pour l'ampicilline qui possède un spectre antimicrobien très important sur les même souches *E. coli* et *S. aureus*.

Par contre colistine n'a pas d'effet sur *E. coli* et *S. aureus*, mais il possède un effet remarquable sur *P. aeruginosa*.

#### ▪ Sensibilité des souches aux extraits

L'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne, de l'huile essentielle et de l'extrait hydroalcoolique testées, est effectuée par la méthode des puits. La mesure en millimètres, du diamètre des zones d'inhibition des cultures, permet d'évaluer l'efficacité ou non de l'huile essentielle sur les germes testés.

D'une manière générale, l'huile essentielle testé a exercé une activité antibactérienne plus accru que celle enregistrée par l'extrait hydroalcoolique, les résultats de ce test sont portés le tableau (Tableau 20) et (Tableau 21).



Tableau 20 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Apium graveolens L.*

| Concentrations | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) et sensibilité des souches bactériennes |   |                              |    |                               |   |
|----------------|---|---|------------------------------|----|-------------------------------|---|
|                | <i>Escherichia coli</i>   |   | <i>Staphylococcus aureus</i> |    | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |   |
|                | D   | S | D                            | S  | D                             | S |
| 100%           | 11,33±0,58  | + | 18,33±0,57                   | ++ | 13,33±0,57                    | + |
| 75%            | 10,00±1,00  | + | 14,00±1,00                   | +  | 10,66±0,57                    | + |
| 50%            | 08,66±0,57  | - | 13,00±1,00                   | +  | 10,33±1,00                    | + |
| 25%            | 07,00±1,00  | - | 10,66±1,15                   | +  | 07,00±0,57                    | - |
| 12,5%          | 05,66±0,57  | - | 09,33±1,15                   | -  | 05,00±1,15                    | - |

D : diamètre de la zone d'inhibition ; S : sensibilité ; - : résistante ; + : sensible ; ++ : très sensible.

Tableau 21 : Activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique.

| Concentrations | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) et sensibilité des souches bactériennes |   |                              |   |                               |   |
|----------------|---|---|------------------------------|---|-------------------------------|---|
|                | <i>Escherichia coli</i>   |   | <i>Staphylococcus aureus</i> |   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |   |
|                | D   | S | D                            | S | D                             | S |
| 100%           | 08,67±0,58  | + | 13,33±0,58                   | + | 10,33±0,58                    | + |
| 75%            | 06,33±0,58  | - | 11,00±1,00                   | + | 08,67±0,58                    | + |
| 50%            | 05,67±0,58  | - | 09,67±0,58                   | + | 07,00±0,58                    | - |
| 25%            | 05,33±0,58  | - | 09,33±0,58                   | + | 03,33±0,58                    | - |
| 12,5%          | 04,33±1,15  | - | 08,33±0,58                   | - | 00,00±0,00                    | - |

D : diamètre de la zone d'inhibition ; S : sensibilité ; - : résistante ; + : sensible ; ++ : très sensible.

A travers nos résultats, mentionnés dans le (Tableau 20) l'huile essentielle d'*Apium graveolens L* a montré un effet inhibiteur contre tous les souches testées, cet effet est variable selon les souches et la concentration d'huile. Ainsi, on constate que La souche *S. aureus*, Gram (+), est très sensible avec un diamètre de (18,33±0,57mm) avec l'utilisation d'huile essentielle brute à 100% mais le diamètre diminue avec la diminution de la concentration d'huile essentielle. Cependant, *E. coli* et *P. aeruginosa*, Gram (-) révèle une sensibilité moins importante (11,33±0,58 mm) et (13,33±0,58 mm) respectivement que celle de *S. aureus*, Gram (+). D'ailleurs, Plusieurs travaux comme (Burt, 2004 ; Xianfei et al., 2007 ; Sandri et al., 2007 ; Al-Bayati et al., 2008 ; Zarai et al., 2011), ont rapporté que les bactéries Gram (+) sont plus susceptibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram (-).

La grande résistance des bactéries Gram négatif est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane imperméable aux composés hydrophobes grâce à son revêtement lipopolysaccharide, Cette structure peut empêcher la prise d'huiles ou protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles. En effet ce dernier constitue une barrière d'imperméabilité aux substances hydrophobes, susceptibles d'entrer et d'empêcher la croissance des bactéries (Raven, 2000 ; Oussalah et al., 2006). Nos résultats portés dans le (Tableau 22) et (Tableau 23) montrant clairement que *S. aureus*, Gram (+) est très sensible à l'huile essentielle avec un diamètre de (18,33±0,57 mm) par rapport aux *E. coli* et *P. aeruginosa*, Gram (-) dans le diamètre ne dépasse pas (13,33±0,58 mm).

Tableau 22 : Diamètre d'inhibition des différentes souches étudiés.







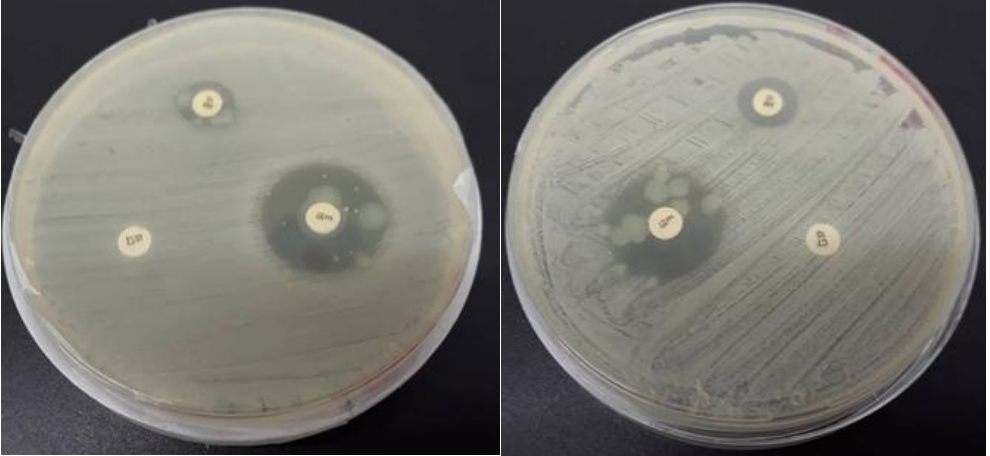
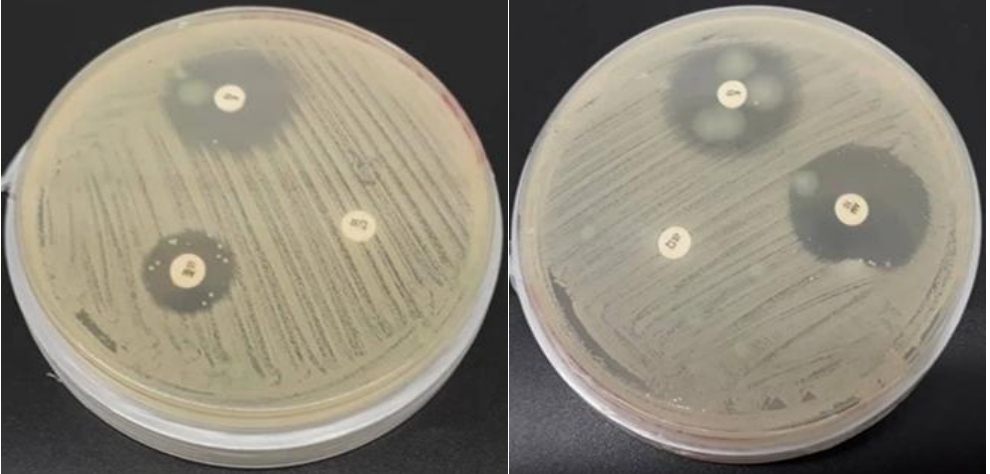
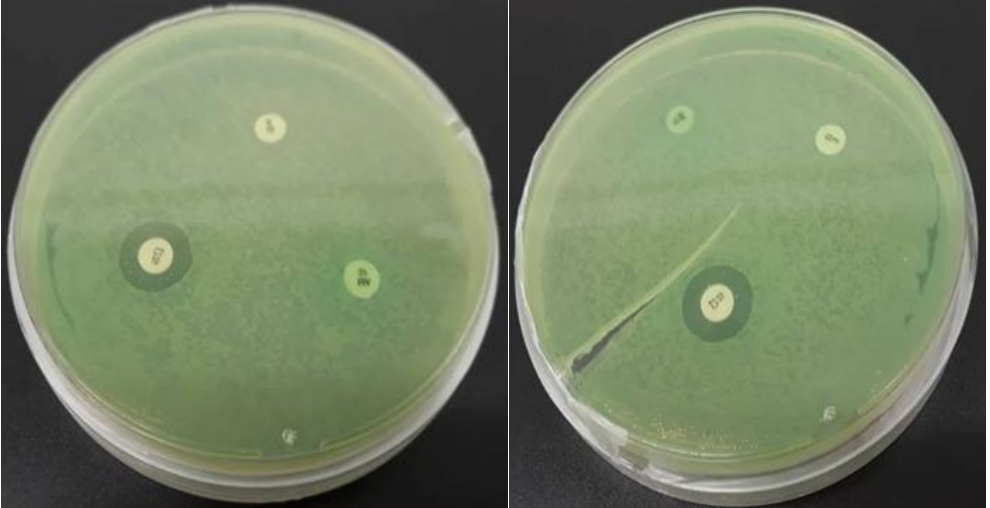
| Souches                           | Huile essentielle   | Extrait hydroalcoolique  |
|-----------------------------------|---|--|
| Escherichia coli ATCC 25922       |    |    |
| Staphylococcus aureus ATCC 25923  |   |   |
| Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 |  |  |

Tableau 23 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme

| Souches                                  |  |
|--|--|
| <b>Escherichia coli ATCC 25922</b>       |    |
| <b>Staphylococcus aureus ATCC 25923</b>  |   |
| <b>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</b> |  |

De plus, L'absence de cette barrière, chez les bactéries Gram (+) permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique (**Sandri et al., 2007 ; Al-Bayati et al., 2008 ; Randrianariveloet al., 2009**).

Donc l'utilisation d'huile essentielle d'*Apium graveolens L* brute à un effet remarquable sur toutes les souches mais bien précisément sur *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de (18,33±0,57 mm). Ce dernier déminue progressivement avec la diminution de la concentration d'huile jusqu'à (09,33±1,15mm) avec la concentration 12,5%. Contrairement à *S. aureus* les deux autres souches *E. coli* et *P. aeruginosa* paraît plus résistantes à l'huile essentielle à faible concentrations, mais en même temps sensible à l'huile à l'état brute donc à 100%. L'utilisation d'huile essentielle révèle une variabilité importante dans la réaction. Cette variabilité est liée d'une part à la concentration d'huile essentielle et au type de souches (Gram positif et Gram négatif) d'autre part. En effet selon (**Kalemba, 2003**), la sensibilité d'un micro-organisme à une huile essentielle dépend des propriétés de celle-ci et du microorganisme lui-même. Cette activité antibactérienne peut être attribuée principalement aux constituants majoritaires, car le mode d'action des composants mineurs des huiles essentielles est inconnu (**Filippi, 2006**).

L'activité antimicrobienne de notre huile essentielle est due principalement à son profil chimique. Ce dernier est riche en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés comme le (Limonène et le  $\beta$ -Pinène) et des sesquiterpènes comme  $\beta$ -Caryophyllène ses principaux constituants d'huile essentielle sont dotées par une activité antimicrobienne très importante. En effet, une étude indique que la présence de caryophyllène et le  $\alpha$ pinène dans l'HE de *Bidens pilosa* joue un rôle important dans l'activité antibactérienne. En outre, des essais affirment l'efficacité des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés sur *E. coli* ; ils sont capables de détruire l'intégrité cellulaire, en inhibant la chaîne respiratoire et le processus de transport d'ions (**Abi-ayad, 2011**). Sans oublier le rôle et l'action des composants mineurs, dans le même contexte (**Delaquis et al., 2002**) suggèrent que ces composés mineurs induisent des différences dans l'enveloppe des cellules des bactéries Gram positif.

L'extrait hydroalcoolique à son tour a un effet sur les souches testés mais à des degrés différentes (Tableau 21). En effet *S. aureus* Gram (+) est sensible à l'extrait hydroalcoolique à la dose de 100mg/ml montre une zone d'inhibition de (13,33±0,58 mm) ce diamètre diminue de façon progressive avec la diminution de la concentration de l'extrait, les deux autres souches *E. coli* et *P. aeruginosa*, à leurs tours en montrés une zone d'inhibition de



(08,67±0,58 mm) et (10,33±0,58 mm) respectivement. De même selon (**Wagner, 1993**) et (**Thangara et al., 200**) l'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs. Aussi, faut-il rappeler que l'*Apium graveolens* contient des flavonoïdes, des saponines et des tanins. Ces composés ayant des propriétés antibactériennes connues, leur présence pourrait donc expliquer les propriétés antimicrobiennes observées. En effet (**scalbert, 1991**) à montrer que les tannins possèdent une activité antimicrobienne très impressionnante.

A la lumière de cette étude, l'huile essentielle de l'*Apium graveolens L* avec son profil riche en composants volatiles est un antibactérien naturel très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections. L'extrait hydroalcoolique à son tour avec sa composition très riche en principes actifs semble avoir un pouvoir antimicrobien mais un peu moins important que celui d'huile essentielle.

---

## Conclusion

L'étude que nous avons réalisée s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes condimentaires cultivées à l'ouest Algérien.

En premier lieu, nous avons mis en lumière les potentialités thérapeutiques et curatifs de notre plante le céleri, cela nous a incités, à aborder une enquête ethnobotanique qui a révélé que 83.79% des femmes questionnées utilisent quotidiennement le céleri pour aromatiser les plats et pour des vertus thérapeutiques, contre 19.87 % de la population masculine, l'enquête à montre aussi que l'utilisation du céleri par la population de Sidi Bel Abbés est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 50 à 80 ans avec 59,88%. Il est important de noter que cette étude ethnobotanique sur le céleri, nous a permis de fournir, pour la première fois, une source d'information sur l'utilisation thérapeutique de cette plante.

En parallèle, en seconde partie, l'étude phytochimique à travers un screening phytochimique a révélé la richesse des feuilles et des graines en composées phénoliques notamment les tanins, les flavonoïdes et les saponosides.

D'autre part, les conditions d'extraction des composées phénoliques ont été étudié en utilisant le model RSM ou bien méthode de repense de surface l'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de quelques paramètres expérimentaux : la nature du solvant organique, sa concentration et le temps d'extraction, sur la teneur des composés phénoliques des feuille et des graines d'*Apium graveolens L.* A l'issue de cette étude certaines conclusions s'imposent :

- Le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols de l'*Apium graveolens L* est l'éthanol.
- L'utilisation de l'éthanol a la concentration 80% favorise l'extraction des polyphénols, l'addition de l'eau au solvant fait améliorer le rendement,
- L'accroissement des taux des phénols totaux avec la prolongation du temps d'extraction est observé.

La troisième partie, est consacrée à la valorisation proprement dite, des composés bioactifs, en évaluant le pouvoir antibactérien et le pouvoir antioxydant de l'extrait brute (extrait hydroalcoolique) ainsi la valorisation *in vivo* de l'extrait a travers l'activité antiinflammatoire analgésique (périphérique, centrale) et antipyrétique. Huile essentielle à été valorisé en évaluant la toxicité *in vivo* et cutané ainsi que l'activité cicatrisante et en fin la quantification et la caractérisation par GC/MS.

L'activité antioxydante avec la même méthode DPPH de l'extrait hydroalcoolique a montré un pouvoir antioxydant très important avec un  $IC_{50} = 1.29$  mg/ml.

---

La valorisation du pouvoir antibactérien de l'extrait hydroalcoolique et d'Huile essentielle, vis-à-vis trois des souches bactériennes : *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*, ont dévoilé une activité remarquable sur les trois souches bactériennes avec des diamètres variables entre (5 et 18 mm) pour huile essentielle et (03 à 13 mm) pour l'extrait hydroalcoolique.

L'huile essentielle a révélé un pouvoir antimicrobien très important cela peut être due principalement à son profil chimique. Ce dernier est riche en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés comme le (Limonène et le  $\beta$ -Pinène) et des sesquiterpènes comme  $\beta$ -Caryophyllène ses principaux constituants d'huile essentielle sont dotés par une activité antimicrobienne très importante.

Concernant les tests biologiques *in vivo* l'extrait bute de la plante étudiée a montré un pouvoir anti-inflammatoire très important sur le modèle de l'œdème induite par l'injection d'un agent pathogène carragénine, en effet l'administration de l'extrait à dose de 500 mg/Kg a réduit l'œdème de façon significative  $p < 0.05$  à partir de la troisième heure avec un taux d'inhibition de 52,63%, ce taux d'inhibition s'étale avec le temps jusqu'à atteindre le 89,66% à la sixième heure de l'expérimentation.

De même l'extrait hydroalcoolique à la même dose 500 mg/Kg a montré un effet analgésique périphérique et centrale très importante ; d'ailleurs dans le test de Koster (constriction abdominales) l'administration de l'extrait de la plante étudiée a réduit le nombre de contorsions de (69,5 $\pm$ 3.08) à (17 $\pm$ 2,36) avec un taux d'inhibition de 75,53%.

Pour le test de l'activité analgésique centrale représenté par le test tail-Flick, l'extrait hydroalcoolique a montré un effet analgésique centrale avec un taux d'inhibition de 78,69% qui est plus élevé et plus important par rapport au médicament synthétisé utilisé Tramadol avec un taux d'inhibition de 78,09%.

En outre, la valeur du rendement en huile essentielle des graines était de l'ordre de 1%, de couleur jaune clair et odeur aromatique typique et forte de céleri et un aspect liquide, L'analyse de l'huile d'*Apium graveolens L* a permis d'isoler et d'identifier 20 composés représentant 98,7% de l'huile essentielle avec la dominance des monoterpènes avec trois molécules ( $\beta$ -Pinène, Myrcène et Limonène) et un pourcentage total de 55,1% dont Limonène et le composant majoritaire avec un pourcentage de 53,96% suivie par le Myrcène 0,88% et enfin  $\beta$ -Pinène avec un pourcentage de 0,26%.

Par conséquent, le profil chromatographique de l'essence d'*Apium graveolens L* riche en composés lui a conféré un pouvoir cicatrisant très important. En effet, l'application cutanée d'huile essentielle dans la zone de brûlure a permis le rétrécissement de la surface de

brûlure avec un pourcentage de 94,22% à partir de 12 jours de l'application jusqu'à atteindre le stade de la guérison à 100% à partir de 15 jours de l'expérimentation, ce taux de rétrécissement est similaire à celui enregistré par la pommade cicatrisante commercialisée.

En perspective, et toujours dans le cadre de la valorisation, on compte caractériser les composés naturels que renferment l'extrait hydroalcoolique d'*Apium graveolens L.* Ceux-ci pourraient, peut-être, mettre en évidence d'autres composés bioactifs qui possèdent un intérêt pharmaceutique ou cosmétique, sachant que notre étude est considérée comme une première source d'information sur les propriétés chimiques, l'activité antioxydante et antibactérienne cicatrisante, anti-inflammatoire et analgésique de cette espèce cultivée dans l'Ouest Algérien.

Selon les résultats obtenus, on peut conclure que notre extrait hydroalcoolique et l'huile essentielle testés témoignent d'activités biologiques *in vitro* et *in vivo*. Cependant d'autres études approfondies sont nécessaires, donc on recommande aussi :

- La caractérisation des extraits obtenus avec la purification des composés les plus actifs
- Tester d'autres activités : l'activité antispasmodique, l'activité anticholestérol et antidiabétique.
- Étaler cette étude pour d'autres plantes condimentaires afin de valoriser cette richesse naturelle dans le cadre du développement durable



## Références bibliographiques

### A

Adjou, E.S. Kouton, S. Dahouenon-Ahoussi, E. (2013). Effect of essential oil from fresh leaves of *Ocimum gratissimum* L. on mycoflora during storage of peanuts in Benin. *Mycotoxin Research* 29 : p 29-38.

AFNOR. (2008). Huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2).

AL-hindawi, K. Ihsan, H.S. May H.A. Mudafar, I. (1989). anti-inflammatory activity of some iraqi plants using intact rat. *Journal of Ethnopharmacology*: p 163- 168.

Ali, S.S. Kasoju, N. Luthra, A. Singh, A. Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int.* 41: p 1-15.

Ames, B.N. (1986). Food constituents as a source of mutagens, carcinogens and anticarcinogens. *Prog Clin Biol Res.* 206: p 3-32.

Anderson, C.M. Hallberg, A. Hogberg, T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28 : p 65-180.

Arab, F.Z. (2016). Evaluation de l'activité cicatrisante d'une caryophyllacée sur une brûlure 3<sup>ème</sup> degré provoqué chez le rat thèse de doctorat en pharmacie faculté Mohammed V. Rabat.

Athamena, I. Chalghem, A. Kassah-Laouar, S. Laroui et S. Khebri. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *uminum cyminum* l. *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 1 : p 69- 81.

Ayoola, G.A. Coker, H.A. Adesegun, S.A. Adepoju, A.A. Obaweya, K. Ezennia, E.C. (2008). Atangbayila1 Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7: p 1019-1024.

### B

Baananou, S. Borgi, W. Amor, M. Boukef, K. Chouchane, N. Aouam, K. Boughattas, N. (2013). Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Tunisian *Apium graveolens* L. Leaves Extracts in Rats. *Journal of Biologically Active Products from Nature.* 2:4: p 225-231.

Babar Ali, M. Hahn, E.J. Paek, K.Y. (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules* Vol.12: p 607-621.

- Babior, B. M.** Lambeth, J. D. Nauseef, W. (2002). The neutrophil NADPH Oxidase. Arch Biochem Biophys. 397 : p 342-344.
- Bai, J.** Cederbaum, A. I. (2001). Mitochondrial catalase and oxidative injury. Biol Signal recept., 10: p 189-199.
- Barton, G.M.** (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune System. J Clin Invest, 118: p 413-420.
- Bartosz, G.** (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comm Toxicol., 9 : p 5-21.
- Basli, A.** Chibane, M. Madani, K. Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie *Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie 10 : p 2-9.
- Bedi, G.** Tonzibo, Z.F. Chalchat, J.C. N'Guessan, Y.T. (2001). Composition chimique des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* L. King Robinson (Asteraceae) Abidjan Côte d'Ivoire. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie*. 11 : p 29-37.
- Bedi, G.** Tonzibo, Z.F. Chopard, C. N'Guessan, Y.T. (2004). Etude des effets antidouleur des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata*, par action sur la Lipoxigénase L-1 de soja. *Physical Chemical News*. 15: p 124-127.
- Bedi, G.** Tonzibo, Z.F. Oussou, K.R. Chopard, C. Mahy, J.P. N'Guessan, Y.T. (2010). Effect of essential oil of *Chromolaena odorata* (Asteracea) from Ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandine-H synthase activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4(8) : p 535-538.
- Belfadel, F. Z.** (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*. Caractéristiques physico chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire pour obtenir le diplôme de : magister en chimie organique Option Phytochimie.
- Bennabi, F.** Hamel, L. Bachir Bouiadjra, S.E. et Ghomari, S. (2012). Ressources hydriques sous tension et enjeux de développement durable dans la wilaya de Sidi Bel Abbes (Algérie occidentale). Méditerranée dynamique et gestion des cours d'eau méditerranéens et de leurs marges : p 105-111.
- Benoît, B.** (2017). Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine réalisé dans le cadre d'une convention entre le Ministère chargé de l'Écologie, le MNHN, la FCBN et Tela Botanica. Éditeur Tela Botanica.

- Benkhnigue, O. Zidane, L. Fadli, M. Elyacoubi, H. Rochdi, A. (2010).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.* 53 : p 191-216.
- Bensegueni, A. (2007).** Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mebtouri. Constantine p : 21-22.
- Bentley, G. Newton, S. Starr, J. (1983).** Etudes sur l'action anti-nociceptive des médicaments  $\alpha$ -agonistes et leur interaction avec les mécanismes opioïdes. *Br J Pharmacol* 79 : p 125–134.
- Benzie, I. F. F. et Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 : p 70-76.
- Berger, M. M. (2006).** Manipulation nutritionnelle du stress oxydant : état de connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20: p 48-53.
- Bernhardt, R. (1996).** Cytochrome P450: Structure, function and generation of reactive oxygen species. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.*, 127: p 137-221.
- Bernard, T. Perineau, F. Bravo, P. Delmas, M. Gaset, A. (1988).** *Information chimie*, n°298 p : 179.
- Bianchi, M E. (2007).** DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *JLeukoc Biol*, 81 : p 1-5.
- Bigendako, P. Lejoly. (1990).** La pharmacopée traditionnelle au Burundi. *Pesticide et médicament en santé animale. Pres. Univ. Namur* : p 425- 445.
- Botting, R.M. Botting, J.H. (2000).** Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: an overview. *Clinical Drug Investigation*, 19: p 1 -7.
- Bouzid, k. (2014).** Contribution à l'étude des options de valorisation de l'espèce *Arbutus unedo* L. dans l'Ouest Algérien, Thèse de Doctorat 3eme Cycle, Université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbés.
- Brain, KR. Tuner, TD. (1975).** The practical evaluation of phytopharmaceuticals. *Wright Scientectica Publishers, Bristo*: p 57-58.
- Brand-Williams, W. Cuvelier, M. E. Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Sci. Technol.* 28 : p 25–30.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Technique et documentation. Lavoisier, Paris* : p 915.

**Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed Tec & Doc. Paris : p 101-120.

**Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, 4<sup>ème</sup> Edition Lavoisier.

**Bssaibis, F. Gmira, N. Meziane, M.** (2009). Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn, 3 (1): p 44-45.

**Buchbauer, G.** (2011). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. Flavour Fragr J 27: p 13-39.

**Budavari, S. O'Neil, M.J. Smith, A. Heckelman, P.E. Kinneary, J.F.** (1996). The mark index-twelfth edition. Withehouse station: merk and co, inc: p 2350.

**Burt, S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review, International Journal of Food Microbiology: p 223-253.

**Bursac, M. Popovic, M. Mitic, R. Jakovljevic, V. Kaurinovic, B.** (2006). Antipyretic Effect of Celery (*Apium graveolens*) Extracts in Mice. Pharmaceutical Biology. Vol. 44, No. 8: p 581–584

## **C**

**Calixto, J.B. Campos, M.M. Otuki, M.F. Santos, A.R.** (2004). Anti-inflammatory compounds of plant origin. part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Medica*; Vol 70: p 93-103.

**Calvin, M.** (1998) Cutaneous wound repair. 61(2): p 343–347.

**Cai, J. Basnet, P. Wang, Z.T. Komatsu, K. Shan, Xu. Tani, T.** (2000). Journal of natural. Product,

**Chalchat, J.C. Garry, R.P. Menut, C. Lamaty, G. Chopineau, J.** (1997). Correlation Between Chemical Composition and Antimicrobial Activity. VI. Activity of Some African Essential Oils. Journal of essential oil research : p 67-75.

**Charfi, D.** (1995). Effet des eaux usées traitées sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et sur la physiologie de quelques espèces végétales cultivées au périmètre d'ElHaje (Sfax). Thèse en écologie végétale, Fac. Sci. De Sfax.

**Charles, N. Serhan, P.** (2010). A Ward and Derek W Gilroy. Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press: p 2-3.

**Cao, G.H., Alessio, H.M., Cutler, R.G.** (1993). Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. Free Radical Biol Med, 14 : p 303-311.

- Carillon, A. (2009). Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème Siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba, Mars : p 1-6.
- Chang, Q. Zuo, Z. Harrison, F. Chow, MSS. (2002). Journal of clinical pharmacology, 42: p 605-612.
- Chavan, U.D. Shahidi, F. Nacz, M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. Food Chemistry, 75: p 509-512.
- Chen, Y. Tsai, H. (1995). Anti-Inflammatory and analgesic activities from the roots of *Angelica pubescens*, *Planta Med.*, 61: p 2-8.
- Chen, Q. Vazquez, E. J. Moghaddas, S. Hoppel, C. L. (2003). Production of reactiveoxygen species by mitochondria. Centrale role of complex III. *J Biol Chem.*,278: p 36027-36031.
- Chew, K.K, Ng, S.Y. Thoo, Y.Y. Khoo, M.Z. Wan Aida, W.M. Ho, C.W. (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time, extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthisophon Stamineus* extracts. *International food research journal* 18 : p 1427- 1435.
- Chihiro, I. Hiroshi, F. (1987). Constituents of *Murraya exotica* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Structure Elucidation of New Coumarins*, 35 (10): p 4277.
- Chirinos, R. Rogez, H. Campos, D. Pedreschi, R. Larondelle, Y. (2007). Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers; *Journal of Separation and Purification Technology*, Vol. 55: p 217-225.
- Christensen LP, Brandt K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *J Pharm Biomed Anal.*
- Conner, E. M. Grisham, M. B. (1996). Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*. 12 : p 274-277.
- Coulibaly, A. (2001). Etude des plantes utilisées dans le traitement des plaies au Mali : polysaccharides de *Biophytum petersianum* Klotz (oxalidaceae). Thèse de pharmacie. Bamako p: 101.
- Crozier, A. Clifford, M.N. Ashihara, H. (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Edt Blackwell Publishing Ltd.

## **D**

- D**acosta, Y. (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. Ed Yves Dacosta. Paris : p 317.

- Datta, R. Bera, B. Das Gupta, A. Guha Roy, S. (2011).** Anti-inflammatory, Analgesic and Anti-pyretic Activity of the Leaves of *Pterospermum acerifolium*. *Journal of Pharma Sci Tech*; 1(1): p 35-40.
- Davoine, F. Lacy, P. (2014).** Eosinophil cytokines, chemokines and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology Molecular Innate Immunity*, 5(570) : p 1-17.
- Delille, L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. Éd. BERTI, Alger: p 122.
- Della Loggia, R. Tubaro, A. Sosa, S. Becker, H. Saar, St. Issac, O. (1994).** The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. *Planta Medica*, 60: p 516-520.
- De Sousa, A.C Alviano, D.S Blank, A.F. Alves, P.B. Aliano, C.S. Gattass, C.R. (2004).** *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 56 : p 677-681.
- Devris, L.A. Vancennayt, M. Baele, M. Vaneechoutte, M. De grafe, E. Snauwaert, C. Cleenwerk, I. Dawynot, P. Swincs, J. Decostre, A. Haesbrouck, F. (2005).** *Syaphylococcus pseudodintemedius* sp a coagulase positive species from animals. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*: p 1569-1573.
- Di Rosa, M. Willoughby, D.A. (1971)** Screens for anti-inflammatory drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* z3(4): p 297-298.
- Dohou, N. Yamni, K. Tahrouche, S. Idrissi Hassani, L.M. Badoc, A. Gmira, A. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymlaea lythroide*. *Bull. soc pharm Bordeaux* 142: p 61-78.
- Donatien, K. (2008).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes – caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Bamako.
- Dröge, W. (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82 : p 47-95.
- Dulce, R. (2000).** Le céleri plante aphrodisiaque de Grecs et Romain.
- Dutertre, J.M. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, (France) : p33.

**E**

**E**denharder, R. Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540 : p 1–18.

**E**dziri, H. Mastouri, M. et Aouni, M. (2012). Polyphenols content, antioxidant and antiviral activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* growing in Tunisia. *South Afr J Botany* 80 : p 104–9.

**E**l Haib, A. (2012). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse

**E**l Houcine, B. (2008). Action analgésique de différents extraits non-volatils de *Nepeta atlantica* Ball et *Nepeta tuberosa* L. ssp. *Reticulata* (Desf.) Maire. *Thérapie* Volume 63, Issue 4, July–August 2008, : p 333-338.

**E**L Kalamouni, C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

**E**l Mostaphi, A. El Hartiti, H. Barrahi, M. Zarrouk, A. Berrabeh, M. Ouhssine M. (2017). *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology* Volume 4, Issue 4 : p 1-5.

**E**lliott, A.M. Smith, B.H. Hannaford, P.C. Smith, W.C. Chambers, W. (2002). The course of chronic pain in the community: results of a 4-year follow-up study. *Pain*; Vol 99: p 299-307.

**E**lqaj, M. Ahami, A. Belghyti, D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique « ressources naturelles et antibiotiques ». Maroc.

**E**noch, S. John Leaper, D. (2005). *Basic science of wound healing*. *Surgery* 23, 2 : p 37-42.

**F**

**F**araoun, F. (2002). Cartographie des sols de la plaine de Sidi Bel Abbas et évaluation des potentialités édaphiques. Mémoire de magister en écologie Appliquée. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbas.

**F**avier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*: p 108-115.

**Ferreira, SH.** (2002). Peripheral analgesic sites of action of anti-inflammatory drugs. *International Journal of Clinical Practice; Supplement 128*: p 2-10.

**Formica, J.V. Regelson, W.** (1995). Review of the Biology of 147yclooxyg and related bioflavonoids. *Fd Chem.Toxic*, 33 : p 1061-1080.

**Franchomme, P. Jollois, R. Pénéol, D.** (2001). *L'Aromathérapie ; exactement encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*. Edition Limoges (France): p 495.

**Fridovich, I.** (1970). Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milkxanthine oxidase. *J Biol Chem.*, 231: p 899-911.

## **G**

**Gachkar, L. Yadegari, D. Rezaei, M.B et al.** (2007). Chemical andbiological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils. *Food Chem* 102: p 898–904.

**Gallouin, F. Arvy, M.P.** (2003). *Épices, aromates et condiments*. Edition Belin France: p 403.

**Garcia-Salas, P. Morales-Soto, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, A.** (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. Vol. 15 : p 8813-8826.

**Gardet, C.,** (2006). *Les plantes aromatiques*. Edition Jean- paul. France: p 125.

**Gelodar, G. Nazify habib abadi S.** (1997) Effect of celery, a pple tart and carrots on somebiochemical parameters in diabetic rats. *J Kerman Univ Med Sci*. 3(40): p 114-119.

**Gepdiremen, A. Mshvildadze, V. Suleyman, H. Elias, R.** (2004). Acute and chronic anti-inflammatory effects of *Hedera colchica* in rats. *J Ethnopharmacol* 94 : p 191-5.

**Geptiremen, A. Mshvildadze, V. Suleyman, H. Elis, R.** (2005). Acute anti-inflammatory activity of four saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-Eand hederacolchiside-F in carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*, 12: p 440-444.

**Ghedadba, N. Hambaba, L. Ayachi, A. Aberkane M. C., Bousselsela, H. Oueld-Mokhtar S. M.** (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne.

**Ghedira K.** (2006). La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 4: p 1-7.

**Ghestem, A. Seguin, E. Paris, M. Orecchioni, A.M.** (2001). *Le préparateur en pharmacie*. Dossier 2. (Ed) Tec & Doc, Paris : p 275.



**G**onzalez, A.G. Estevez-braun, A. (1997). Coumarins, Nat. Prod. Reprod, 14: p 465-475.

**G**oudable, J. Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. 11 : p 115-120.

**G**risham, M. B. Granger, D. N. (1988). Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. Dig Dis Sci., 33 : p 6-15.

## **H**

**H**adi M. (2004). La quercitine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; étude et application thérapeutiques. Thèse Doctoral Pharmaco chimie. Université Louis Pasteur, Paris : p155.

**H**ambaba, L. Boudjellal, K. Abdeddaim, M. Aberkane, M.C. et Boudiaf K. (2012). Étude in vitro des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia* L. Phytothérapie (2012) 10 : p 350-356.

**H**arbone, J.B. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed; Academic Press: London.

**H**ajji, S. Beliveau, J. Simon, D. (1985). Actes-colloque international. Plantes aromatiques. Maroc : p 229-230.

**H**ennebelle, T. Sahpaz, S. Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 1 : p 3-6.

**H**mamouchi, M. (1999). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions Fedala, Mohammedia.

**H**uang, D. Ou, B. Prior, R.I. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. J.Agric. Food Chem, 53: p 1841-1856.

**H**unskaar, S. Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain, Pain 30: p 103–14.

## **I**

**I**SERIN, P. Masson, M. Restellini, J. P. Ybert, E. Moulard, F. Zha, E. De la Roque, R. De la Roque, O. Vican, P. Deesalle –Féat, T. Biaujeaud, M. Ringuet, J. Bloth, J. et Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, Préparation, soins. Ed Larousse : p 10-12.

**J**

**Janakat, S. M. Al-Fakhiri, S. M. Sallal, A. K. J. (2005).** Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia clavaryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. Saudi medical journal, 26(6): p 447-450.

**Jawad, A.A.H. Jassim, N.H. Jawad, A.M. (2006).** Effect of the Aqueous Extract of Celery (*Apium graveolens*) Seeds, Apple Vinegar and Their Combination on Animal Models of Pain. Basrah Journal of Scienc (A) Vol.24(1) : p 1-10.

**Johnson, O.O. Ayoola, G.A. Adenipekun, T. (2013).** Antimicrobial Activity and the Chemical Composition of the Volatile Oil Blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 5: p 187–93.

**Joly, B. Reynaud, A. (2002).** Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic. Paris Tec & Doc : p 365.

**Julien, P. (2005).** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux *asteraceae* endémiques de Corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *doronicum corsicum* . Docteur de l'université de Corse.

**Julkunen-Titto, R. (1985).** Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. J. Agric. Food Chem 33 : p 213–7.

**K**

**Kanoun, K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits végétaux bruts de *Punica granatum* vis-à-vis de certaines souches bactériennes résistantes aux antibiotiques et antifongiques. Thèse de doctorat. Université Djilali Liabés de Sidi Bel Abbès.

**Katalinic, V. Mozina, S. Skroza, D. Generalic, I. Abramovic, H. Milos, M. Ljubenkovic, I. Piskernik, S. Pezo, I. Terpin, P. (2010).** Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). J. Food. Chem. Vol. 119: p 715-723.

**Kayser, O. Kolodziej, H. (1997).** Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. Planta Med., 63 : p 509-510.

**Kechar, K. (2016).** Etude ethnobotanique et phytochimique de *Ballota hirsuta Benth* du mont de Tessala (Sidi Bel'Abbès). Thèse de Doctat 3eme Cycle, Université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbès.

**Khanbaba, K. Ree, T.R.** (2001). Tannins: Classification and Defenition. Journal of RoyalSociety of Chemistry, 18: p 641-649.

**Kempf, M. Eveillard, M. Kowalczyk, F. Rossines, E. Panhelleux, G. Joly-Guillou, M.L.** (2011). Étude de lasensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251à base d'huiles essentielles issus de la recherche AromaTechnologies, Pathologie Biologie, Vol. 59(1) : p 39-43.

**Kenneth, A.W. Michael, S.R.** (2002). The structure and function of the skin, inDermatological and transdermal formulations, Kenneth A.W., Editor., MarcelDekker: New York: p 1-40.

**Kim, HP. Son, KH. Chang, HW. Kang, SS.** (2004). Anti-inflammatory plantflavonoids and cellular action mechanisms. J Pharmacol Sci ; 96 : p 229-45.

**Khabbal, Y. Ait El Cadi, M. Alaoui, K. Faouzi, A. Cherrah, Y.** (2006). Activit anti-inflammatoire de Zygophyllum goetulum. Numéro 5 : p 227-229.

**Kim, HP.** (2008). Development of clindamycin\_loaded wound dressing with polyvinyl alcohol and sodium alginate. BiolPharm.Bull.31: p 2277-2282.

**Kohen, R. Nyska, A.** (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. Toxicolo Pathol. 30 : p 620-650.

**Kouakou, S. Kouakou, G. Laba, I.D. Brou, J.** (2010). Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles de Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceés), une plante médicinale de Côte d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences. Vol.4, N°.2.

**Ksouri, R. Megdiche, W. Debez, A. Falleh, H. Grignon, C. Abdelly. C.** (2007). Salinityeffects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte Cakilemaritima. Plant. Physiol Bioch, 45: p 244-249.

**Kumar, V. Abul K, A. Nelson, F. Richard, M.** (2007). Robbins Basic Pathology, 8th Edition, p: 20-60.

**Kyle, A.B. Wallace.** (1950). The exposure method of treatment of burns. British Journal of Plastic Surgery. 3: p 144-150.

## **L**

**Lanhers, MC. Fleurentin, J. Rolland, A.** (1992). Vinche A. Activité anti-inflammatoire d'un extrait dePeumusBoldus Molina (Monimiaceae). Phytotherapy ;38- 39 : p 12-3.

- L**ahsissène, H. Kahouadji, A. Tijane, M. Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental) *Lejeunia*, 186 : p 1-27.
- L**ehucher-Michel, M. P. Lesgards, J. F. Delubac, O. Stocker, P. Durand, P. Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med.* 30: p 1076-1081.
- L**eong, LP. Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singaporemarkets. *Food Chem*, 76: p 69-75.
- L**ewis, D. Saleh M. Bryan, G. Veitch, A. (1985). The Anti-inflammatory Activity of Celery.
- L**i, C. Oldham, C.D. May, S.W.N. (1994). N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J.* 300: p 31-36.
- L**e Bars, D. Gozariu, M. Cadden, S. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, 53(4): p 597-652
- L**ewis, K. (2001). In search of natural substrates and inhibitors of MDR pumps. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 3 : p 247-254.
- L**oret, V. (1892). *La Flore Pharaonique d'après Les Documents Hiéroglyphiques et lesSpécimens découverts dans les tombes*, Edition Ernest le Roux, Paris.
- L**ucchesi, M.E. (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes, Conception etApplication à l'extraction des huiles essentielles*, Thèse de doctorat en sciences, Université de la réunion.
- L**und, T. Onarheim, H. Reed, R.K. (1992). Pathogenesis of oedema formation in burn injuries. *World J Surg.* 16: p 2-9.

## **M**

- M**acheix, J.J. Fleuriat, A. Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Lausame Italie: p 185.
- M**acKay, D. Miller, A.L. (2003). Nutritional Support for Wound Healing. *Altern. Med. Rev.* 8 (4) p : 359-377.
- M**ale, D. (2005). *Immunologie : aide-mémoire illustré*. 4ème éd, De Boeck, Bruxelles : p 79-83.
- M**arongiua, B. Pirasa, A. Porcedda, S. Falconierib, D. Maxiacd, A. Fraucd, M.A. Gonc, M.J. alvese, C. Cavaleiroe L. (2013). Isolation of the volatile fraction from *Apium graveolens* L.

- (Apiaceae) by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation: Chemical composition and antifungal activity *Natural Product Research*, Vol. 27, No. 17: p 1521–1527.
- Martin, P.** (1997). Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276: p 75-81.
- Math, P. Mishra, D.K. Prajapati, P.K. Roshy, J. Jha, P.K.** (2011). Antipyretic activity of Madhukadi and Madhukadi Ghana-An Experimental study. *International Journal of Pharmaceutical & biological Archieve.*; 2(1): p 572-6.
- Mann, C.M. Cox, C.D. Markham, J.L.** (200). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginos* Contribute to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in applied microbiology*: p 294-297.
- Manil, J.** (2004). Facteurs de virulences et propriétés spécifique des souches invasives de *E-coli* souches nicrotoxique. *Annales de médecine véérinaire* : p 121-132.
- Marroki Bousmaha, L.** (2007). Contribution a la valorisation d'espèces végétales aromatiques des genres *Lavandula* et *Thymus* d'Algérie : analyse des huiles essentielles par CPG, CPG-SM et RMN 13C et étude de leur pouvoir antimicrobien sur des germes d'origine Hospitalière. Thèse de Doctorat. Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes.
- Martin, S., et Andriantsitohaina, R.,** (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire. *Annales de cardiologie et d'angéologie*, 51 : p 304-315.
- Matkowski, A. Piotrowska, M.** (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. vol. 77: p 346-353.
- Mbarek, L.A. Mouse, H.A. Elabbadi, N. Bensalah, M. Gamouh, A. Aboufatima, R.O. Benharref, A. Chait, A. Kamal, M. Dalal, A. Zyad, A.** (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 40: p 839-847.
- Medzhitov, R.** (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454: p 428-435.
- Mencherini, T. Cau, A. Bianco, G.** (2007). An extract of *Apiumgraveolens* var *dulce* leaves: structure of the major constituent, apiin, and its anti-inflammatory properties. *J Pharm Pharmacol* 59: p 891–897.
- Mesia-Vela, S. Souccar, C. Lima-Landman, M.T.R. Lapa, A.J.** (2004). Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. *Phytomedicine*, 11: p 616-624.

- M**iddleton, E. Kandaswami, C. Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: p 673-839.
- M**iller, N. J. Rice-Evans, C. Davies, M. J. Gopinathan, V. Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, 84 : p 407–412.
- M**okhort, NA. Riabukha, TK. (1971). A new method of measuring the volume of a rat's paw. *Patol Fiziol Eksp Ter* ;15(2) : p 101-2.
- M**omin, R. A.Nair, M. G. (2001). Mosquitocidal, nematicidal, and antifungal compounds from *Apiumgraveolens* L. seeds. *J Agric Food Chem*, 49: p 142-5.
- M**ompon, B. Lemaire, B. Mengal, P. Surbled, M. (1998). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris.
- M**onti, D. Chetoni, P. Burgalassi, S. Najarro, M.O. Saetton, M.F. Boldrini, E. (2002). Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 237: p 209-214.
- M**orel, Y and Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. 342(3): p 481-496.
- M**origane, S. (2002). *Grimoire des Plantes*. Edition France : p 192.
- M**ulinacci, N. Prucher, D. Peruzzi, M. Romani, A. Pinelli, P. Giaccherini, C. Vincieri, F.F. (2004). Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content. *J. Pharm. and Biomed. Anal. Vol. 34*: p 349-357.
- M**arfak, A. (2003). *Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les radicaux issus des Alcools : Formation de depsides*. Thèse de doctorat. Université de Limoges : p 187.
- M**ouellet, M. (2005). *Screening phytochimique de deux espèces de plantes : crotalia retusa (Papilionaceae) et hallea ciliata Aubrev & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon - thèse de doctorat*. Université de BAMAKO. MALI.

## **N**

- N**aema, N. F., Dawood, B., and Hassan, S. (2010). A study of some Iraqi medicinal plants for their spasmolytic and antibacterial activities. *Journal of Basrah Researches (Sciences)*, 36(6): p 67-73.

Narayana, K.R. Reddy, M.S. Chaluvadi, M.R. Krishina, D.R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33: p 2-16.

Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420 : p 846-852.

Navarro, P. Giner, R.M. Recio, M.C. Manez, S. Cerda-Nicolas, M. Rios, J.L. (2001). In vivo anti-inflammatory activity of saponins from *Bupleurum rotundifolium*. *Life Sciences*, 68 : p 1199-1206.

Negus, S. Vanderah, T. Brandt, M et al. (2006). Evaluation préclinique de médicaments analgésiques candidats : avancées récentes et futur défi. *J Pharmacol Ther Exp* 319 : p 507–14.

N'Guessan, K. Kadja, B. Zirihi, G.N. Traoré, D. Aké Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo. *Science & nature* (6): p 1-15.

Nijveldt, R.J. Nood, E. Hoorn, D.E. Boelens, P.G. Norren, K. Leeuwen, P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74 : p 418–425.

Nisar, A. Faizana, N. Sadique, H. Shamshad, A. Saleem, A. Khaleequr, R. (2015). Evaluation of the analgesic activity of *Tukhme Karafs* (*Apium graveolens* Linn.) in swiss albino mice. *Journal of Scientific and Innovative Research* ; 4(4) : p 172-174

Nogaret, A.S. (2003). *La phytothérapie : Se soigner par les plantes*. Ed. Groupe Eyrolles, Paris: p 191.

Nourshargh, S. Fritz, K. Elisabetta, D. (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80: p 714-718.



Oduola, T. Adeniyi, F. Ogunyemi, E, Bello, I.S. Idowu, T. Subair, H. (2007). Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in wistar albino rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 1(1): p 001-004.

Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66: p 2012-2031.

**O**ussou, K.R. (2009). Etude chimique et activité biologique des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan : p 241.

## **P**

**P**eronny, S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie : p151.

**P**ierron, C. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse Doctorat en Pharmacie. Université Lorraine.

**P**ietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products.*, 63 : p 1035-1042.

**P**once, AG. Fritz, R. Del Valle, C. et al. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lwt-Food Sci Technol* 36: p 679–84.

**P**opov, I. Lewin, G. Baehr, R. (1987). Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: p 775–779.

**P**raveen, N. Ateeque, A. Sun-Jin, K. Ill-Min, C. (2012). Chemical composition, antioxidant activity and larvicidal effects of essential oil from leaves of *Apium graveolens* *Immunopharmacology and Immunotoxicology journal* 34(2): p 205–209.

## **Q**

**Q**uyou, A. (2003). Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc : p : 110.

## **R**

**R**ajagopalan, K.V. (1980). Xanthine oxidase and aldehyde oxidase. In: "Enzymatic basis of detoxification". Jacoby W (Ed) Press. New York.

**R**ankin, J.A. (2004) Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15 : p 3-17.

**R**esch, M. Steigel, A. Chem, Z.L. Bauer, R. (1998). 5-Lipoxygenase and 15-cyclooxygenase inhibitory active compounds from *Atractylodes lancea*, *J. Nat. Prod.*, 61: p 347-350.



**R**hayour, K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès (Maroc).

**R**ibéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris : p 254.

**R**ichter, G. Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. (1993). Presses polytechniques et universitaires romandes : p 292.

**R**odrigues, M. R. Rodriguez, D. Russo, M. Campa, A. (2002). Macrophage activation includes high intracellular myeloperoxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 292: p 869-873.

## **S**

**S**alhi, S. Fadli, M. Zidane, L. Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31 : p 133-146.

**S**anchez Moreno, C. Larrauri, J.A. Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76: p 270-276.

**S**anchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Internat J Food Sci Technol* 8 : p 121–37.

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

**S**aija, A. Scalese, M. Lanza, M. Marzullo, D. Bonina, F. Castelli, F. (1995). Flavonoids as antioxidant agent's importance of their interaction with biomembranes. *Free radical biology & medicine*, 19 : p 481-486.

**S**allé, J.L. (1991). Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Edition Frison-roche, Paris: p 21.

**S**awadogo, WR. Boly, R. Lompo, M et al. (2006). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Dicliptera verticillata*. *Int J Pharmacol* (2): 435– 438.

**S**voboda K.P. Hampson, J.B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland.

**S**ayyah, MA. Hadidi, NB. Kamalinejad, MB. (2004). Analgesic and anti-inflammatory activity of *Lacuca sativa* seed extract in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 92: p 325-329.

- Serhan, C.N. Ward, P.A. Gilroy, D.W. (2010). Fundamentals of inflammation. Hardback, USA: p 13-14.
- Sevanian, A. Nordenbrand, K. Kim, E. Ernester, L. Hochstein, P. (1990). Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *FreeRadic Biol Med.*, 8: p 145-152.
- Schaefer, H. Redelmeier, T.E. (1996). *Skin Barrier : principles of percutaneous absorption*, Karger, Basel.
- Schauenberg, P. Paris, F. (1997). *Guide des plantes médicinales*. Ed. Delachaux et Niestlé, Paris : p 396.
- Singer, A.J. Clark, R.A.F. (1999). Cutaneous Wound Healing – *N Engl J Med*; vol. 341: p 738-746.
- Singleton, C.P. Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*; 16: p 144-58.
- Silva, E.M. Rogez, H. Larondelle, Y. (2007). Optimisation of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology; *Journal of Separation and Purification Technology*, Vol. 55: p 381-387.
- Simo Kamdem, M. Sameza, L. Jazet Dongmo, P.M. Fekam Boyom, F. Bakargna-Via, I. Houndou Fokou J.B. Tsague, I.F.K. Zeuko'o Menke, E. Zollo, Chantal Menut, P.H.A. (2015). Antiradical, Anti-inflammatory and Antifungal Activities of Essential Oils of Two Aromatic Plants: *Apium graveolens* (Apiaceae) and *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *Journal of Life Sciences*. V 9: p 51-64.
- Sipailiene, A. Venskutonis, P.R. Baranauskiene, R. et Sarkinas, A. (2006). Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: p 698-703.
- Sawadogo, W.R. Boly, R. Lompo, M. (2006). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Dicliptera verticillata*. *Int J Pharmacol* 2 (4): p 435–8.
- Sowbhagya, HB. Srinivas, P. Krishnamurthy, N. (2010) Effect of enzymes on extraction of volatiles from celery seeds. *Food chemistry*. 120(1): p 230-234.
- Stefanova, T. Nikolova, N. Michailova, A. Mitov, I. Ancovi, I., Zlabinger, G.I. Neychev, H. (2007). Enhanced resistance to *Salmonella enteric sero var typhimurium* infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*. 9: p 7-14.

Stevens, C.D. (2010). Clinical immunology and serology. Therd edition, F.A. Davis Company Philadelphia: p 2-10.

Sultana S, Ahmed S, Jahangir T, Sharma S. (2005). Inhibitory effect of celery seeds extracts on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and Syed Mansoor, A. Kumar Swamy, S. Jayaverra, K.N. Rao, V. Vijay Kumar, S. (2008). Anti inflammatory, antipyretic and analgesic activity of methanolic extract of feronia limonia fruit pulp. Pharmacologyonline 3: p 852-857.

altered hepatic foci development. Cancer Lett April 18;221(1): p11-20.

Syed Sufiyan, F. Rajeev, K.S. (2012). Review on the Pharmacognostical & Pharmacological Characterization of Apium Graveolens Linn. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(1): p 36-42.

## **T**

Tabuti, J.R.S. Lye, K.A. Dhillion, S.S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. J. Ethnopharmacology. vol. 88: p 19-44.

Telesphore, B. Nguelefack, C. Dutra, A F. Paszcuk, L. Andrade. (2010). Antinociceptive activities of the methanol extract of the bulbs of Dioscorea bulbiferaL. Var sativa in mice are dependent of NO-cGMPATP- sensitive-k+ channel activation; Journal of ethnopharmacology; Vol 128: p 567-574.

Tran, M.A. Watts, R.J. Robertson, G.P. (2009). Use of liposomes as drug deliveryvehicles for treatment of melanoma. Pigment Cell & Melanoma Res., 22(4):p 388-399.

Trease, E. Evans, W.C. (1987). Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London13 th Edition. p 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de M. balsamia (Baume du pomme). Journal of Medicine and scintific. Nigeria. Vol. 4(3): p 179- 182.

## **U**

Umezu, T. (1999). Anticonflict effects of plant-derived essential oils. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 64 : p 35-40.

## **V**

Vansant, G. (2004). Radicaux libres et antioxydant : principe de base symposium. Antioxydant et alimentation >. Institut Danone.

Vasanthkumar, R. Jeevitha, M. (2014). Evaluation of antiobesity activity of *Apium graveolens* stems in rats. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* Vol. 5 (2): p 159-162.

Vincenot, F. Saleh, M. PrevoSt, G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires* : p 91-96.

Vivas, N. Nonier, M-F. Pianet, I. Vivas de Gaulejac, N. Fouquet, E. (2006). Proanthocyanidins from *Quercus petraea* and *Q. robur* heartwood: quantification and structures. *Comptes rendus chimie*, 9: p 120-126.

Ventris, M. Chadwick, J. (1973). *Documents in Mycenaean Greek*, Cambridge.

## W

Wang, J. Mazza, G. (2002). Effects of Anthocyanidins and Other Phenolic Compounds on the Production of Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -Activated. *Journal of Agric Food Chem.* (15): p 4183-9.

Wantana, R. Tassanee, N. Subhadhirasakul, S. (2009). Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. Leaf extract in experimental animals. *J Nat Med* 63: p 290-296.

Wayner, D. D. M. Burton, G. W. Ingold, K. U. et Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*, 187 : p 33-37.

Weill, B. Batteux, F. Dhainaut, J. (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. Editions, De Boeck Université (Paris) : p 12-23.

Weissmann, G. Smolen, J.E. Korchak, H.M. (1980). Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 303: p 24–27.

Wichtl, M. Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques- Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Ed. TEC & DOC: p 692.

Winston, G.W, Regoli, F. Dugas, A. J. Fong, J. H. Blanchard, K. A. (1998). A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med*, 24 : p 480–493.

## Y

Yahyaoui, N. (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha spicata* L sur *Rhyzopertha dominica* (F) (Coleoptera,

Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.

Yoshikawa, M. Harada, E. Naitoh, Y. Inoue, K. Matsouda, H. Shimoda, H. Yamahara, J. Murakami, N. (1994). Development of bioactive Function in *Hydrangeae dulcis folium*. III. On the antiallergic and antimicrobial Principles of *Hydrangeae dulcis folium*, *Chem. Pharm. Bull.*, 42: p 2225-2230.

## **Z**

Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne : p 1-84.

Zhao, R.J. Koo, B.S. Kim, G.W. Jang, E.Y. Lee, J.R. Kim, M.R. Kim, S.C. Kwon, Y.K. Kim, K.J. Huh, T.L. Kim, D.H. Shim, I. Yang, C.H. (2005). The essential oil from *Angelica gigas* NAKAI suppresses nicotine sensitization. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: p 2323-2326.

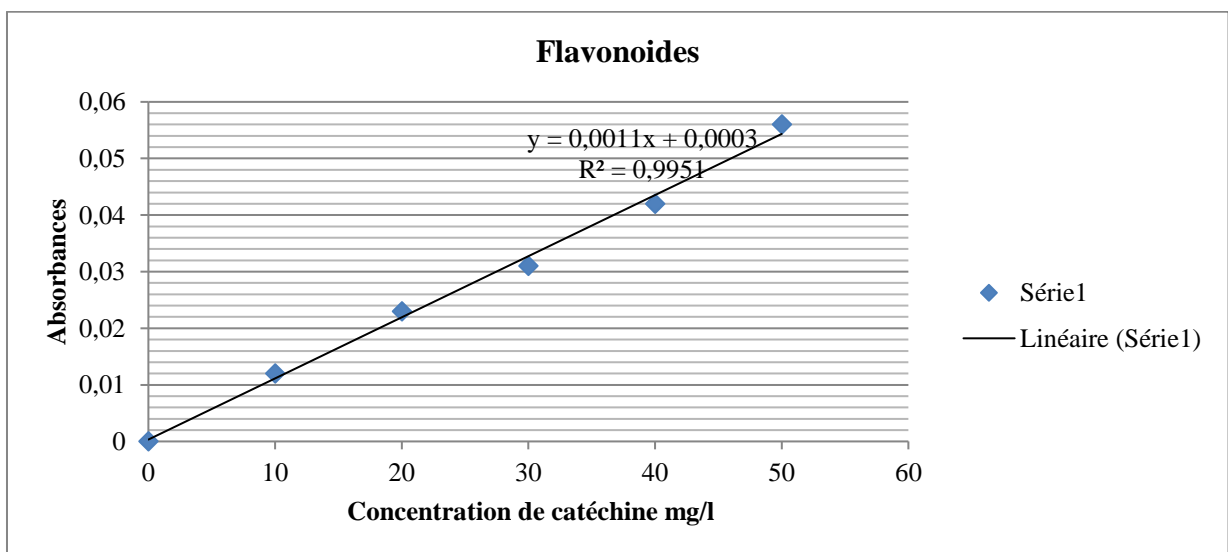
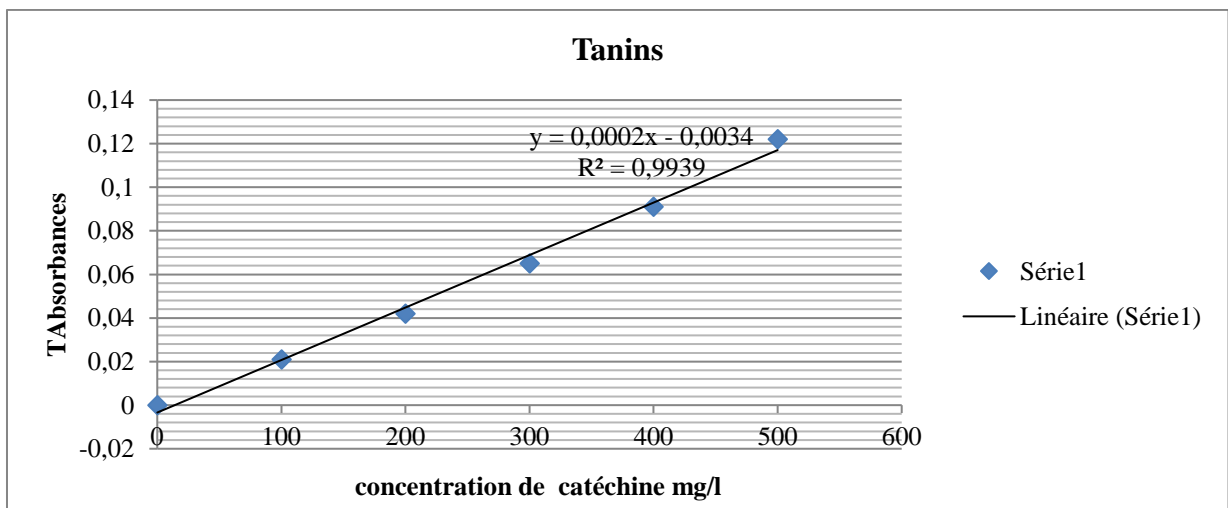
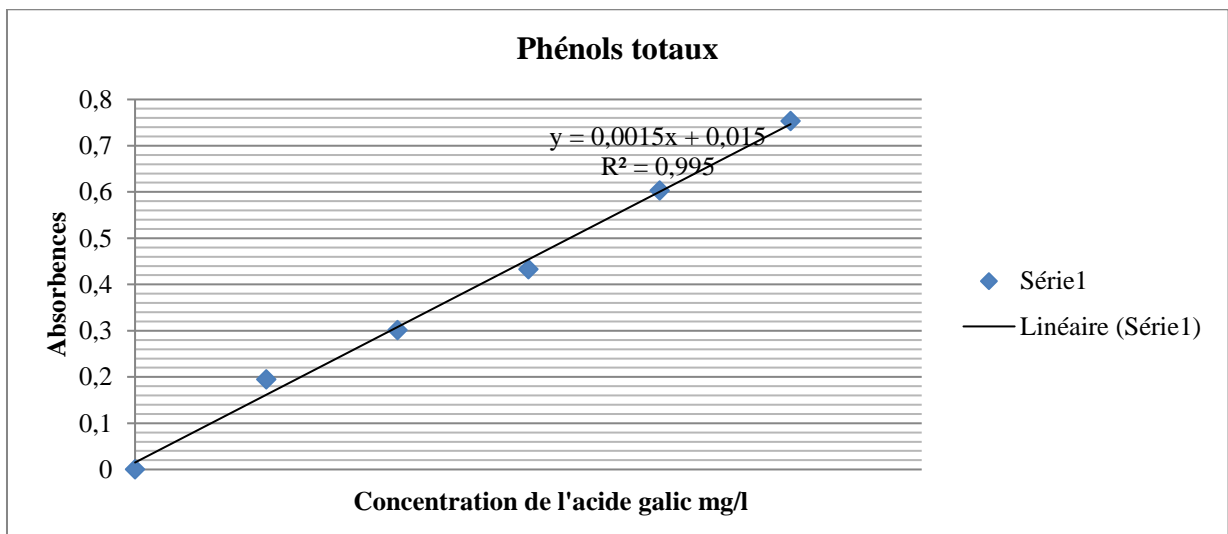
Zhishen, J. Mengcheng, T. Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64 : p 555-559.

Zimmer, N. Cordesse, R. (1996). Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. (Ed) INRA Prod Anim, 9: p 167-179.

Zimmerman, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animal. *Pain* 16: p 109-110.

## Annexes

## Annexe A : Les courbes étalonnages



## Annexe B : Activité antiinflammatoire

**Tableau 1** : Effet de l'extrait hydroalcoolique de l'*Apium graveolens* à la dose de 200 mg/kg sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.

| Rats     | Avant | 1h     | 2h     | 3h     | 4h     | 5h     | 6h     |
|----------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 173 gr   | 2,73  | 4,90   | 6,1    | 5,97   | 4,93   | 4,46   | 3,30   |
| 162 gr   | 2,75  | 5,13   | 5,70   | 4,78   | 4,39   | 4,20   | 3,97   |
| 178 gr   | 2,77  | 4,91   | 5,95   | 4,96   | 4,66   | 4,56   | 3,95   |
| 209 gr   | 3,00  | 3,48   | 4,80   | 4,84   | 4,68   | 4,13   | 4,09   |
| 194 gr   | 2,65  | 3,73   | 4,77   | 4,82   | 4,5    | 4,5    | 3,54   |
| Moyenne  | 2,78  | 4,43   | 5,46   | 5,08   | 4,63   | 4,37   | 3,77   |
| Ecartype | 0,1   | 0,76   | 0,63   | 0,50   | 0,20   | 0,19   | 0,33   |
| Inh %    |       | 41,53% | 13,30% | 38,89% | 55,50% | 65,31% | 80,17% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  écartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

**Tableau 02** : Effet de l'extrait hydroalcoolique de l'*Apium graveolens* à la dose de 300 mg/kg sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.

| Rats     | Avant | 1h     | 2h    | 3h     | 4h     | 5h     | 6h     |
|----------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| 140 gr   | 2,48  | 5,85   | 6,09  | 6,30   | 4,71   | 4,38   | 3,17   |
| 173 gr   | 2,66  | 3,8    | 4,55  | 3,92   | 3,54   | 2,84   | 2,82   |
| 173gr    | 2,65  | 4,47   | 5,13  | 4,6    | 4,53   | 3,85   | 3,62   |
| 210 gr   | 3,02  | 4,88   | 5,08  | 4,62   | 4,00   | 3,74   | 3,5    |
| 199 gr   | 2,83  | 5,8    | 5,98  | 5,23   | 4,87   | 3,98   | 3,90   |
| Moyenne  | 2,72  | 4,96   | 5,36  | 4,93   | 4,33   | 3,75   | 3,40   |
| Ecartype | 0,20  | 0,87   | 0,95  | 0,89   | 0,54   | 0,56   | 0,41   |
| Inh %    |       | 20,90% | 2,39% | 41,23% | 61,50% | 77,53% | 86,50% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  écartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

**Tableau 03 :** Effet de l'extrait hydroalcoolique de l'*Apium graveolens* à la dose de 500 mg/kg sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.

| Rats     | Avant | 1h     | 2h     | 3h     | 4h     | 5h     | 6h     |
|----------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 154 gr   | 2,34  | 3,34   | 5,6    | 4,46   | 3,94   | 3,19   | 2,94   |
| 193 gr   | 2,65  | 4,54   | 5,41   | 4,55   | 4,94   | 4,43   | 3,79   |
| 211 gr   | 2,97  | 4,45   | 5,32   | 4,73   | 4,11   | 4,00   | 3,16   |
| 214 gr   | 2,75  | 4,15   | 5,47   | 4,52   | 4,24   | 3,5    | 3,28   |
| 202 gr   | 2,77  | 4,5    | 4,99   | 4,11   | 3,67   | 3,28   | 2,89   |
| Moyenne  | 2,69  | 4,20   | 5,35   | 4,47   | 4,18   | 3,68   | 3,12   |
| Ecartype | 0,20  | 0,44   | 0,20   | 0,20   | 0,42   | 0,46   | 0,32   |
| Inh %    |       | 46,84% | 14,00% | 52,63% | 64,34% | 78,53% | 89,66% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

**Tableau 04 :** Effet de l'indométacine à la dose de 12 mg/kg sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.

| Rats     | Avant | 1h     | 2h     | 3h     | 4h     | 5h     | 6h     |
|----------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 194 gr   | 3,19  | 4,92   | 5,33   | 5,20   | 5,02   | 4,51   | 4,09   |
| 176 gr   | 3,03  | 4,86   | 5,45   | 5,29   | 4,58   | 3,89   | 3,41   |
| 185 gr   | 3,05  | 5,80   | 6,29   | 6,23   | 6,19   | 5,31   | 4,98   |
| 178 gr   | 3,10  | 4,79   | 6,26   | 5,91   | 5,63   | 5,09   | 4,7    |
| 195gr    | 3,24  | 4,90   | 6,17   | 6,04   | 5,91   | 5,65   | 4,39   |
| Moyenne  | 3,1   | 5,05   | 5,90   | 5,73   | 5,46   | 4,89   | 4,30   |
| Ecartype | 0,09  | 0,40   | 0,46   | 0,46   | 0,65   | 0,69   | 0,60   |
| Inh %    |       | 31,53% | 10,27% | 30,42% | 43,68% | 57,52% | 76,13% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

**Tableau 05 :** Effet de sérum physiologique à la dose de 10ml/kg sur l'œdème plantaire en (mm) induit par la carragénine chez le rat.

| Rats     | Avant | 1h     | 2h     | 3h   | 4h      | 5h      | 6h      |
|----------|-------|--------|--------|------|---------|---------|---------|
| 184 gr   | 3,19  | 5,98   | 6,17   | 6,67 | 7,05    | 7,35    | 7,90    |
| 170 gr   | 3,04  | 5,79   | 6,13   | 6,89 | 7,20    | 7,89    | 8,14    |
| 193gr    | 3,11  | 5,90   | 6,15   | 6,69 | 6,84    | 7,20    | 7,93    |
| 173 gr   | 3,08  | 5,98   | 6,25   | 7,13 | 7,80    | 7,92    | 8,19    |
| 205gr    | 3,22  | 6,1    | 6,42   | 7,03 | 7,56    | 8,20    | 8,45    |
| Moyenne  | 3,12  | 5,95   | 6,22   | 6,88 | 7,29    | 7,71    | 8,12    |
| Ecartype | 0,07  | 0,1    | 0,1    | 0,20 | 0,38    | 0,42    | 0,22    |
| Inh %    |       | 90,21% | 98,97% | 120% | 133,05% | 146,54% | 186,60% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5



## Annexe C : Activité Analgésique

**Matériels et réactifs :** Bain de l'eau chaude, Chronométré, Balance analytique, Sonde à gavage, Seringues graduées et aiguilles, Gants, Cages.

**Tableau 1 :** Effet analgésique de paracétamol à la dose de 100mg/Kgsur les contractions abdominales induites chez les souris par l'injection de l'acide acétique.

| L'eau distillé 10ml/Kg |                                      | Extrait hydroalcoolique 200mgLkg |                                      | Extrait hydroalcoolique 300mgLkg |                                      | Extrait hydroalcoolique 500mgLkg |                       | Paracétamol 100mgLkg |                         |
|------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| Poids souris           | Nombres des contractions Abdominales | Poids souris                     | Nombres des contractions Abdominales | Poids souris                     | Nombres des contractions Abdominales | Poids souris                     | Nombres des contorsio | Poids souris         | Nombres des contorsions |
| 26 gr                  | 71                                   | 22 gr                            | 34                                   | 22 gr                            | 34                                   | 23 gr                            | 15                    | 26 gr                | 71                      |
| 24 gr                  | 69                                   | 24 gr                            | 39                                   | 24 gr                            | 39                                   | 23gr                             | 19                    | 24 gr                | 69                      |
| 23 gr                  | 73                                   | 21 gr                            | 34                                   | 21 gr                            | 34                                   | 23 gr                            | 20                    | 23 gr                | 73                      |
| 23 gr                  | 67                                   | 21 gr                            | 38                                   | 21 gr                            | 38                                   | 22 gr                            | 18                    | 23 gr                | 67                      |
| 26 gr                  | 65                                   | 22 gr                            | 36                                   | 22 gr                            | 36                                   | 24 gr                            | 14                    | 26 gr                | 65                      |
| 24 gr                  | 72                                   | 23 gr                            | 38                                   | 23 gr                            | 38                                   | 22 gr                            | 16                    | 24 gr                | 72                      |
| Moyenne                | 69,5                                 | Moyenne                          | 36,5                                 | Moyenne                          | 36,5                                 | Moyenne                          | 17                    | Moyenne              | 69,5                    |
| Ecartype               | 3,08                                 | Ecartype                         | 2,16                                 | Ecartype                         | 2,16                                 | Ecartype                         | 2,36                  | Ecartype             | 0,8                     |

**Tableau 02 : Temps moyen de réflexe de retraitement de la queue chez les souris prétraitées par l'extrait hydroalcoolique**

| Groupes                                 |                     | Temps moyen de réflexe de retraitement de la queue<br>chez les souris |             |             |             |              |
|---|---------------------|---|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Tramadol 30 mg/kg                       | <b>Poids souris</b> | <b>0 m</b>  | <b>30 m</b> | <b>60 m</b> | <b>90 m</b> | <b>120 m</b> |
|   | 25 gr               | 2,15  | 2,58        | 2,86        | 3,25        | 4,80         |
|   | 28 gr               | 4,05  | 5,89        | 8,23        | 9,56        | 11,00        |
|   | 29 gr               | 3,80  | 5,41        | 7,52        | 8,50        | 10,50        |
|   | 26 gr               | 3,16  | 6,00        | 7,52        | 9,00        | 12,26        |
|   | 28 gr               | 3,25  | 5,19        | 6,87        | 7,94        | 11,65        |
| <b>Moyenne</b>                          |                     | 3,56  | 5,42        | 7,40        | 09,00       | 11,87        |
| <b>Ecartype</b>                         |                     | 0,37  | 0,54        | 0,56        | 0,82        | 1,33         |
| <b>Inhibition %</b>                     |                     | 47,61%  | 60,94%      | 65,69%      | 69,06%      | 78,09%       |
| Extrait<br>hydroalcoolique 500<br>mg/Kg | <b>Poids souris</b> | <b>0 m</b>  | <b>30 m</b> | <b>60 m</b> | <b>90 m</b> | <b>120 m</b> |
|   | 30 gr               | 3,98  | 4,04        | 7,22        | 9,20        | 13,00        |
|   | 28 gr               | 3,28  | 4,68        | 6,98        | 8,45        | 12,50        |
|   | 29 gr               | 3,62  | 5,30        | 7,66        | 7,39        | 13,22        |
|   | 26 gr               | 3,78  | 5,96        | 6,44        | 8,33        | 11,85        |
|   | 25 gr               | 3,39  | 4,97        | 5,88        | 7,92        | 10,46        |
| <b>Moyenne</b>                          |                     | 3,61  | 4,98        | 5,69        | 8,25        | 12,20        |
| <b>Ecartype</b>                         |                     | 0,28  | 0,72        | 0,69        | 0,67        | 1,1          |
| <b>Inhibition %</b>                     |                     | 48,31%  | 57,44%      | 55,41%      | 66,28%      | 78,69%       |
| Extrait<br>hydroalcoolique 300<br>mg/Kg | <b>Poids souris</b> | <b>0 m</b>  | <b>30 m</b> | <b>60 m</b> | <b>90 m</b> | <b>120 m</b> |
|   | 30 gr               | 2,00  | 2,95        | 5,00        | 5,66        | 6,23         |
|   | 25 gr               | 2,26  | 3,28        | 4,64        | 5,20        | 5,92         |
|   | 27 gr               | 1,98  | 3,50        | 4,25        | 5,96        | 6,56         |
|   | 26 gr               | 2,97  | 3,39        | 5,24        | 4,88        | 5,48         |
|   | 30 gr               | 2,50  | 2,84        | 3,88        | 5,63        | 6,24         |
| <b>Moyenne</b>                          |                     | 2,34  | 3,20        | 4,60        | 5,46        | 6,08         |
| <b>Ecartype</b>                         |                     | 0,42  | 0,28        | 0,55        | 0,42        | 0,40         |
| <b>Inhibition %</b>                     |                     | 20,32%  | 33,58%      | 44,80%      | 49,06%      | 57,27%       |
| Extrait hydroalcoolique<br>200 mg/Kg    | <b>Poids souris</b> | <b>0 m</b>  | <b>30 m</b> | <b>60 m</b> | <b>90 m</b> | <b>120 m</b> |
|   | 28 gr               | 2,15  | 2,58        | 2,86        | 3,25        | 4,80         |
|   | 30 gr               | 2,20  | 3,00        | 3,65        | 2,96        | 5,00         |
|   | 27 gr               | 1,95  | 2,67        | 2,75        | 4,00        | 4,66         |
|   | 30 gr               | 1,87  | 2,98        | 3,26        | 3,55        | 5,26         |
|   | 26 gr               | 2,00  | 2,55        | 2,25        | 3,44        | 5,39         |

|                               |                     |            |             |             |             |              |
|-------------------------------|---------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <b>Moyenne</b>                |                     | 2,03       | 2,75        | 2,95        | 3,44        | 5,02         |
| <b>Ecartype</b>               |                     | 0,13       | 0,21        | 0,53        | 0,38        | 0,30         |
| <b>Inhibition %</b>           |                     | 08,25%     | 23,08%      | 14,02%      | 19,06%      | 48,22%       |
| <b>L'eau distillé 10ml/Kg</b> | <b>Poids souris</b> | <b>0 m</b> | <b>30 m</b> | <b>60 m</b> | <b>90 m</b> | <b>120 m</b> |
|                               | 26 gr               | 1,60       | 2,00        | 2,25        | 3,00        | 2,85         |
|                               | 28 gr               | 2,15       | 1,98        | 2,00        | 2,75        | 2,66         |
|                               | 30 gr               | 2,14       | 2,15        | 1,95        | 2,85        | 2,51         |
|                               | 27 gr               | 1,80       | 2,17        | 3,00        | 2,89        | 2,39         |
|                               | 30 gr               | 1,65       | 2,30        | 3,50        | 2,43        | 2,59         |
| <b>Moyenne</b>                |                     | 1,86       | 2,11        | 2,54        | 2,78        | 2,60         |
| <b>Ecartype</b>               |                     | 0,26       | 0,14        | 0,68        | 0,22        | 0,17         |
| <b>Inhibition %</b>           |                     | -----%     | -----%      | -----%      | -----%      | -----%       |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5

**Tableau 03 :** Temps de léchage des pieds enregistré dans les deux phases par les différents extraits aux doses (200, 300 et 500mg/Kg PC).

| <b>Groupes</b>                           | <b>Poids souris</b> | <b>Première phase 0 à 05 minutes</b> | <b>Deuxième phase 15 à 30 minutes</b> |
|--|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Paracetamol 300 mg/Kg</b>             | 28 gr               | 52                                   | 49                                    |
|  | 25 gr               | 41                                   | 42                                    |
|  | 30 gr               | 39                                   | 39                                    |
|  | 26 gr               | 44                                   | 35                                    |
|  | 27 gr               | 35                                   | 41                                    |
|  | 28 gr               | 39                                   | 45                                    |
| <b>Moyenne</b>                           |                     | 41                                   | 42                                    |
| <b>Ecartype</b>                          |                     | 5,85                                 | 5,13                                  |
| <b>Inhibition %</b>                      |                     | 53%                                  | 66%                                   |
| <b>Extrait hydroalcoolique 500 mg/Kg</b> | 28 gr               | 40                                   | 30                                    |
|  | 25 gr               | 39                                   | 26                                    |
|  | 30 gr               | 32                                   | 28                                    |
|  | 26 gr               | 35                                   | 29                                    |
|  | 27 gr               | 41                                   | 24                                    |
|  | 28 gr               | 38                                   | 33                                    |
| <b>Moyenne</b>                           |                     | 38                                   | 28                                    |
| <b>Ecartype</b>                          |                     | 3,39                                 | 3,15                                  |
| <b>Inhibition %</b>                      |                     | 57%                                  | 77%                                   |
| <b>Groupes</b>                           | <b>Poids souris</b> | <b>Première phase 0 à 05 minutes</b> | <b>Deuxième phase 15 à 30 minutes</b> |
|  | 25 gr               | 58                                   | 48                                    |

|  |       |        |        |
|--|-------|--------|--------|
|  | 26gr  | 59     | 45     |
|  | 28 gr | 55     | 52     |
|  | 24 gr | 53     | 43     |
|  | 25 gr | 51     | 50     |
|  | 26 gr | 60     | 47     |
| <b>Moyenne</b>                                   |       | 57     | 48     |
| <b>Ecartype</b>                                  |       | 3,57   | 3,28   |
| <b>Inhibition %</b>                              |       | 35%    | 61%    |
| <b>Extrait<br/>hydroalcoolique 200<br/>mg/Kg</b> | 28 gr | 79     | 69     |
|  | 25 gr | 83     | 66     |
|  | 30 gr | 80     | 73     |
|  | 26 gr | 77     | 70     |
|  | 27 gr | 91     | 62     |
|  | 28 gr | 85     | 68     |
| <b>Moyenne</b>                                   |       | 83     | 68     |
| <b>Ecartype</b>                                  |       | 5,04   | 3,74   |
| <b>Inhibition %</b>                              |       | 06%    | 44%    |
| <b>L'eau distillé<br/>10ml/Kg</b>                | 28 gr | 93     | 120    |
|  | 25 gr | 92     | 115    |
|  | 30 gr | 89     | 127    |
|  | 26 gr | 83     | 130    |
|  | 27 gr | 81     | 110    |
|  | 28 gr | 85     | 129    |
| <b>Moyenne</b>                                   |       | 88     | 122    |
| <b>Ecartype</b>                                  |       | 4,92   | 8,17   |
| <b>Inhibition %</b>                              |       | -----% | -----% |

Les valeurs exprimées en moyenne± ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 6

## Annexe D : Activité Antipyrétique

**Tableau 1** : Variation de la température corporelle chez les souris après injection sous-cutané de la levure de bière en fonction du temps.

| Extrait                             | Poids souris | T°avant | T°après 24h | 1h     | 02h    | 03h    | 04h    | 05h    |
|-------------------------------------|--------------|---------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Hydroalcoolique<br/>500mg/kg</b> | 29 gr        | 36      | 38,9        | 38,33  | 38,06  | 37,04  | 36,80  | 36,62  |
|                                     | 28 gr        | 35,90   | 39,00       | 38,60  | 38,29  | 37,00  | 36,79  | 36,26  |
|                                     | 32 gr        | 36,70   | 38,60       | 38,00  | 37,94  | 37,52  | 36,85  | 36,90  |
|                                     | 27 gr        | 36,20   | 39,00       | 38,48  | 37,85  | 36,90  | 36,79  | 36,48  |
|                                     | 26 gr        | 36,50   | 38,75       | 38,35  | 38,08  | 36,96  | 36,83  | 36,68  |
| <b>Moyenne</b>                      |              | 36,26   | 38,85       | 38,35  | 38,04  | 37,08  | 36,82  | 36,58  |
| <b>Ecartype</b>                     |              | 0,34    | 0,17        | 0,22   | 0,17   | 0,25   | 0,03   | 0,24   |
| <b>Inhibition%</b>                  |              |         |             | 17,78% | 29,78% | 79,56% | 85,33% | 92,00% |
| <b>Hydroalcoolique<br/>300mg/kg</b> | 25 gr        | 36,2    | 39,40       | 39,25  | 39,00  | 38,58  | 38,30  | 37,58  |
|                                     | 29 gr        | 35,80   | 38,50       | 38,42  | 38,36  | 38,29  | 37,74  | 37,25  |
|                                     | 30 gr        | 36,50   | 39,00       | 38,96  | 38,09  | 38,00  | 37,80  | 37,65  |
|                                     | 26 gr        | 36,00   | 39,34       | 38,50  | 38,20  | 37,88  | 37,50  | 36,90  |
|                                     | 29 gr        | 36,50   | 38,90       | 38,65  | 38,48  | 38,20  | 37,96  | 37,70  |
| <b>Moyenne</b>                      |              | 36,20   | 39,03       | 38,76  | 38,43  | 38,19  | 37,86  | 37,44  |
| <b>Ecartype</b>                     |              | 0,32    | 0,36        | 0,34   | 0,35   | 0,28   | 0,30   | 0,33   |
| <b>Inhibition%</b>                  |              |         |             | 10,42% | 17,50% | 29,17% | 39,17% | 50,00% |
| <b>Hydroalcoolique<br/>200mg/kg</b> | 28 gr        | 36,2    | 39,00       | 38,88  | 38,79  | 38,62  | 38,43  | 38,34  |
|                                     | 26 gr        | 36,50   | 39,30       | 39,00  | 38,85  | 38,38  | 38,00  | 37,87  |
|                                     | 30 gr        | 35,90   | 39,20       | 38,94  | 38,68  | 38,50  | 38,20  | 37,96  |
|                                     | 29 gr        | 36,00   | 39,34       | 39,20  | 39,00  | 38,64  | 38,39  | 38,23  |
|                                     | 32 gr        | 36,29   | 39,40       | 39,28  | 39,09  | 38,66  | 38,49  | 38,26  |
| <b>Moyenne</b>                      |              | 36,18   | 39,25       | 39,06  | 38,88  | 38,56  | 38,30  | 38,14  |
| <b>Ecartype</b>                     |              | 0,24    | 0,17        | 0,17   | 0,16   | 0,12   | 0,20   | 0,20   |
| <b>Inhibition%</b>                  |              |         |             | 03,86% | 9,97%  | 23,79% | 29,26% | 36,66% |

|                                     |       |       |       |        |        |        |        |        |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Paracetamol 150mg/kg</b>         | 28 gr | 35,80 | 38,56 | 37,85  | 37,29  | 36,86  | 36,42  | 35,85  |
|                                     | 30 gr | 36,00 | 38,42 | 37,65  | 37,17  | 36,54  | 36,42  | 35,85  |
|                                     | 29 gr | 36,40 | 38,69 | 38,09  | 37,60  | 36,80  | 36,68  | 36,32  |
|                                     | 28 gr | 36,20 | 38,77 | 38,45  | 37,38  | 36,60  | 36,40  | 36,10  |
|                                     | 32 gr | 36,50 | 39,04 | 38,57  | 37,92  | 36,90  | 36,65  | 36,60  |
| <b>Moyenne</b>                      |       | 36,18 | 38,69 | 38,12  | 37,47  | 36,74  | 36,51  | 36,07  |
| <b>Ecartype</b>                     |       | 0,28  | 0,24  | 0,39   | 0,29   | 0,17   | 0,14   | 0,42   |
| <b>Inhibition%</b>                  |       |       |       | 18,50% | 44,09% | 84,25% | 94,09% | 96,06% |
| <b>Hydroalcoolique<br/>200mg/kg</b> | 30 gr | 35,90 | 39,20 | 39,40  | 39,20  | 39,00  | 38,88  | 38,50  |
|                                     | 28 gr | 36,30 | 39,40 | 39,58  | 39,49  | 39,20  | 38,92  | 38,40  |
|                                     | 29 gr | 36,28 | 39,60 | 39,82  | 39,69  | 39,50  | 39,30  | 38,54  |
|                                     | 30 gr | 36,20 | 39,50 | 39,30  | 39,00  | 38,96  | 38,50  | 38,00  |
|                                     | 26 gr | 36,40 | 36,69 | 39,24  | 39,20  | 39,00  | 38,79  | 38,29  |
| <b>Moyenne</b>                      |       | 36,21 | 38,87 | 39,46  | 39,31  | 39,13  | 38,87  | 38,34  |
| <b>Ecartype</b>                     |       | 0,17  | 1,02  | 0,21   | 0,24   | 0,20   | 0,25   | 0,20   |
| <b>Inhibition%</b>                  |       |       |       | -----% | -----% | -----% | -----% | -----% |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5.

## Annexe E : Activité Cicatrisante

**Tableau 1 :** Evaluation de l'œdème et Echelle numérique de l'érythème et la formation d'escarres

| Paramètres      | Scores  |
|-----------------|---|
| <b>Erythème</b> | Pas d'érythème. <span style="float: right;"><b>0</b></span>   |
|                 | Léger érythème (à peine visible). <span style="float: right;"><b>1</b></span>   |
|                 | Erythème bien visible. <span style="float: right;"><b>2</b></span>  |
|                 | Erythème important. <span style="float: right;"><b>3</b></span>   |
|                 | Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes). <span style="float: right;"><b>4</b></span> |
| <b>Œdème</b>    | Pas d'œdème. <span style="float: right;"><b>0</b></span>  |
|                 | Très léger œdème (à peine visible). <span style="float: right;"><b>1</b></span>                                       |
|                 | Léger œdème (conditions bien définis, Gonflement apparent ). <span style="float: right;"><b>2</b></span>              |
|                 | Œdème moyen (épaisseur environ 1mm). <span style="float: right;"><b>3</b></span>                                      |
|                 | Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm). <span style="float: right;"><b>4</b></span>                                |

**Tableau 02 :** Evolution de la température corporelle (C°) pendant la période de cicatrisation selon les différents traitements

|                        | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
|------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Huile essentiel</b> | 36,50     | 36,90      | 36,80      | 36,50      | 36,60      | 36,40      | 36,80      | 36,80      |
|                        | 37,00     | 37,30      | 37,20      | 37,00      | 36,80      | 36,80      | 36,90      | 37,00      |
|                        | 36,40     | 36,50      | 36,50      | 36,20      | 36,70      | 37,00      | 36,50      | 36,50      |
|                        | 37,20     | 37,00      | 36,80      | 36,50      | 36,60      | 36,50      | 36,80      | 37,00      |
|                        | 36,40     | 36,50      | 36,20      | 36,50      | 36,80      | 36,50      | 36,90      | 36,60      |
| <b>Moyenne</b>         | 36,70     | 36,84      | 36,70      | 36,54      | 36,70      | 36,64      | 36,78      | 36,78      |
| <b>Ecartype</b>        | 0,38      | 0,34       | 0,38       | 0,29       | 0,20       | 0,25       | 0,16       | 0,23       |
|                        | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Hydroalcoolique</b> | 36,00     | 36,30      | 36,50      | 36,80      | 36,90      | 36,80      | 36,40      | 36,40      |
|                        | 36,50     | 36,60      | 36,80      | 36,90      | 37,00      | 36,60      | 36,30      | 36,40      |
|                        | 36,20     | 36,50      | 36,60      | 36,60      | 36,90      | 36,40      | 36,50      | 36,30      |
|                        | 36,80     | 36,90      | 36,90      | 37,00      | 36,80      | 36,60      | 36,60      | 36,50      |
|                        | 36,00     | 36,30      | 36,50      | 36,50      | 36,60      | 36,40      | 36,00      | 36,00      |
| <b>Moyenne</b>         | 36,30     | 36,52      | 36,66      | 38,76      | 36,84      | 36,56      | 36,36      | 36,32      |
| <b>Ecartype</b>        | 0,35      | 0,25       | 0,20       | 0,22       | 0,15       | 0,17       | 0,23       | 0,20       |
|                        | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Hibernine</b>       | 36,00     | 36,30      | 36,20      | 36,00      | 36,00      | 35,90      | 36,20      | 36,00      |
|                        | 36,50     | 36,50      | 36,40      | 36,20      | 36,00      | 36,30      | 36,40      | 36,30      |
|                        | 36,80     | 36,60      | 36,50      | 36,50      | 36,40      | 36,30      | 36,50      | 36,60      |
|                        | 36,60     | 36,60      | 36,40      | 36,50      | 36,60      | 36,30      | 36,50      | 36,40      |
|                        | 36,40     | 36,50      | 36,30      | 36,50      | 36,60      | 36,30      | 36,30      | 36,40      |
| <b>Moyenne</b>         | 36,46     | 36,50      | 36,36      | 36,34      | 36,32      | 36,22      | 36,38      | 36,34      |

| <b>Ecartype</b>                | 0,30      | 0,12       | 0,12       | 0,23       | 0,30       | 0,18       | 0,14       | 0,22       |
|--------------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Non traité<br/>(Témoïn)</b> | 36,30     | 36,50      | 36,60      | 36,80      | 36,60      | 36,90      | 36,80      | 36,90      |
|                                | 36,00     | 36,20      | 36,30      | 36,50      | 36,40      | 36,50      | 36,40      | 36,40      |
|                                | 36,40     | 36,50      | 36,60      | 36,80      | 36,80      | 36,50      | 36,50      | 36,60      |
|                                | 36,50     | 36,60      | 36,80      | 36,90      | 36,60      | 36,60      | 36,80      | 36,60      |
|                                | 36,80     | 36,90      | 36,60      | 36,80      | 36,50      | 36,60      | 36,90      | 36,80      |
| <b>Moyenne</b>                 | 36,40     | 36,54      | 36,58      | 36,76      | 36,58      | 36,62      | 36,68      | 36,66      |
| <b>Ecartype</b>                | 0,29      | 0,25       | 0,18       | 0,15       | 0,15       | 0,17       | 0,22       | 0,20       |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5.

**Tableau 03** : Evolution du poids pondéral (P) pendant la période de cicatrisation selon les différents traitements.

|                                | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
|--------------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Huile essentiel</b>         | 260       | 255        | 240        | 246        | 259        | 273        | 284        | 292        |
|                                | 255       | 249        | 235        | 244        | 256        | 262        | 273        | 288        |
|                                | 249       | 238        | 230        | 243        | 253        | 264        | 276        | 294        |
|                                | 252       | 240        | 233        | 248        | 254        | 263        | 269        | 300        |
|                                | 258       | 253        | 246        | 258        | 264        | 275        | 280        | 298        |
| <b>Moyenne</b>                 | 254,80    | 247        | 236,80     | 247,80     | 257,20     | 267,40     | 276,40     | 294,40     |
| <b>Ecartype</b>                | 4,44      | 7,65       | 6,30       | 6,02       | 4,44       | 6,12       | 5,86       | 4,77       |
|                                | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Hydroalcoolique</b>         | 260       | 250        | 239        | 228        | 220        | 236        | 245        | 255        |
|                                | 254       | 249        | 236        | 230        | 226        | 230        | 248        | 259        |
|                                | 249       | 238        | 229        | 224        | 219        | 226        | 239        | 254        |
|                                | 246       | 239        | 234        | 226        | 216        | 229        | 246        | 260        |
|                                | 250       | 246        | 238        | 225        | 216        | 233        | 240        | 254        |
| <b>Moyenne</b>                 | 251,80    | 244,40     | 235,20     | 226,20     | 219,40     | 230,80     | 243,60     | 256,40     |
| <b>Ecartype</b>                | 5,40      | 5,59       | 3,96       | 2,42       | 4,10       | 3,83       | 3,92       | 2,88       |
|                                | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Hibermine</b>               | 250       | 242        | 248        | 255        | 263        | 279        | 290        | 320        |
|                                | 243       | 230        | 233        | 249        | 260        | 275        | 283        | 309        |
|                                | 260       | 253        | 246        | 258        | 273        | 286        | 295        | 322        |
|                                | 265       | 259        | 248        | 259        | 266        | 276        | 285        | 294        |
|                                | 255       | 249        | 239        | 246        | 258        | 269        | 278        | 298        |
| <b>Moyenne</b>                 | 254,60    | 246,60     | 242,80     | 253,40     | 264        | 277        | 286,20     | 308,6      |
| <b>Ecartype</b>                | 8,56      | 11,15      | 6,61       | 5,68       | 5,87       | 6,20       | 6,53       | 12,60      |
|                                | <b>J0</b> | <b>J03</b> | <b>J06</b> | <b>J09</b> | <b>J12</b> | <b>J15</b> | <b>J18</b> | <b>J21</b> |
| <b>Non traité<br/>(Témoin)</b> | 240       | 230        | 224        | 214        | 200        | 179        | 193        | 219        |
|                                | 249       | 233        | 220        | 216        | 209        | 169        | 180        | 223        |



|                 |        |        |      |        |      |        |        |        |
|-----------------|--------|--------|------|--------|------|--------|--------|--------|
|                 | 238    | 229    | 219  | 200    | 189  | 173    | 189    | 229    |
|                 | 250    | 240    | 233  | 224    | 208  | 190    | 206    | 236    |
|                 | 254    | 249    | 239  | 228    | 204  | 185    | 198    | 235    |
| <b>Moyenne</b>  | 246,20 | 236,20 | 227  | 216,40 | 202  | 179,20 | 193,20 | 228,40 |
| <b>Ecartype</b> | 6,87   | 8,35   | 8,69 | 10,82  | 8,09 | 8,56   | 9,73   | 7,40   |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 5.

**Tableau 03** : Répartition des animaux selon le poids

|                       | <b>L'extrait Hydroalcoolique</b> | <b>Huile essentielle</b> | <b>Hibermine</b> | <b>Témoin</b> |
|-----------------------|----------------------------------|--------------------------|------------------|---------------|
| <b>Poids des rats</b> | R 1 : 230 gr                     | R 1 : 218gr              | R 1 : 203gr      | R 1 : 188gr   |
|                       | R 02 : 187gr                     | R 02 : 222gr             | R 02 : 224gr     | R 02 : 201gr  |
|                       | R 03 : 181gr                     | R 03 : 196gr             | R 03 : 187gr     | R 03 : 197gr  |
|                       | R 04 : 200gr                     | R 04 : 166gr             | R 04 : 209gr     | R 04 : 250gr  |
|                       | R 05 : 206gr                     | R 05 : 200gr             | R 05 : 195gr     | R 05 : 160gr  |

#### **Médicaments :**

- Thiopental 1gr/10ml : utilisé à la dose 25 à 40mg/kg.
- Paracétamol (Perfalgan) 1g/200ml : utilisé à raison de 40 mg/kg (correspond à 2ml pour un rat de 250gr).
- Hibermine.
- Désinfectants : Alcool chirurgical (75°) et Eau de Javel.

#### **Matériel :**

- Matériel chirurgicale stérile
- Matériel de dissection
- Scalpel stérile
- Tendeuse électrique
- Rasoir
- Pied à coulisse digitale
- Poinçon métallique de dimensions :
- 02 Becs bunsen
- Chronomètre
- Pied à coulisse
- Appareil photo numérique
- Balance de précision
- Paire de ciseaux
- Spatules stériles
- Thermocouple

## Annexe F : Activité antibactérienne

**Annex 12 :** les diamètres d'inhibition enregistrées pour huile essentielle et l'extrait hydroalcoolique

| Huile essentielle |              |              |               | Extrait hydroalcoolique |              |              |               |
|-------------------|--------------|--------------|---------------|-------------------------|--------------|--------------|---------------|
| Concentration     | E. coli      | S. aureus    | P. aeruginosa | Concentration           | E. coli      | S. aureus    | P. aeruginosa |
| <b>100%</b>       | 12 mm        | 19 mm        | 13 mm         | <b>100%</b>             | 09 mm        | 14 mm        | 11 mm         |
|                   | 11 mm        | 18 mm        | 13 mm         |                         | 09 mm        | 13 mm        | 11 mm         |
|                   | 11 mm        | 18 mm        | 14 mm         |                         | 08 mm        | 13 mm        | 10 mm         |
| <b>Moyenne</b>    | <b>11,33</b> | <b>18,33</b> | <b>13,33</b>  | <b>Moyenne</b>          | <b>08,67</b> | <b>13,33</b> | <b>10,33</b>  |
| <b>Ecartype</b>   | <b>0,58</b>  | <b>0,57</b>  | <b>0,57</b>   | <b>Ecartype</b>         | <b>0,58</b>  | <b>0,58</b>  | <b>0,57</b>   |
| <b>75%</b>        | 11 mm        | 15 mm        | 10 mm         | <b>75%</b>              | 7 mm         | 11 mm        | 09 mm         |
|                   | 10 mm        | 13 mm        | 12 mm         |                         | 06 mm        | 12 mm        | 09 mm         |
|                   | 09 mm        | 14 mm        | 10 mm         |                         | 06 mm        | 10 mm        | 08 mm         |
| <b>Moyenne</b>    | <b>10</b>    | <b>14</b>    | <b>10,66</b>  | <b>Moyenne</b>          | <b>6,33</b>  | <b>11</b>    | <b>08,67</b>  |
| <b>Ecartype</b>   | <b>1</b>     | <b>1</b>     | <b>1,54</b>   | <b>Ecartype</b>         | <b>0,58</b>  | <b>1</b>     | <b>0,58</b>   |
| <b>50%</b>        | 09 mm        | 13 mm        | 11 mm         | <b>50%</b>              | 06 mm        | 10 mm        | 08 mm         |
|                   | 09 mm        | 12 mm        | 09 mm         |                         | 06 mm        | 10 mm        | 06 mm         |
|                   | 08 mm        | 14 mm        | 11 mm         |                         | 05 mm        | 09 mm        | 07 mm         |
| <b>Moyenne</b>    | <b>08,66</b> | <b>13</b>    | <b>10,33</b>  | <b>Moyenne</b>          | <b>5,67</b>  | <b>09,67</b> | <b>07,00</b>  |
| <b>Ecartype</b>   | <b>1,57</b>  | <b>1</b>     | <b>1,54</b>   | <b>Ecartype</b>         | <b>0,58</b>  | <b>1,58</b>  | <b>0,58</b>   |
| <b>25%</b>        | 08 mm        | 10 mm        | 10 mm         | <b>25%</b>              | 06 mm        | 10 mm        | 03 mm         |
|                   | 07 mm        | 12 mm        | 09 mm         |                         | 05 mm        | 09 mm        | 04 mm         |
|                   | 06 mm        | 10 mm        | 09 mm         |                         | 05 mm        | 09 mm        | 03 mm         |
| <b>Moyenne</b>    | <b>7</b>     | <b>10,66</b> | <b>7</b>      | <b>Moyenne</b>          | <b>5,33</b>  | <b>9,33</b>  | <b>03,33</b>  |
| <b>Ecartype</b>   | <b>1</b>     | <b>1,54</b>  | <b>0,54</b>   | <b>Ecartype</b>         | <b>0,58</b>  | <b>0,58</b>  | <b>0,58</b>   |
| <b>12,5%</b>      | 06 mm        | 10 mm        | 08 mm         | <b>12,5%</b>            | 05 mm        | 08 mm        | 00 mm         |
|                   | 06 mm        | 10 mm        | 06 mm         |                         | 05 mm        | 09 mm        | 00 mm         |
|                   | 05 mm        | 08 mm        | 06 mm         |                         | 03 mm        | 08 mm        | 00 mm         |
| <b>Moyenne</b>    | <b>05,66</b> | <b>9,33</b>  | <b>05</b>     | <b>Moyenne</b>          | <b>04,33</b> | <b>08,33</b> | <b>00</b>     |
| <b>Ecartype</b>   | <b>1,54</b>  | <b>1,54</b>  | <b>1,54</b>   | <b>Ecartype</b>         | <b>1,15</b>  | <b>1,58</b>  | <b>00</b>     |

Les valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ecartype. SEM. (erreur standard sur la moyenne) avec n = 3.

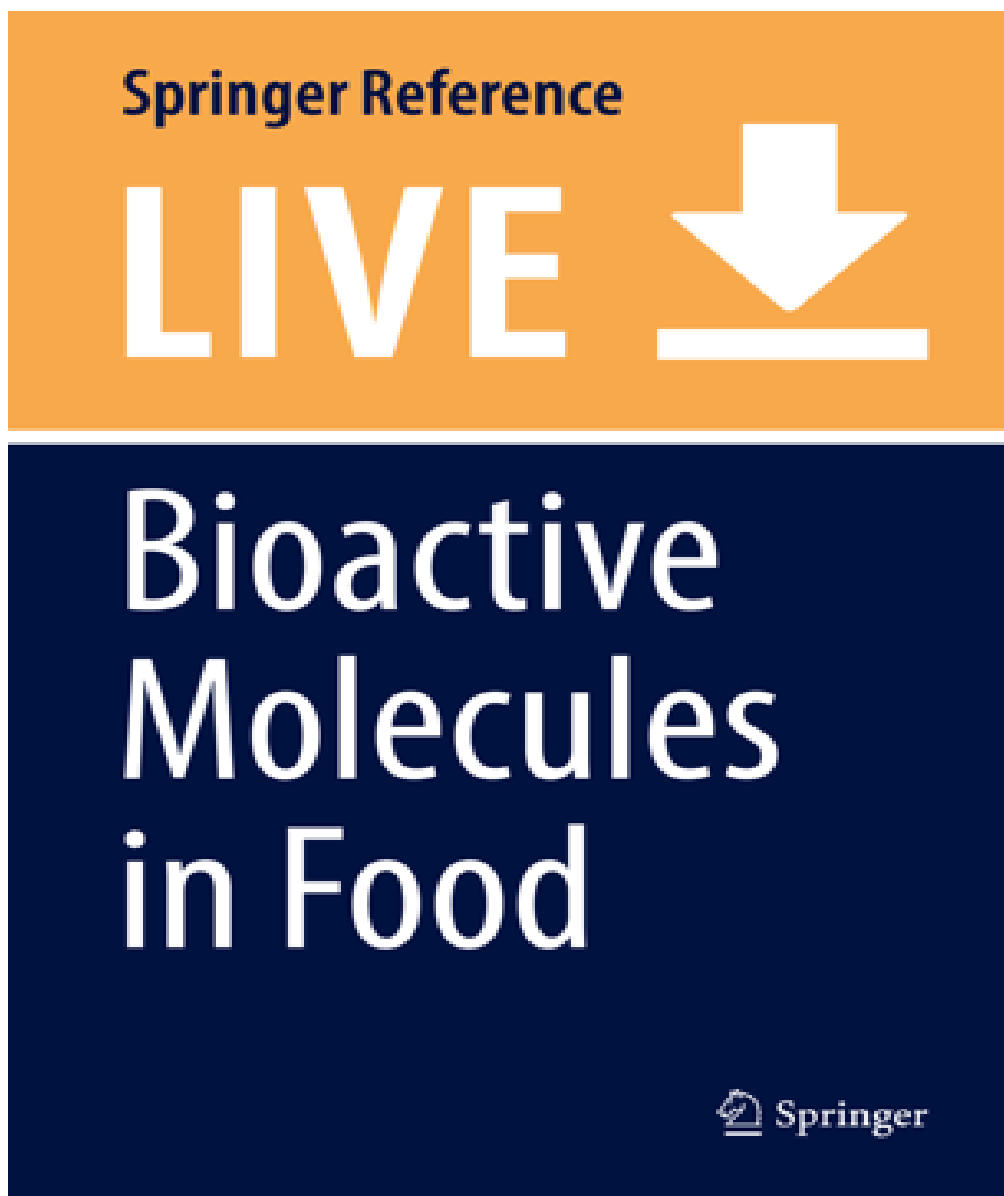
---

Notre travail d'optimisation est cité dans ce livre comme référence

- **Editors**

Jean-Michel Mérillon

K.G. Ramawat



17. Świeca M, Gawlik-Dziki U (2008) Influence of thermal processing on phenolics compounds level and antiradical activity of dill (*Anethum graveolens* L.) *Herba Polonica* 54 :59–69 Cross Ref **Google Scholar**.

18. Isbilir SS, Sagioglu A (2011) Antioxidant potential of different dill (*Anethum graveolens* L.) leaf extracts. *Int J Food Prop* 14 :894–902 Cross Ref **Google Scholar**.

---

19. Molnar M, Jerković I, Suknović D, Bilić-Rajs B, Aladić K, Šubarić D, Jokić S (2017) Screening of six medicinal plant extracts obtained by two conventional methods and supercritical CO<sub>2</sub> extraction targeted on coumarin content, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity and total phenols content. *Molecules* 22 :348. <https://doi.org/10.3390/molecules22030348> Cross Ref **Google Scholar**.
20. Harmala P, Vuorela H (1990) Optimization of the high-performance liquid chromatography of coumarins in *Angelica archangelica* with reference to molecular structure. *J Chromatogr* 507 :367–380 Cross Ref **Google Scholar**.
21. Kumar D, Bhat ZA, Kumar V, Shah MY (2013) Coumarins from *Angelica archangelica* Linn. And their effects on anxiety-like behavior. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 40 :180–186 Cross Ref **Google Scholar**.
- 22. Dellal A, Benali FT, Hamel A, Dif MM, Bouazza S, Douaoui A, Rahmani H (2016) Optimization of the extraction conditions of phenolic compounds from (*Apium graveolens*) seeds by response surface methodology. *Adv Environ Biol* 10 :155–163 Cross Ref **Google Scholar****
23. Yao Y, Sang W, Zhou M, Ren G (2010) Phenolic composition and antioxidant activities of 11 celery cultivars. *J Food Sci* 75 : C9–13 Cross Ref **Google Scholar**.
24. Vallverdú-Queralt A, Regueiro J, Alvarenga JFR, Martínez-Huelamo M, Leal LN, Lamuela-Raventós RM (2015) Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary herbs and spices : caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. *Food Sci Technol Campinas* 35 :189–195 Cross Ref **Google Scholar**.
-

## Résumé

Le céleri est une plante bisannuelle de la famille des Apiacées qui occupe une place importante dans la flore algérienne, sa richesse en principes actifs et en substances naturelles lui confère des vertus thérapeutiques, méritant d'être étudiée et valorisée.

Dans le cadre de la valorisation des plantes condimentaires cultivées dans l'ouest algérien, nous avons choisie *Apium graveolens L.*

Le présent travail a pour but d'étudier la composition phytochimique de cette espèce, cultivée dans la région de sidi bel abbés comme étant un condiment et une plante médicinale et d'évaluer quelques activités pharmaco-biologiques de ces composés sur des modèles in vivo et in vitro, notamment l'activité antioxydante, la toxicité, l'activité anti-inflammatoire, l'activité analgésique, l'activité antipyrétique, l'activité cicatrisante ainsi que l'activité antimicrobienne.

Dans ce contexte, notre travail a débuté d'abord, par une enquête ethnobotanique réalisée à l'aide d'un questionnaire, mettant en relief le savoir populaire des différents usages médicaux de cette plante. L'enquête a prouvé d'une part, que le céleri est utilisé comme condiment et comme traitement contre : l'inflammation, les douleurs digestives et le rhumatisme.

Le screening phytochimique a démontré que l'extrait de la plante étudiée est riche en tanins, en flavonoïdes, en saponosides et en terpenoïdes, et le dosage, par la méthode de spectrophotométrie des composées phénoliques de l'extrait hydroalcoolique, a révélé une teneur très importante en flavonoïdes (105,20±5,17 mg EC/g d'extrait), en phénols totaux avec une teneur de (102,23±1,36 mg GAE/g d'extrait) et en tanins, avec une teneur moins remarquable (19,77± 1,69 mg EC/g d'extrait).

Par ailleurs, l'activité antioxydante de l'extrait, par la méthode de DPPH, a montré que l'extrait testé à un potentiel antioxydant très important, avec un IC<sub>50</sub> de 1.29 mg/ml.

A l'issue du test de toxicité aiguë par l'administration des doses (500, 1000, 3000, 5000, 10000 mg/Kg P.C.) de l'extrait hydroalcoolique n'induit aucun signe visible de toxicité instantanée chez les souris testées au cours de la période d'observation.

Par contre, pour l'activité anti-inflammatoire, l'extrait étudié a prouvé son effet efficace, et a pu inhiber l'inflammation induite par la caragénine d'une façon significative ( $P \leq 0.05$ ), après deux heures de son administration, et à une dose de 500 mg/Kg PC.

Quant à l'activité analgésique évaluée par la méthode de « stimulus thermique », l'extrait a révélé un effet analgésique central remarquable ; et l'effet analgésique périphérique testée par l'acide acétique et le formaldéhyde selon la méthode de Sawadogo *et al.*, 2006, paraît satisfaisant.

Alors que l'activité antipyrétique de l'extrait sujet de notre étude, qui a été testée par l'injection de la levure de bière, indique que la température corporelle a été réduite d'une façon significative et d'une manière dose dépendante.

En parallèle, l'huile essentielle extraite des graines de l'*Apium graveolens L* a révélé un pouvoir cicatrisant très remarquable par le rétrécissement de la surface de brûlure à 100% après 15 jours de l'application.

Et de même, l'activité anti bactérienne de la même huile, s'avère avoir un pouvoir intéressant avec un diamètre d'inhibition de (18,33±0,57mm) pour *Staphylococcus aureus*, et un effet moins important pour *pseudo et Ecoli*.

La caractérisation de l'huile essentielle des graines de l'espèce étudiée, par la technique de la CG/MS, a été aussi évoquée et a montré la dominance des monoterpènes avec trois molécules majoritaire ( $\beta$ -Pinène, Myrcène et Limonène) avec un pourcentage de 55,1%.

**Mots clé :** *Apium graveolens L*, extrait hydroalcoolique, huiles essentielles, caractérisation, activités biologiques.