

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**Evaluation *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire
et analgésique de l'extrait des clous de girofle**

Présenté Par : Metallaoui Celine

Mezaier Chorouk

Mihoub Khaira

Ouraci Tansim

Membre de Jury :

Dr Ouamane Souhila (Dr)

Président

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr Belambri Sahra Amel (MCA)

Promoteur

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr Bouhaddouda Nabila (MCB)

Examineur

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre plus sincère gratitude envers Dieu, sans lequel la réussite de ces études et de cette recherche n'aurait pas été possible.

Nous voudrions ensuite adresser nos plus chaleureux remerciements à notre directrice de recherche, le **Dr « Belambri Sahra Amel »**. Son encadrement exceptionnel, sa rigueur scientifique et ses judicieux conseils ont été déterminants dans l'aboutissement de ce travail. Nous lui en sommes profondément reconnaissants.

Nous exprimons également notre profonde reconnaissance au **Dr « Ouamane Souhila »** d'avoir accepté la présidence du jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre plus grand respect.

Nos sincères hommages vont également au **Dr « Bouhaddouda Nabila »**, qui a eu la gentillesse d'examiner ce travail.

Nous tenons également à remercier Monsieur « **Aœuzal Badis** » pour ses précieuses recommandations, qui ont grandement facilité le processus de recherche.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet.

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude que je dédie cette réalisation modérée :

En l'honneur de ma mère chérie, dont affection bienveillante et ta présence à mes côtés ont été ma force dans les moments difficiles.

Pour mon père vénéré, dont soutien indéfectible et tes encouragements m'ont toujours guidé.

En hommage à mon cher frère Mohamed Lamine et mes sœurs adorées Randa, Ines et Djasmine qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'étude que Dieu vous préserve et vous accorde santé, bonheur et réussite.

C'est avec toute mon affection je dédie ce travail à ma directrice de recherche, le Docteur « Belambri Sahra Amel », pour son encadrement exemplaire, sa rigueur scientifique et ses judicieux conseils, qui ont été déterminants dans la réussite de ce travail. Que Dieu la rétribue pour sa bienveillance et sa générosité.

À Monsieur « Aœuzal Badis », dont les recommandations précieuses ont facilité grandement le processus de recherche.

Je consacre ce projet à mes amis Noussayba, Achouak, Hazar pour leur soutien, leurs encouragements, votre engagement et votre solidarité ont été d'un apport inestimable.

Céline

Dédicace

Louange à dieu seul.

Je tiens avec grand plaisir à dédier ce modeste travail:

À ma chère maman, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices et à mon cher papa pour son amour et son dévouement. À vous mes parents je dis merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui, Aucun dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, car je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont toujours entouré depuis mon enfance.

À mes frères et ma sœur qui m'ont chaleureusement supporté, encouragé tout au long de mon parcours.

Dédicacé spécial à mon promotrice Dr « Belambri Sahara Amel » pour sa soutien constant et son encouragement, Que dieu la récompense de toute bonté.

À monsieur « Aœuzal Badis », pour ses conseils qu'à facilités mon travail.

À ma famille, mes amis et à tous les personnes ayant aidé de près ou de loin à atteindre mon objectif.

A vous tous je dédie ce travail.

Chorouk

Dédicace

Grâce à Dieu et à son succès, cette œuvre a été achevée. Dieu soit loué pour toujours.

Je dédie ce travail :

À Celui qui illumine mon nom de son nom « Mon Père » et à la fontaine de tendresse « Ma Mère », je ne l'ai atteint que par la grâce de Dieu et votre faveur envers moi. Mes parents, merci beaucoup pour vos efforts en mon nom. Je vous aime tous. Que Dieu vous protège tous les deux et qu'Il prolonge votre vie.

À mes sœurs, "Aïcha", "Rachâ", "Kenza", et à notre fille, "Qater Al-Nada", à mes frères, "Nour El-Din", "Mehammad Lamin", "Ossama" je te dédie ce travail parce que tu es mon soutien et une partie de ma vie.

À la superviseuse de ce travail avec ses connaissances, sa compassion et ses conseils, « Dr Belambri Sahara Amel », je vous dédie le fruit de vos efforts et de vos conseils. Que Dieu vous récompense de toute bonté.

Au Monsieur « Aœuzal Badis » pour les conseils qui complètent notre travail et sa sincérité en nous guidant dans ce travail. Merci.

À mes amis dans ce travail, je dédie ce travail à nous-mêmes et à nos efforts pour achever ce travail. Loué soit Dieu pour ce que nous sommes.

À mes amis, compagnons et soutien dans la vie, "Chaïma", "Iman", "Noura", "Hasna" pour le soutien et chaque pas ensemble, je t'aime.

Je dédie ce travail à ceux qui m'ont aidé par des prières pour leur fidèle soutien et leur présence, à vous tous.

Khaira

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes chers parents source de lumière et de tendresse, leurs efforts et leur soutien inébranlable et leur affection ont été d'un soutien inestimable.

À ma promotrice, le Dr. « Sahra Amel Belambri » pour son encadrement attentif, ses conseils précieux et son orientation éclairée qui ont contribué à la réussite de cette recherche. Que Dieu la récompense pour sa bienveillance.

À Mr. « Badis Aœuzal » pour ses conseils qui ont facilité le processus de recherche.

À mes amis précieux, vous êtes les piliers de mon parcours, les soutiens infaillibles qui ont rendu ce chemin possible, votre amour et votre encouragement ont été ma lumière à travers chaque étape de ce mémoire.

Merci pour vos mots d'encouragement, vos oreilles attentives et votre présence constante.

Avec toute ma gratitude,

Tansim

Liste des figures et des tableaux

1. Liste des figures

Figure 1 : Modifications vasculaires.

Figure 2 : Migration trans-endothéliale des leucocytes.

Figure 3 : Schéma récapitulatif de l'inflammation chronique.

Figure 4 : Giroflier : A. Allure du giroflier, B. Boutons floraux et fleurs de giroflier.

Figure 5 : Préparation de l'extrait : A. Macération, B. évaporateur rotatif.

Figure 6 : Test de l'œdème de l'oreille : A. Gavage du rat, B. Mesure de l'épaisseur de l'oreille.

Figure 7 : Protocol du test analgésique.

Figure 8 : Processus du test de la péritonite : A. Injection de la λ -carrageenane, B. Récupération de l'eau physiologique.

Figure 9 : Evaluation de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène après l'administration orale de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* en fonction du temps.

Figure 10 : Evaluation de nombre de neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale des rats après l'injection de 0.2 ml de λ -carrageenane 1% en fonction de différents tests.

Figure 11 : Evaluation du temps de réaction des rats lorsque leur queue était immergée dans de l'eau chaude et ne subit aucun traitement (contrôle), après l'administration orale de l'extrait (teste) et administration orale de l'aspirine.

2. Liste des tableaux

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.

Liste des abréviations

- **AA** : Acide Arachidonique.
- **AINS** : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien.
- **AIS** : Anti-Inflammatoire Stéroïdien.
- **COX** : Cyclo-Oxygénase.
- **EOR** : Espèce oxygénées réactives.
- **GABA** : Acide Gamma-AminoButyrique.
- **IL** : Interleukine.
- **LOX** : Lipo-Oxygénases.
- **LT** : Leucotriène.
- **NK** : Cellules Tueuses Naturelles.
- **NO** : Oxyde d'Azote.
- **PAF** : Facteur Activateur de Plaquette.
- **PG** : Prostaglandine.
- **PLA2** : Phospholipase A2.
- **TNF** : Tumor Necrosis Factor.
- **TRPV** : Récepteurs Potentiels Transitoire Vanilloïde.

Sommaire

I.Introduction.....	1
Chapitre 1 : Inflammation	
1. Réaction inflammatoire.....	2
2. Types de l'inflammation.....	2
2.1. Inflammation aiguë.....	2
2.1.1. Phase vasculaire (initiation).....	2
2.1.2. Phase cellulaire (amplification).....	3
2.1.3. Phase de résolution (réparation).....	4
2.2. Inflammation chronique.....	4
3. Cellules immunitaires présentes dans l'inflammation.....	5
4. Médiateurs de l'inflammation.....	6
5. Médicaments Anti-inflammatoire.....	7
a. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	7
b. Anti-inflammatoire stéroïdiens.....	7
Chapitre 2 : <i>Syzygium Aromaticum L.</i>	
1. Plante d'étude : <i>Syzygium aromaticum L.</i>	9
2. Compositions chimiques.....	9
3. Activités biologiques.....	10
III. Matériel et méthode.	
3.1. Matériel.....	11
3.1.1. Animaux d'études.....	11
3.1.2. Solutions de travail.....	11
3.2. Méthode.....	11
3.2.1. Préparation du l'extrait d'étude.....	11
3.2.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait des clous de girofle.....	12
a. Etude de l'effet de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i> sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène.....	12
b. Test de l'activité analgésique.....	13
c. Effet de l'extrait d'étude sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane.....	13

3.3. Etude statistique.....	15
VI. Résultats et discussions.....	16
4.1. Résultats.....	16
4.1.1. Effet de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i> sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène.....	16
4.1.2. Effet de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i> sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane.....	17
4.1.3. Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i>	18
4.2. Discussion.....	20
4.2.1. Effet de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i> sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène.....	20
4.2.2. Effet de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i> sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane.....	20
4.2.3. Effet analgésique de l'extrait <i>Syzygium aromaticum L.</i>	21
V. Conclusion.....	22
Références.....	23

Résumé

Les clous de girofle (*Syzygium aromaticum L.*) sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle grâce à leurs propriétés thérapeutiques reconnues. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets anti-inflammatoires et analgésiques *in vivo* de l'extrait des clous de girofle, afin de confirmer son usage traditionnel par voie orale. Pour ce faire, deux modèles d'inflammation aiguë ont été employés. Le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène a montré que l'extrait de clous de girofle induisait une réduction très significative ($p < 0.01$) de l'œdème, comparable à l'effet de l'aspirine qui est un anti-inflammatoire de référence. De plus, dans le modèle de péritonite induite par l'injection intrapéritonéale de λ -carrageenane, l'administration orale de l'extrait de clous de girofle a entraîné une diminution de près de 75,36% du recrutement des neutrophiles dans la cavité péritonéale, un résultat proche à celui obtenu avec l'aspirine 83,32%. Par ailleurs, le test d'immersion de la queue des rats a révélé un effet analgésique très significatif ($p < 0,01$) de l'extrait de clous de girofle surtout après 60 min avec une inhibition de 93,17 %, supérieur à celui de l'aspirine. Ces résultats confirment les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques des clous de girofle (*Syzygium aromaticum L.*) et justifient ainsi son utilisation traditionnelle. Ils suggèrent également le potentiel thérapeutique de cette plante médicinale dans la gestion des processus inflammatoires et douloureux.

Mots clés : *Syzygium aromaticum L.*, Clous de girofle, Anti-inflammatoires, Analgésique, Inflammation, Utilisation traditionnelle.

Summary

Cloves (*Syzygium aromaticum L.*) are widely used in traditional medicine thanks to their recognized therapeutic properties. The objective of this study was to evaluate the *in vivo* anti-inflammatory and analgesic effects of the clove extract, in order to confirm its traditional oral use. To do this, two models of acute inflammation were used. The xylene-induced ear edema test showed that clove extract induced a very significant reduction ($p < 0.01$) in edema, comparable to the effect of aspirin, which is a reference anti-inflammatory. In addition, in the peritonitis model induced by intraperitoneal injection of λ -carrageenane, oral administration of clove extract resulted in a decrease of nearly 75.36% of neutrophil recruitment in the peritoneal cavity, a result close to that obtained with aspirin 83.32%. In addition, the immersion test of the tail of rats revealed a very significant analgesic effect ($p < 0.01$) of clove extract especially after 60 min with an inhibition of 93.17%, superior to that of aspirin. These results confirm the anti-inflammatory and analgesic properties of cloves (*Syzygium aromaticum L.*) and thus justify its traditional use. They also suggest the therapeutic potential of this medicinal plant in the management of inflammatory and painful processes.

Keywords : *Syzygium aromaticum L.*, Cloves, Anti-inflammatories, Analgesic, Inflammation, Traditional use.

ملخص

يستخدم القرنفل (*Syzygium aromaticum L.*) على نطاق واسع في الطب التقليدي بفضل خصائصها العلاجية المعترف بها. كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثيرات المضادة للالتهابات والمسكنة في الجسم الحي لمستخلص القرنفل، من أجل تأكيد استخدامه التقليدي عن طريق الفم. للقيام بذلك، تم استخدام نموذجين للالتهاب الحاد. أظهر اختبار ذمة الأذن الناجم عن الزيلين أن مستخلص القرنفل تسبب في انخفاض كبير جداً ($p < 0.01$) في الوذمة، مقارنة بتأثير الأسبرين، وهو مرجع مضاد للالتهابات. بالإضافة إلى ذلك، في نموذج التهاب الصفاق الناجم عن حقن- λ كاراجينان داخل الصفاق، أدى الإعطاء الفموي لمستخلص القرنفل إلى انخفاض بنسبة 75,36% تقريباً من تجنيد عدد الكريات البيضاء في تجويف الصفاق، وهي نتيجة قريبة من تلك التي تم الحصول عليها مع الأسبرين 83,32%. بالإضافة إلى ذلك، كشف اختبار غمر ذيل الفئران عن تأثير مسكن كبير جداً ($p < 0.01$) لمستخلص القرنفل خاصة بعد 60 دقيقة بتنشيط قدره 93.17%، أعلى من تأثير الأسبرين تؤكد هذه النتائج الخصائص المضادة للالتهابات والمسكنة للقرنفل (*Syzygium aromaticum L.*) وبالتالي تبرر استخدامها التقليدي. كما يقترحون الإمكانيات العلاجية لهذا النبات الطبي في إدارة العمليات الالتهابية والمؤلمة.

الكلمات المفتاحية : *Syzygium aromaticum L.* ، القرنفل، مضادات الالتهاب، مسكن، التهاب، استخدام تقليدي.

I. Introduction :

I. Introduction

L'inflammation est la somme des défenses ou des réponses immunitaires défensives que l'organisme met en œuvre pour faire face à l'infection par divers corps étrangers et microbes. Il s'agit d'un processus vital important qui stimule les cellules du système immunitaire à atteindre le site de l'infection et à activer les suppléments immunitaires. Cela provoque l'apparition des signes tels que rougeur, chaleur, douleur et gonflement. Elle se divise en deux types : aiguë, ce qui signifie que les stimuli nocifs sont éliminés. Cependant, si l'infection persiste, elle se transforme en inflammation chronique base pathologiques de différentes maladies inflammatoires.

Les maladies inflammatoires sont traitées avec différentes molécules thérapeutiques comprenant des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens qui traitent les symptômes de la pathologie inflammatoire. Cependant, en raison des effets secondaires néfastes que ces molécules provoquent et de leur effet limité, la recherche actuelle s'est orientée vers la découverte de molécules alternatives moins dangereuses et plus efficaces, notamment celles d'origine naturelle comme les plantes médicinales riches en composés phénoliques qui ont un effet anti-inflammatoire puissant et très important.

Les clous de girofle sont issus d'une plante aromatique aux usages multiples, notamment dans le domaine médical. Il s'agit d'un remède traditionnel pour soulager les maux de dents et les douleurs. En effet, ils sont riches en différents composés actifs, tels que l'eugénol qui leur confère leurs propriétés antimicrobiennes, antiseptiques, anti-inflammatoires et antioxydants, analgésiques et anesthésiques locales. Ces propriétés font des clous de girofle une ressource intéressante en phytothérapie et en médecine traditionnelle, avec de nombreuses applications potentielles dans le traitement de diverses affections.

Nous avons mené une étude pour évaluer leurs propriétés anti-inflammatoire en appliquant divers modèles *in vivo*, à savoir l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène et la péritonite induite par la λ -carraghennane ainsi que le test d'immersion de la queue du rat pour déterminer le pouvoir analgésique de l'extrait hydrométhanolique des clous de girofle.

Chapitre 1 :

Inflammation

1. Réponse inflammatoire

L'inflammation est une composante essentielle de l'immunité innée, se déroule au niveau des tissus vivants et vascularisés. Considérée comme une réaction de défense de l'organisme contre les agressions pathogènes ou les différents traumatismes (Weill et Batteux, 2004).

Sur le plan clinique, l'inflammation se caractérise par des signes comme la rougeur, la chaleur, la douleur et le gonflement, la perte de fonction, les quatre premiers de ces signes ont été nommés par Celse dans la Rome antique (30-38 av. J.-C.) et le dernier par Galien (130-200 après J.-C) (Punchard et al., 2004).

2. Types de l'inflammation

L'inflammation fait partie du mécanisme de défense de l'organisme et peut être classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoire : Inflammation aiguë et inflammation chronique (Chenal et Trumel, 2022).

2.1. Inflammation aiguë

Les lésions tissulaires dues à un traumatisme, à une invasion microbienne ou à des composés nocifs peuvent entraîner une inflammation aiguë. Elle commence rapidement, s'aggrave en peu de temps et les symptômes peuvent durer quelques jours, par exemple une cellulite (infection bactérienne aiguë de la peau) ou une pneumonie aiguë (infection aiguë des poumons) (Pahwa et al., 2003). Elle se déroule en 3 phases successives étroitement intriqués dans le temps.

2.1.1. Phase vasculaire (initiation)

Elle se caractérise par des modifications importantes de la microcirculation locale (Genet, 1997), par dilation et augmentation de l'espace intercellulaire (Raymondjean, 2007) (figure 1). Elle comporte trois phénomènes :

- Une congestion active : déclenchée par un mécanisme nerveux et l'action de médiateurs chimiques (figure 01) (Rousselet et al., 2005).
- Un œdème inflammatoire (l'exsudat) : résulte d'une augmentation de la pression hydro statique et de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques (figure 01) (Rousselet et al., 2005).
- Une diapédèse leucocytaire : par migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel (figure 01) (Rousselet et al., 2005).

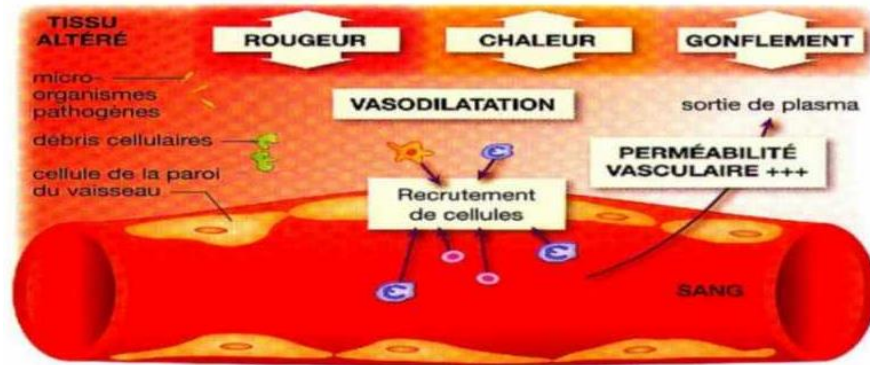


Figure 1 : Modifications vasculaires (Kumar et al., 2013)

2.1.2. Phase cellulaire (amplification)

La phase cellulaire est caractérisée par un afflux extravasculaire interstitiel de leucocytes : les polynucléaires neutrophiles dans un premier temps puis les monocytes. L'accumulation des neutrophiles atteint un maximum à la 4^{ème} heure et décline rapidement, alors que le nombre de monocytes augmente après la 4^{ème} heure et atteint son maximum entre 18 et 24 heures (Russo-Marie, 1998). Les polynucléaires circulants sont attirés vers le foyer inflammatoire par des facteurs chimiotactiques. Les polynucléaires neutrophiles circulants se marginalisent et adhèrent aux cellules endothéliales (figure 2). Cette adhérence résulte de l'interaction entre les sélectines de la surface des cellules endothéliales et certains polysaccharides de la surface des polynucléaires. Cette adhérence est faible, laissant les polynucléaires rouler à la surface de l'endothélium. L'adhérence devient ensuite forte et étroite, résultat de la réaction entre les récepteurs des cellules endothéliales VCAM-1, ELAM-1, ICAM-1 et les intégrines présentes à la surface des polynucléaires (Russo-Marie, 1998).

La deuxième vague cellulaire est constituée de monocytes qui gagnent le foyer inflammatoire attirés par les facteurs chimiotactiques sécrétés par les neutrophiles où ils se transforment en macrophages. Ces dernières assurent le nettoyage du foyer inflammatoire en cas d'inflammation aiguë et participent à la poursuite du processus inflammatoire en cas d'inflammation chronique par la production de nombreux médiateurs inflammatoires (Iwelawa et al., 2007).

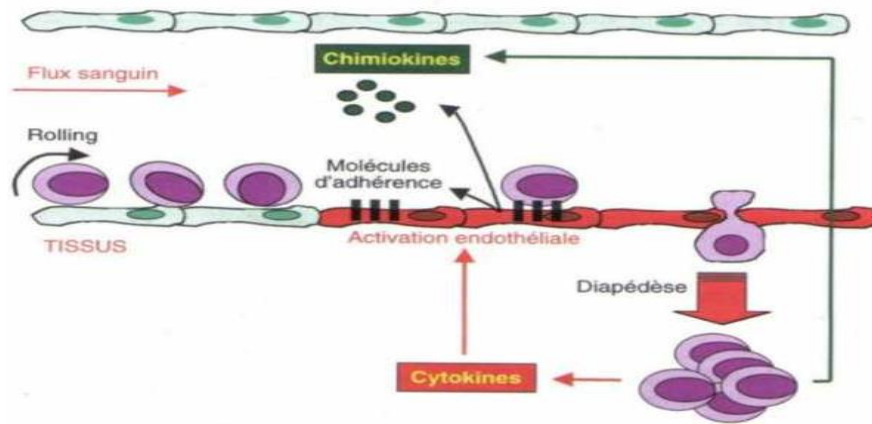


Figure 2 : Migration trans-endothéliale des leucocytes (Weill et batteux, 2003)

2.1.3. Phase de résolution (réparation)

Le rôle principal d'une réaction inflammatoire est d'éliminer l'infection ou de réparer les lésions causées et retourner de ce fait au stade d'homéostasie (Barton, 2008). La phase de résolution, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles, 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 tissulaires, 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) (Weill et Batteux, 2003).

2.2. Inflammation chronique

Elle se caractérise par une inflammation lente et prolongée qui dure de longues périodes allant de plusieurs mois à plusieurs années. L'étendue et les effets de l'inflammation chronique varient en fonction de la cause de la blessure et de la capacité du corps à réparer et à surmonter les dommages (Pahwa et al., 2003) (Figure 3).

Entre ces deux types d'inflammation il existe une période qui peut durer de deux à six semaines connus sous le nom de l'inflammation subaiguë (Pahwa et al., 2003).

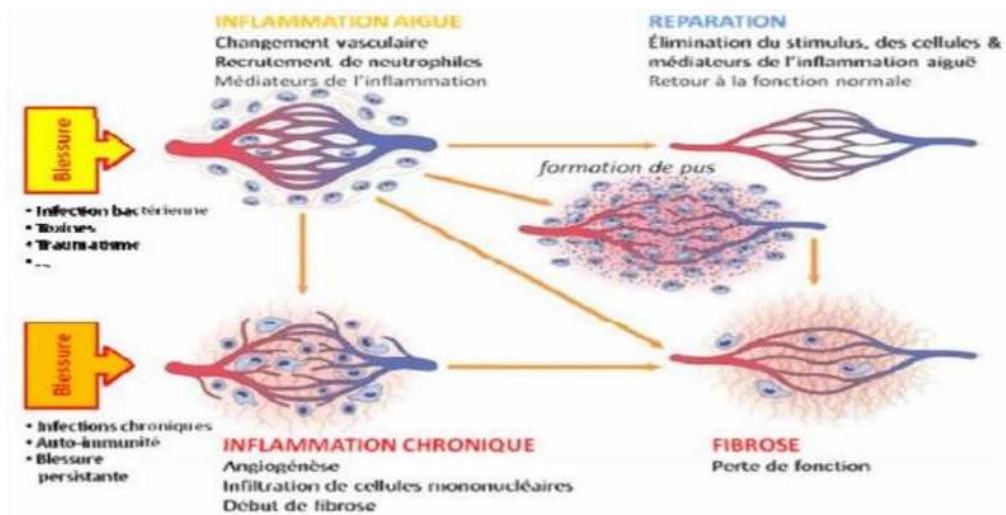


Figure 3 : Schéma récapitulatif de l'inflammation chronique (Sharma et al., 2016)

3. Cellules immunitaires présentes dans la réaction inflammatoire

La réponse inflammatoire implique un réseau hautement coordonné de nombreux types de cellules. Les macrophages activés, les monocytes et d'autres cellules médiatisent les réponses locales aux lésions tissulaires et aux infections. Au niveau des lésions tissulaires, les cellules épithéliales et endothéliales endommagées libèrent des facteurs qui déclenchent la cascade inflammatoire, ainsi que des chimiokines et des facteurs de croissance, qui attirent les neutrophiles et les monocytes. Les premières cellules attirées vers un site de lésion sont les neutrophiles, suivis des monocytes, des lymphocytes (cellules tueuses naturelles [NK], lymphocytes T et lymphocytes B) et des mastocytes (Chen et al., 2018).

Les monocytes peuvent se différencier en macrophages et en cellules dendritiques et sont recrutés par chimiotactisme dans les tissus endommagés. Les altérations des cellules immunitaires médiées par l'inflammation sont associées à de nombreuses maladies, notamment l'asthme, le cancer, les maladies inflammatoires chroniques, l'athérosclérose, le diabète, les maladies auto-immunes et dégénératives (Chen et al., 2018).

Les neutrophiles, qui ciblent les micro-organismes dans le corps, peuvent également endommager les cellules et les tissus de l'hôte (Nathan, 2006). Les neutrophiles sont des médiateurs clés de la réponse inflammatoire et programment les cellules présentatrices de l'antigène pour activer les lymphocytes T et libérer des facteurs locaux pour attirer les monocytes et les cellules dendritiques (Jabbour et al., 2009).

Les macrophages sont des composants importants du système des phagocytes mononucléaires et sont essentiels pour l'initiation, le maintien et la résolution de l'inflammation (Fujiwara et al., 2005). Pendant l'inflammation, les macrophages présentent des antigènes, effectuent la phagocytose et

modulent la réponse immunitaire en produisant des cytokines et des facteurs de croissance. Les mastocytes, qui résident dans les matrices de tissu conjonctif et sur les surfaces épithéliales, sont des cellules effectrices qui initient les réponses inflammatoires. Les mastocytes activés libèrent une variété de médiateurs inflammatoires (Huang et al., 1998).

4. Les 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 1 résume l'origine et les effets les plus importants des médiateurs de l'inflammation.

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquette.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Facteur activateur des plaquettes(PAF)	Plaquette, neutrophile, monocytes et cellules endothéliales.	Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la broncho construction, l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des EOR et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les Leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocyte.	Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des

		enzymes lysosomiales et la production des EOR. Intervient dans la préparation tissulaire.
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophiles, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse

5. Médicaments Anti-inflammatoire

Les anti-inflammatoires sont des médicaments symptomatiques, qui n'agissent pas sur la cause de l'inflammation. Ils sont indiqués quand l'inflammation devient gênante, notamment à cause de la douleur qu'elle provoque (Thomas, 2017). Il existe deux catégories de médicaments anti-inflammatoires les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).

a. Anti-inflammatoire non stéroïdien AINS

Les AINS sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale ou de l'automédication, connus pour leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques (Blain et al., 2000).

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, et repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclo-oxygénase (COX), une enzyme qui permet la production de prostaglandines, à partir de l'acide arachidonique. La production de prostaglandines participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire), à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) mais contribue également, en dehors de toutes situations pathologiques, à la production basale au niveau de la muqueuse gastrique, de mucus et de bicarbonates intervenant dans le maintien de l'hémodynamique rénale et l'homéostasie tissulaire (Nicolas et al., 2001).

b. Anti-inflammatoire stéroïdien ANS

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales. Ils sont de puissants anti-inflammatoires doués également de propriétés immuno-modulatrices et antiallergiques (Heymonet, 2013).

Les ANS agissent en se liant à des récepteurs spécifiques et en induisant la synthèse protéique, comme la licoportine qui inhibe la phospholipase A2 (Dejean et Richard, 2013).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens inhibent également l'expression de nombreuses protéines pro-inflammatoires telles que les cytokines et les chimiokines, les molécules d'adhésion, le COX-2 et le NO-synthase (Devillier, 2005). Ils inhibent la maturation des monocytes en macrophages et la migration des polynucléaires éosinophiles (Dussauze et al., 2007).

Chapitre 2 :

Syzygium aromaticum L.

1. Plante d'étude : *Syzygium aromaticum* L.

Notre étude a porté sur les fruits du giroflier (*Syzygium aromaticum* L.) qui est un grand arbre originaire des petites îles des Moluques, élancé, d'une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres, qui peut atteindre jusqu'à 20 mètres de haut, à port pyramidal, et au tronc gris clair ridé (figure 4, A). Ses feuilles, de 8 à 10 cm de long, sont coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, ovales, au limbe lancéolé, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement. Le fruit appelé « Antholfe », est une drupe ellipsoïde brun violacé, contenant une seule graine d'environ 1,5 cm de long. Les boutons floraux très caractéristiques sont en forme de clou, brun rouge. L'odeur est aromatique caractéristique, la saveur est brûlante. Le clou comporte une partie quadrangulaire, l'hypanthe, longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2-3 mm (correspondant à l'ovaire infère) et une « tête » renflée, globuleuse (4-6 mm de diamètre), entouré par les 4 lobes divergents des sépales et constitués des 4 pétales imbriqués qui renferment de nombreuses étamines recourbées (figure 4, B) (Paul et Kamel, 2012).



Figure 4 : Giroflier: **A.** Allure du giroflier, **B.** Boutons floraux et fleurs de giroflier (Sophie, 2015)

2. Compositions chimiques

Les clous de girofle représentent l'une des principales sources végétales de composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides hydroxibenzoïques, les acides hydroxicinamiques et les hydroxiphényl propènes (Cortés-Rojas, 2014). L'eugénol est le principal composé bioactif du clou de girofle, que l'on trouve à des concentrations allant de 9 381,70 à 14 650,00 mg pour 100 g de matière végétale fraîche (Neveu et al., 2010). En ce qui concerne les acides phénoliques, l'acide gallique est le composé présent en concentration la plus élevée (783,50

mg/100 g de poids frais). Cependant, d'autres dérivés de l'acide gallique, tels que les tanins hydrolysables, sont présents à des concentrations plus élevées (2 375,8 mg/100 g) (Shan et al., 2005). Les autres acides phénoliques présents dans le clou de girofle sont les acides caféique, férulique, élagique et salicylique. Les flavonoïdes comme le kaempférol, la quercétine et ses dérivés (glycosilés) se trouvent également dans les clous de girofle en concentrations plus faibles (Cortés-Rojas, 2014). Des concentrations allant jusqu'à 18 % d'huile essentielle peuvent être trouvées dans les boutons floraux du clou de girofle. En gros, 89 % de l'huile essentielle de clou de girofle est de l'eugénol et 5 à 15 % sont de l'acétate d'eugénol et du β -cariofileno (Jirovetz et al., 2006). Un autre composé important présent dans l'huile essentielle de clou de girofle à des concentrations allant jusqu'à 2,1 % est l' α -humulène. D'autres composés volatils présents en concentrations plus faibles dans l'huile essentielle des clous de girofle sont le β -pinène, le limonène, le farnésol, le benzaldéhyde, la 2-heptanone et l'hexanoate d'éthyle (Cortés-Rojas, 2014).

3. Activités biologiques

Plusieurs travaux scientifiques ont rapporté des activités biologiques très importantes des extraits des clous de girofle et de l'eugénol. En effet, il a été montré que l'eugénol inhibe et réduit très efficacement les inflammations expérimentales induites par la carrageenane ainsi que la douleur tels qu'il a été montré par des test nociceptifs (Daniel et al., 2009). De plus, Des études *in vitro* ont attribué aux polyphénols extraits des clous de girofles de puissants effets anti-oxydants (Shan et al., 2005).

Par ailleurs, les activité anti-bactériennes ont été attribué aux extraits des clous de girofles, notamment inhibitrice de la croissance de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* (Sofia et al., 2007). Outre l'effet antibactérien, les extraits des clous de girofles ont également exhibé des effets antifongiques (Rana et al., 2011) et anti-virales (Kurokawa et al., 1998) très importants.

Des travaux ont même mis en évidence l'effet anti-prolifératif et anti-métastatique de l'eugénol. En effet, il a été montré que l'eugénol provoque la suppression de la croissance du mélanome par l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de E2F1 (Ghosh et al., 2005).

III. Matériel et méthode.

III. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Animaux d'études

Les différents tests appliqués dans cette étude sont réalisés sur des rats Albinos Wistar mâles, pesant entre 200 et 250 g, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont utilisés après une période d'adaptation de 15 j, placés dans des cages avec accès libre à l'eau et à l'alimentaire.

3.1.2. Solutions de travail

Les solutions de travail utilisées dans cette étude sont préparées comme suit :

- Solution de xylène pure.
- Solution de lavage péritonéal : Na Cl 0.9% stérile.
- Solution turc, 1mL de violet de gentiane avec 1mL d'acide acétique, le volume est complété à 100mL avec de l'eau distillée.
- La λ -carrageenane (1%) préparé avec Na Cl 0.9% stérile.

3.2. Méthode

3.2.1. Préparation de l'extrait d'étude

L'extrait des clous de girofle a été préparé en faisant macérer 100 g de poudre dans 500 ml de solution hydrométhanolique composée de 70% de méthanol et 30% d'eau distillée à température ambiante pendant 72 h, avec une agitation occasionnelle (figure 5, A). Après avoir été filtré à travers un papier filtre Wattman, le filtrat obtenu a ensuite été soumis à une évaporation sous vide à l'aide de l'évaporateur rotatif à 60°C/190 tpm (figure 5, B), l'extrait obtenu est placé dans des boîtes de Pétri et mis à sécher dans les étuves à 40°C jusqu'à obtention d'un résidu solide.



Figure 5 : Préparation de l'extrait : **A.** Macération **B.** Evaporateur rotatif (photos originales,2024)

3.2.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait des clous de girofle

L'extrait des clous de girofles obtenu a été testé pour son effet anti-inflammatoire et ce, en utilisant trois modèles d'inflammation expérimentales à savoir l'œdème de l'oreille induit par le xylène, la péritonite induite par la λ -carrageenane et le test de l'activité analgésique.

a. Etude de l'effet de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène

Pour évaluer l'activité anti inflammatoire des clous de girofle, nous avons appliqué le test de l'œdème de l'oreille qui est induit par application topique du xylène publié par Al Amir et ses collaborateurs (2012) tout en intégrant certaines modifications, ce test est considéré comme une teste expérimental pour l'inflammation aigue. Pour cela l'extrait a été administré au groupe test des rats par voie orale (200mg/kg) une heure avant l'application de 60 μ L de xylène sur les surfaces extérieur et intérieur de l'oreille gauche de chaque rat, l'épaisseur des deux oreilles est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digitale avant l'application du xylène (t0) et chaque heure après l'indication du xylène pendant 3h (t1, t2, et t3).

Dans cette étude, 3 groupes de 6 rats ont été formés comme suit :

- Groupe contrôle (+) : Rats ont reçu 60 μ l de xylène et ne sont traités par aucune substance.
- Groupe test : Rats ont reçu 200mg/kg de l'extrait des clous de girofle par voie orale, une heure avant l'application de xylène.
- Groupe référence : Rats ont reçu de 200mg/kg d'aspirine (anti-inflammatoire de référence) par voie orale, une heure avant l'application du xylène.



Figure 6 : Test de l'œdème de l'oreille : **A.** Gavage du rat, **B.** Mesure de l'épaisseur de l'oreille. (Photos originales, 2024)

b. Test de l'activité analgésique

Le test d'immersion de la queue des rats permet d'évaluer la capacité de l'extrait des clous de girofle à induire une analgésie, c'est-à-dire à diminuer la perception de la douleur chez les rats, selon le protocole décrit par Arselan et ses collaborateurs (2015). Ce test consiste à immerger environ 2 cm du bout de la queue du rat dans de l'eau maintenue à 55°C, et à mesurer le temps où le rat réagit en retirant la queue chaque 30 min pour 2h, 1h après l'administration orale par les substances.

Trois groupes de six rats sont formés comme indiqué ci-dessous :

- Groupe témoins : Le temps de réagir est mesuré avec des rats n'ayant subi aucun traitement.
- Groupe test : Administration orale de 200mg/kg de la solution des clous du girofle une heure avant l'immersion.
- Groupe référence : Administration orale de l'aspirine (200mg/kg) une heure avant l'immersion.



Figure 7 : Protocol du test analgésique (Photo originale, 2024).

c. Effet de l'extrait d'étude sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane

Le pouvoir anti-inflammatoire du clou de girofle étudié est également évalué par le test de la péritonite induite par la λ -carrageenane chez les rats selon la méthode décrite par Prekar et ses collaborateurs (2015) à laquelle certaines modifications ont été introduites. La péritonite est induite par injection de 0.2ml de solution de λ -carrageenane (1%) dans la cavité péritonéale des rats qui ont reçu ou non un traitement adéquat. Des groupes de 6 rats sont formés comme indiqué :

- Groupe contrôle négatif : Les rats reçoivent l'injection intra-péritonéale de NaCl 0.9% stérile et aucun autre traitement.

- Groupe contrôle positif : Les rats reçoivent l'injection de λ -carrageenane et aucun autre traitement.
- Groupe test : Administration par voie orale (200mg/kg) de la solution des clous de girofle une heure avant l'induction de la péritonite.
 - Groupe référence : Administration de 1ml de l'Acide salicilique (200mg/kg) par voie orale 1 heure avant l'induction de la péritonite.

Quatre heures après l'injection de la λ -carrageenane, les rats sont sacrifiés par asphyxie au chloroforme, suivi immédiatement par l'ouverture de la cavité péritonéale qui sera lavée par 2 ml de l'eau physiologique. La solution de lavage péritonéal est récupérée par aspiration à l'aide d'une micropipette l'exsudat qui s'y est formé et soumis à un comptage sur une lame de Malassez après coloration à la solution Türk avec un microscope de l'objectif x10, pour déterminer le nombre de neutrophiles présents.

Le nombre des cellules est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Nbr} = \text{N} * \text{F} * 1000 * \text{V}$$

Nbr : nombre total des cellules.

N : nombre de cellules par champs de lecture.

V : volume du liquide aspiré depuis la cavité péritonéale.

F : Facteur de dilution.

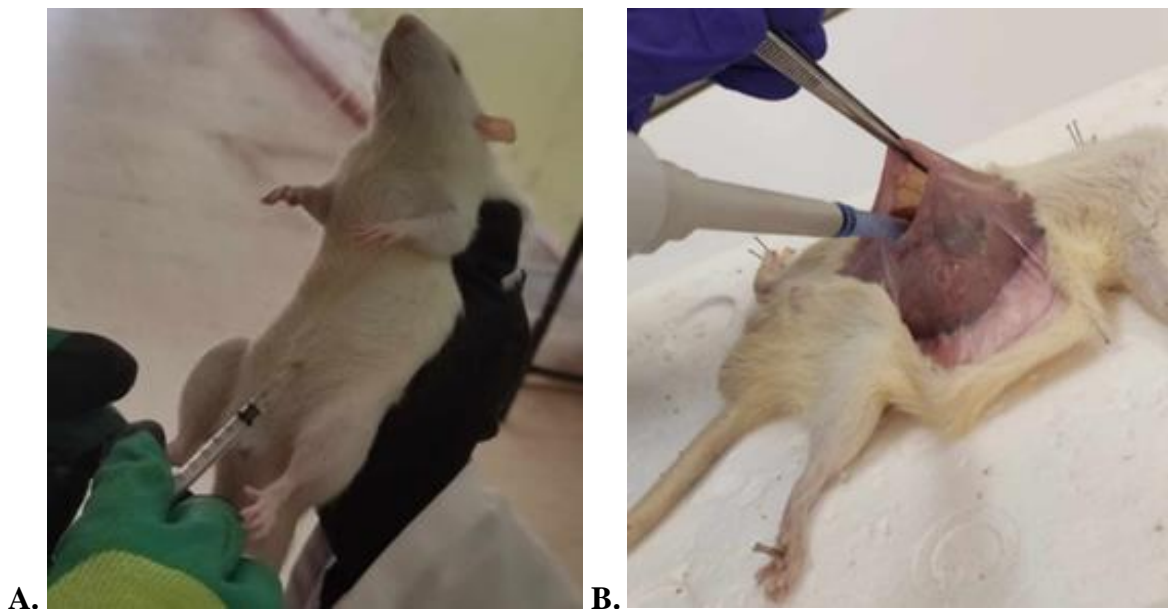


Figure 8 : Processus du test de la péritonite : **A.** injection de la λ -carrageenane, **B.** récupération de l'eau physiologique (photos originales, 2024)

3.3. Etude statistique

Les résultats *in vivo* sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues \pm l'écart moyen (SEM) [M \pm SEM] n=6. Le test T de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets des différentes substances testées *in vivo* et les différences sont considérées significatives pour $p < 0,05(*)$, $p < 0,01(**)$.

IV. Résultats et discussions.

IV. Résultats et discussions

4.1. Résultats

Notre étude visait à évaluer les effets anti-inflammatoires et antalgiques de l'extrait des clous de girofle, afin de valider son utilisation traditionnelle par voie orale. On teste cet extrait sur deux modèles d'inflammation aiguë chez le rat à savoir la péritonite induite par injection de la λ -carrageenane et l'œdème de l'oreille induit par le xylène ainsi que sur un modèle d'évaluation de la douleur en appliquant le test de l'immersion de la queue.

4.1.1. Effet de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène

Le modèle d'œdème de l'oreille induit par le xylène chez le rat, une méthode reconnue pour quantifier l'inflammation cutané de manière objective par la mesure de l'œdème de l'oreille à l'aide d'un pied à coulisse digital pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait testé. L'application du xylène sur l'oreille induit une accumulation de liquide conduisant à la formation d'un œdème qui est caractéristique de l'inflammation aiguë (Okoli et al., 2007).

Les résultats obtenus montrent des différences significatives entre les groupes de traitement. Pour le groupe contrôle ayant reçu une application topique de xylène, on observe une augmentation de l'épaisseur de l'oreille gauche durant la première heure, atteignant $0,65 \text{ mm} \pm 0,08$, même dans la deuxième heure $0,68 \text{ mm} \pm 0,06 \text{ cm}$, puis une diminution progressive jusqu'à $0,63 \text{ mm} \pm 0,08$ à la troisième heure (figure 9).

En revanche, chez les rats traités oralement par l'extrait, l'épaisseur de l'oreille gauche a connu une augmentation plus importante durant la première heure, atteignant $0,77 \text{ mm} \pm 0,06$, elle a diminué progressivement, passant à $0,53 \text{ mm} \pm 0,04$ à la deuxième heure, pour atteindre $0,43 \text{ mm} \pm 0,04$ à la troisième heure (figure 9), cette réduction de l'épaisseur dans les deux dernières heures était statistiquement très significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe contrôle.

Chez les rats traités à l'aspirine, on observe une réduction significativement plus importante ($p < 0,01$) de l'œdème de l'oreille par rapport au groupe de contrôle. Après une heure, l'épaisseur n'était que de $0,47 \text{ mm} \pm 0,04$, et elle a continué de diminuer pour atteindre $0,37 \text{ mm} \pm 0,04$ à la troisième heure (figure 9).

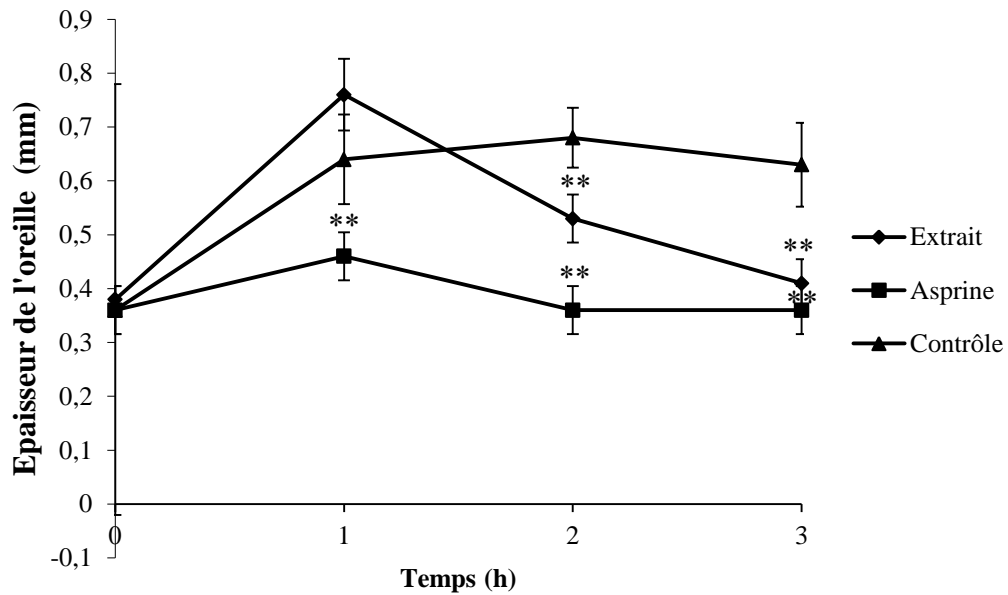


Figure 9 : Evaluation de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène traité par l'administration orale de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* et l'aspirine et non traité en fonction du temps, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour $n=6$, $p < 0,05(*)$, $p < 0,01(**)$ par rapport au contrôle positif.

4.1.2. Effet de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane

Dans cette étude, nous avons évalué les effets de l'extrait de *Syzygium aromaticum L.* et de l'aspirine sur un modèle de péritonite induite par le λ -carrageenane chez le rat.

Dans le groupe témoin ayant reçu une injection de Na Cl 0,9%, le nombre de neutrophiles récupérés dans la cavité péritonéale était faible, ne dépassant pas $4,16 \times 10^6$ neutrophiles $\pm 1,17$ (figure 10).

En revanche, le groupe contrôle positif ayant reçu une injection de 2 ml de λ -carrageenane présentait une cavité péritonéale riche en neutrophiles, avec $79,16 \times 10^6$ neutrophiles $\pm 19,44$ (figure 10).

L'administration de l'extrait de clous de girofle aux rats du groupe test a induit une réduction très significative ($p < 0,01$) du développement de la péritonite, avec $19,5 \times 10^6$ neutrophiles $\pm 4,5$ (figure 10), soit une inhibition de l'inflammation de 75,36%.

De manière encore plus marquée, l'administration d'aspirine a engendré une très importante réduction ($p < 0,01$) du développement de la péritonite chez les rats, avec seulement $13,2 \times 10^6$ neutrophiles $\pm 1,84$ (figure 11), correspondant à une inhibition de l'inflammation de 83,32%.

Ces résultats démontrent que l'extrait de clous de girofle présente des propriétés anti-inflammatoires significatives comparables à celle de l'aspirine dans ce modèle expérimental de péritonite induite par le λ -carrageenane chez le rat.

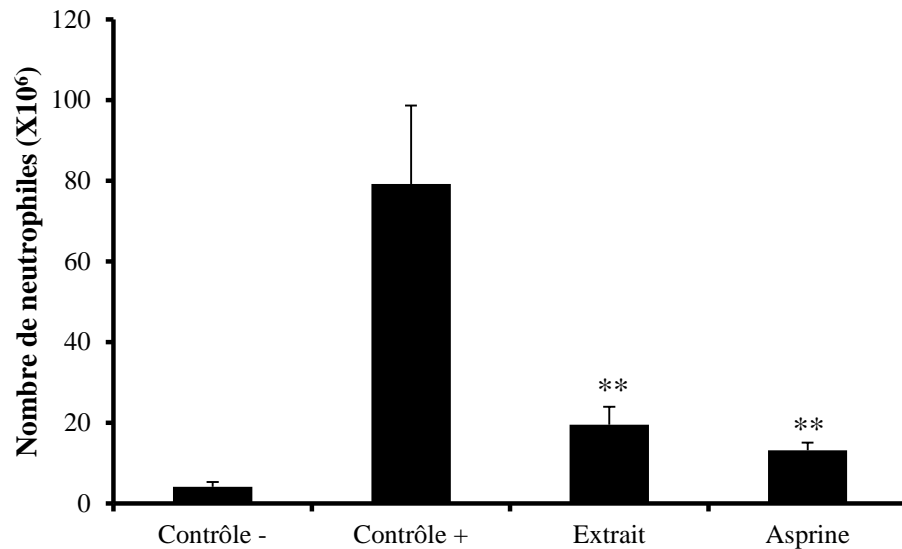


Figure 10 : Evaluation de nombre de neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale des rats après l'injection de 0.2ml de λ -carrageenane 1% en fonction de différents tests (Contrôle positif : l'injection de λ -carrageenane avec aucun traitement, contrôle négatif : Les rats reçoivent l'injection intra-péritonéale de NaCl 0.9% stérile seulement, administration orale de l'extrait (200mg/kg) et administration orale de l'aspirine (200mg/kg)). L'histogramme représente la moyenne \pm SEM pour n=6, $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) par rapport au contrôle positif.

4.1.3. Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait *Syzygium aromaticum L.*

Dans cette partie de notre étude, nous avons évalué l'effet analgésique de l'extrait de *Syzygium aromaticum L.* Pour ce faire, le temps de réaction des rats lorsque leur queue était immergée dans de l'eau à 55°C est mesuré, générant ainsi une réaction de retrait rapide. Chez les rats témoins non traités, ce temps de réaction était court, aux alentours de 3 secondes \pm 0,5 pour la première immersion, diminuant jusqu'à 2 secondes \pm 0 après 60 minutes, puis remontant à 3 secondes \pm 1,5 en fin d'expérience (figure11), Cela peut être dû au fait que les rats s'habituent à la température.

Chez les rats ayant reçu un traitement à l'extrait de clous de girofle, une augmentation très significative ($p < 0,01$) du temps de réaction par rapport au groupe contrôle observé dans le premier temps, atteignant 4,17 secondes \pm 0,56 donne une inhibition de presque 39 %, puis, 3,99 secondes \pm 0,68 après 30 min qui marque une bonne inhibition de 77,11 %, à la 60^{ème} minute 3,86 secondes \pm 0,81 qui traduit à un effet d'inhibition maximal de 93.17%, cet effet analgésique significatif ($p < 0,05$) était encore présent à 90 minutes de 4,22 secondes \pm 0,77 avec un pourcentage de 40,67% (figure11).

De manière encore plus marquée, l'administration d'aspirine a entraîné une résistance significative ($p < 0,05$) dans la première réaction par rapport au groupe contrôle allant jusqu'à 3,91 secondes \pm 0,6, puis une augmentation très significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe contrôle allant jusqu'à 5,03 secondes \pm 0,7 après 30 minutes et 4,2 secondes \pm 0,45 après 60 minutes

(figure11). Cependant, un fléchissement de l'effet analgésique a été noté au-delà de 60 minutes avec l'aspirine.

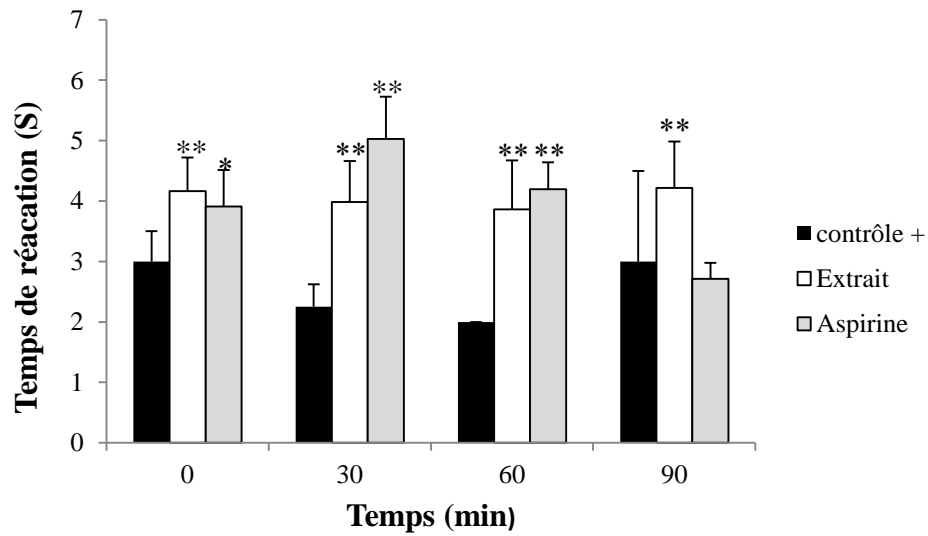


Figure 11 : Evaluation du temps de réaction des rats lorsque leur queue était immergée dans de l'eau chaude et ne subit aucun traitement (contrôle), après l'administration orale de l'extrait (test) et administration orale de l'aspirine. Les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour $n=6$, $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) par rapport au contrôle positif.

4.2. Discussion

La présente étude a été consacrée à l'évaluation des activités anti-inflammatoires et analgésique de l'extrait du clou de girofle utilisée en médecine traditionnelle. Pour ce faire, nous avons eu recours à des modèles d'inflammation expérimentales *in vivo* (test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène, la péritonite induite par la carrageenane et le test d'immersion de la queue de rat) les résultats obtenus révélé que cet extrait est possédé des effets anti-inflammatoire et analgésique très important.

4.2.1. Effet de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* sur l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène

L'application locale du xylène induit une réaction inflammatoire aigüe caractérisée par des signes classiques comme la rougeur, la chaleur, la douleur et le gonflement, cette méthode est permet d'évaluer le processus inflammatoire. Des études montrent que dans le processus d'inflammation, la phospholipase A2 (PLA2) catalyse le clivage des acides gras liés à l'ester sn-2 des phospholipides, étant l'enzyme responsable de la libération d'acide arachidonique (AA) par les cellules pour la biosynthèse des prostaglandines. La mobilisation des AA par la PLA2 et la synthèse ultérieure des prostaglandines sont considérées comme un événement crucial dans l'inflammation (Barbosa et al., 2004). L'administration de l'extrait du clou de girofle par voie orale présente une activité anti-inflammatoire importante, ce qui pourrait être dû l'eugénol, huile essentielle principale des clous de girofle qui possède des propriétés anti-inflammatoires (Ulanowska et Olas, 2021), ainsi que sa richesse en d'autres composées phénoliques comme les flavonoïdes, les dérivés de l'acide gallique comme les tanins hydrosolubles qui sont présents à des concentrations plus élevées. Ces composés phénoliques sont capables de prévenir et ou atténuer les manifestations du processus inflammatoire par l'inhibition de la PLA2, la COX (cyclooxygénase) et LOX (lipooxygénase) qui entraîne la réduction de la prostaglandine (PG), et leucotriène (LT) (Yahfoufi et al., 2018). De plus il a été montré que l'acide gallique réduit l'expression des gènes pro inflammatoire (Chong-Hyeon et al., 2013).

4.2.2 Effet de l'extrait *Syzygium aromaticum L.* sur la péritonite induite chez le rat par la λ -carrageenane

Dans cette étude nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de clous de girofle par la péritonite induit par l'injection de la λ -carrageenane dans la cavité péritonéale des rats. En effet, la λ -carrageenane provoque une réponse inflammatoire aigüe et locale, cette inflammation se déroule en trois phases distinctes : une phase précoce médiée par l'histamine et la sérotonine (jusqu'à 2 h), une phase intermédiaire impliquant l'activité de la bradykinine et la phase ultérieure qui survient 3 à 5 h après l'administration de l'irritant. Cette phase ultérieure est induite par la

bradykinine protéase, avec synthèse de prostanoides par l'enzyme cyclooxygénase (COX) (Dzoyem, et al., 2017). L'analyse de nos résultats révèle que l'extrait méthanolique de *Syzygium aromaticum* L. possède une activité anti-inflammatoire qui dure pendant tout la période du test (4h). Ceci pourrait être dû la présence de l'eugénol qui exerce des effets anti-inflammatoires en diminuant l'expression et la production de cytokines pro-inflammatoires et en inhibant l'activité de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la 5-lipoxygénase (Kim et al., 2003). De plus il contient l' α -humulène et le β -caryophyllène, des études montrent que le traitement oral avec l' α -humulène et le β -caryophyllène produisait des effets anti-inflammatoires car l' α -humulène empêche la génération de TNF α . Tandis que le β -caryophyllène ne fait que diminuer la libération du TNF α , en plus, ils réduisent la production de prostaglandine E 2, l'expression inductible de l'oxyde nitrique synthase et de la cyclooxygénase (Haro-González et al., 2021), il contient également des flavonoïdes comme: La quercétine qui inhibe la production des médiateur inflammatoire (Endale et al., 2013) et Sa richesse en composés phénoliques qui agissent comme des agoniste a l'inflammation car ils réduisent la production des prostaglandine et les leucotriène par l'inhibition de la PLA2, COX et LOX (Yahfoufi et al., 2018).

Donc, la combinaison de ces différents mécanismes d'action, impliquant à la fois des molécules comme l'eugénol, l' α -humulène, le β -caryophyllène et les flavonoïdes, permet d'expliquer l'activité anti-inflammatoire globale observée avec l'extrait méthanolique de clous de girofle.

4.2.3 Effet analgésique de l'extrait *Syzygium aromaticum* L.

Dans cette étude nous avons évalué l'activité analgésique de l'extrait des clous de girofle par le test de l'immersion de la queue des rats dans l'eau chaude à 55°. L'administration orale des clous de girofle montre la présence d'un effet analgésique grâce à la présence de l'eugénol, l'effet analgésique et anesthésique de l'eugénol peuvent être modulé par son effet inhibiteur sur les canaux voltage-dépendant (Na⁺ et Ca⁺⁺) et l'activation de récepteurs potentiels transitoires vanilloïdes 1 (TRPV 1), cette réponse est médié par les systèmes opioïdérique et cholinergique, de plus l'eugénol est probablement lié à la modulation des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), car l'administration d'eugénol inhibe les courants des récepteurs GABA dans les neurones du ganglion trijumeau et inhibe le GABA α 1 β 2 γ 2 exprimé dans ces neurones (Haro-González et al, 2021). Cela peut expliquer pourquoi les rats tolèrent que leur queue soit immergée plus longtemps dans l'eau chaude.

Ainsi, les multiples mécanismes d'action de l'eugénol, impliquant à la fois les canaux ioniques, les récepteurs sensoriels, les systèmes de neurotransmission et les récepteurs inhibiteurs, permettraient d'expliquer son efficacité analgésique observée dans cette étude chez les rats.

V. Conclusion

V. Conclusion

Nous avons évalué dans cette étude les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des clous de girofle en utilisant trois tests *in vivo* à l'issue desquels nous avons démontré le potentiel anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait de clous de girofle.

A partir des résultats obtenus, le teste de l'œdème de l'oreille provoqué par le xylène montre que l'administration orale de l'extrait induit une réponse anti-inflammatoire significatif qui apparaissant après environs 1h, De plus le teste de péritonite induit par l'injection de λ -carragennane dans la cavité péritonéale des rats montre que l'administration orale de l'extrait induit une réduction significative du recrutement des neutrophiles au niveau de la cavité péritonéale des rats. Quant au test d'immersion de la queue, l'administration orale de solution de clou de girofle a augmenté l'endurance des rats en immergeant la queue dans l'eau chaude, et le résultat était bon et proche des résultats de référence (aspirine).

Cette activité anti-inflammatoire et analgésique semble attribuable à la présence des composés phénolique comme l'eugénol, ainsi que d'autres comme les flavonoïdes, l'acide gallique et ces dérivés.

Au vu de ces résultats les clous de girofle a un effet anti-inflammatoire et analgésique très fort et efficace, tout comme les anti-inflammatoires de référence (aspirine par exemple). Ces résultats sont dus à sa composition chimique particulier qui contient des composés responsables à ces propriétés obtenues. Il est donc bon de faire attention à ses principes actifs et de bien connaître son mécanisme d'action pour le développement de nouvelles approches thérapeutique.

Références :

Barbosa NR, Fischmann L, Talib LL, Gattaz WF. (2004). Inhibition of platelet phospholipase A2 activity by catuaba extract suggests anti-inflammatory properties. *Phytother Res.*

Barton M. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The journal of clinical investigation* (118). P 413-420.

Blain, H.; Jouzeau, J. Y.; Netter, P. and Jeandel C. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives.

Chong-Hyeon Yoon, Soo-Jin Chung, Sang-Won Lee, Yong-Beom Park, Soo-Kon Lee, Min-Chan Park. (2012). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïdes.

Cortés-Rojas DF, de Souza CR, Oliveira WP. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed.*

Daniel AN, Sartoretto SM, Schimidt G, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman RK. (2009). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Rev Bras Farmacogn.*

Dzoyem J.P, McGaw L.J, Kuete V, Bakowsky U. (2017). Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables.

Endale M, Park SC, Kim S, Kim SH, Yang Y, Cho JY, Rhee MH. (2013). Quercetin disrupts tyrosine-phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase and myeloid differentiation factor-88 association, and inhibits MAPK/AP-1 and IKK/NF- κ B- induces inflammatory mediators production in RAW 264.7 cells.

Fujiwara N, Kobayashi K. (2005). Macrophages in inflammation. *Current Drug Targets Inflamm Allergy.*

Genet, N. (1997). *Immunologie*, 3^{ème} édition. Chapitre 6, Les systèmes non spécifiques de défense, la réaction inflammatoire et les autres moyens. 75006 paris. p. 221-230. ISBN : 2-7430-0158-5

Ghosh R, Nadiminty N, Fitzpatrick JE, Alworth WL, Slaga TJ, Kumar AP. (2005). Eugenol causes melanoma growth suppression through inhibition of E2F1 transcriptional activity. *J Biol Chem.*

- Haro-González J.N, Castillo-Herrera G.A, Espinosa-Andrews H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*) : Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health.
- Huang C, Šali A, Stevens RL. (1998). Regulation and Function of Mast Cell Proteases in Inflammation. *J Clin Immunol*.
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., Et Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Iwalewa E.O, McGaw L.J, Naidoo V, Eloff G.N. (2007). Inflammation: The foundation of diseases and disorders: areview of phytomedicines of South Africanoriginused to treat pain and inflammatory conditions. *Afr J Biotechnol*.
- Jabbour HN, Sales KJ, Catalano RD, Norman JE. (2009). Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reprod*.
- Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Stoyanova A, Krastanov A, Schmidt E. (2006). Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J Agric Food Chem*.
- Kim SS, Oh OJ, Min HY, Park EJ, Kim Y, Park HJ, Nam Han Y, Lee SK. (2003). Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells.
- Kurokawa M, Hozumi T, Basnet P, Nakano M, Kadota S, Namba T, Kawana T, Shiraki K. (1998). Purification and characterization of eugenin as an anti-herpesvirus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. *J Pharmacol Exp Ther*.
- Linlin Chen, Huidan Deng, Hengmin Cui, Jing Fang, Zhicai Zuo, Junliang Deng, Yinglun Li, Xun Wang, Ling Zhao. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Doi : 10.18632*.
- Nathan C. (2006). Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol*.
- Neveu V, Perez-Jiménez J, Vos F, Crespy V, du Chaffaut L, Mennen L. (2010). Phenol-Explorer : an online comprehensive database on polyphenol contents in foods.
- Okoli CO, Akah P A, Nwafor S V, Anisiobi A I, Ibegbunam I N, Erojikwe O. (2007). Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams. *Journal of Ethnopharmacology*, 190, 219-225.

- Pahwa R, Goyal A, Jialal I. (2003). Chronic Inflammation. In: StatPearls.
- Paul Goetz, Kamel Ghedira. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. P283.
- Punchard NA, Whelan CJ, Adcock I. (2004). The Journal of inflammation. J inflamm (Lond); 1(1) :1. Doi : 10.1186/1476-9255-1-1.
- Rana IS, Rana AS, Rajak RC. (2011). Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. Braz J Microbiol.
- Rankin, J. A. (2004). Biological mediators of acute inflammation. AACN Clin Issue.
- Raymondjean M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. J. revue francophone des laboratoires.
- Rousselet M.C., Vignaud J.M., Hofman P. et Chatelet F.P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire.
- Russo-Marie F. (1998). L'inflammation. Paris: Editions John Libbey Eurotext.
- Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J agric Food Chem.
- Sharma A K, Shaik A, Babu G C, Afroze M K H, Agarwal P. (2016). To study of anti-inflammatory effect of calcium channel blockers in rat paw edema model. Journal of Evidence Based Medicine and Healthcare.
- Sofia PK, Prasad R, Vijay VK, Srivastava AK. (2007). Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common foodborne pathogens. Int J Food Sci Technol.
- Sophie, Barbelet. (2015). Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. (Mémoire de fin d'étude pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie) UNIVERSITE DE LORRAINE.
- Chenal T, Trumel Catherine. (2022). Inflammation chronique : l'exploration par la biologie médicale.
- Thomas, Boulanger. (2017). Pharmacologie : anti-inflammatoires. IFSI.
- Ulanowska M, Olas B. (2021). Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol-A Review. Int J Mol Sci.

Weill, B, Bataux, F. (2004). Immunopathologie et réactions inflammatoires. (Série Médecine des sciences médicales). De Boeck Université.

Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. (2018). The Immunomodulatory and Anti-inflammatory Role of Polyphenols.