

## Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée

Rim Chatter Riahi, Safa Tarhouni \*, Riadh Kharrat

► **To cite this version:**

Rim Chatter Riahi, Safa Tarhouni \*, Riadh Kharrat. Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 2012, 88-2011 (1-4), pp.19-28. pasteur-00755458

**HAL Id: pasteur-00755458**

**<https://hal-riip.archives-ouvertes.fr/pasteur-00755458>**

Submitted on 20 Feb 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

---

# CRIBLAGE DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANALGESIQUE DES ALGUES MARINES DE LA MER MEDITERRANEE

R. CHATTER RIAHI\*§, S. TARHOUNI\* ET R. KHARRAT

*Unité de Toxines Alimentaire, Institut Pasteur de Tunis.*

\*§ Auteur correspondant : E-mail : rimcbatter@gmail.com

\* Contribution égale.

---

## RESUME

Les extraits méthanoliques de 13 algues marines collectées à partir de la mer méditerranée (côte tunisienne, côte marocaine et côte grecque) et appartenant aux différentes classes (Chlorophycée, Phéophycée et Rhodophycée) sont testés pour leurs effets analgésique et anti-inflammatoire. Ces activités ont été évaluées *in vivo*, respectivement par le test de l'acide acétique et le test de l'œdème induit par la carragénine.

Neuf espèces parmi les 13 algues testées ont montré une activité analgésique importante avec des pourcentages d'inhibition des crampes allant de 64 à 87%, par contre seules 5 algues ont montré une activité anti-inflammatoire significative (<0,001 comparée au lot témoin). Le pourcentage d'inhibition de l'œdème atteint les 80 % pour l'algue rouge *Laurencia glandulifera* contre 50 % d'inhibition pour l'aspirine. Ainsi, le criblage a permis de montrer des profils pharmacologiques différents. Les algues dotées de la double activité analgésique et anti-inflammatoire, sont les algues rouges (*Laurencia glandulifera* et *Hypnea musciformis*) et les algues brunes (*Cystoseira barbata* et *Sargassum vulgare*). Une algue ayant uniquement un effet anti-inflammatoire (*Gelidium sesquipedale*) et d'autre dotées uniquement d'une activité analgésique (*Enteromorpha compressa*, *Chaetomorpha linum*, *Cystoseira ericoidies*, *Sacchoriza bulbosa* et *Corralina officinalis*).

La présence simultanée ou individuelle des activités analgésique et/ou anti-inflammatoire au niveau des différents extraits pourra trouver son application dans le domaine thérapeutique.

**Mots clés :** Criblage, activités, anti-inflammatoire, analgésique, algues marines.

---

## ABSTRACT

Methanolic Extracts of 13 seaweeds collected from the Mediterranean sea (Tunisian, Moroccan and Greek coasts) from different classes (Chlorophyceae, Pheophyceae and Rhodophyceae) are tested for their analgesic and anti-inflammatory effects. These activities were estimated *in vivo*, respectively by writhing test and carrageenan test.

Nine species among 13 tested seaweeds showed an important analgesic activity. On the other hand only 5 seaweeds showed a significant anti-inflammatory activity (<0,001 compared to control group). The percentage of inhibition reached 80 % for the red algae *Laurencia glandulifera* but was only 50 % for aspirin.

The screening showed different pharmacological profiles. The red algae (*Laurencia glandulifera* and *Hypnea musciformis*) and brown algae (*Cystoseira barbata* and *Sargassum vulgare*) had endowed with the double analgesic and anti-inflammatory activity. The red algae *Gelidium sesquipedale* have only anti-inflammatory activity and the other one endowed only with an analgesic activity (*Enteromorpha compressa*, *Chaetomorpha linum*, *Cystoseira ericoidies*, *Sacchoriza bulbosa* et *Corralina officinalis*).

The simultaneous or individual presence of the analgesic and/or anti-inflammatory activities of the various extracts can find its application in the therapeutic domain.

**Key words :** Screening, activity, anti-inflammatory, analgesic, marine algae.

## INTRODUCTION

Les produits d'origine naturelle occupent une place importante dans la découverte de nouveaux médicaments. On estime que près de 50% des agents thérapeutiques utilisés actuellement proviennent de sources naturelles (plantes, champignons, animaux, algues, etc.). On estime également que moins de 10% des espèces végétales ont été étudiées pour leurs activités biologiques<sup>1</sup>. Ces chiffres indiquent que l'étude approfondie des algues marines de la mer méditerranée pourrait mener à la découverte de nouveaux agents thérapeutiques<sup>2</sup>.

Surtout que la mer méditerranée constitue un véritable réservoir d'espèces végétales et animales. En effet, on dénombre plus de 25 000 espèces appartenant à tous les niveaux évolutifs et dont la moitié ne se trouve nulle part ailleurs.

Ces algues occupent une place importante dans le milieu marin d'où leur abondance et leur accessibilité. Ce sont des organismes peu évolués, dépourvus d'armes de défense, qui vivent dans des conditions environnementales et écologiques sévères (pression, salinité, absence de lumière, compétence inter et intra spécifique...). Ces facteurs poussent ces organismes à produire des molécules de défense : ce sont les métabolites secondaires. Ces métabolites sont des molécules biologiquement actives et de grandes originalités structurales<sup>3,4</sup>. De nombreux travaux ont porté sur la mise en évidence de plusieurs activités pharmacologiques de ces molécules bioactives<sup>5</sup> tel que l'effet antibactérien, antiviral, antifongique, antifouling et cytotoxique. Mais peu se sont intéressés aux effets analgésique et anti-inflammatoire d'où l'objectif de notre travail.

L'inflammation et la douleur sont deux processus physiologiques intimement liés et impliqués dans un grand nombre de maladies aiguës ou chroniques. Cependant, les médicaments commercialisés (anti-inflammatoires non stéroïdiens, anti-inflammatoires stéroïdiens, opioïdes, anesthésiques locaux...) sont insatisfaisants, contraignants et entraînant beaucoup d'effets indésirables (ulcères gastriques, actions immunosuppressives, convulsions, accidents cardiovasculaires<sup>6,7,8</sup>). D'où la nécessité de la recherche de nouvelles molécules qui pourraient agir directement sur les médiateurs de l'inflammation et de la douleur ayant ainsi moins d'effets secondaires.

Dans ce contexte, nous avons étudié l'effet analgésique et anti-inflammatoire des différentes espèces

de la mer méditerranée (côte tunisienne, côte marocaine, côte grecque). Ce criblage a été évalué *in vivo* respectivement par le test de l'acide acétique et le test de l'œdème induit par la carragénine.

## MATERIEL ET METHODES

### *Collecte et échantillonnage*

La récolte des algues a eu lieu dans la mer méditerranée [côte tunisienne : Golfe de Gabes ; côte marocaine : Tanger ; côte grecque : ile de Kéfalonia] pendant le mois de Janvier. Pour cette étude, 13 espèces d'algues appartenant aux trois classes de macroalgues: Rhodophycées, Phéophycées et Chlorophycées. Les échantillons ont été transportés au laboratoire pour être nettoyés manuellement et identifiés (Tableau I).

### *Préparation des extraits*

Les algues récoltées sont lavées plusieurs fois à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès de sel et tout corps étranger qui pourrait influencer l'évaluation des activités biologiques. Le matériel végétal est ensuite séché à température ambiante dans un endroit sec à l'abri de la lumière. Ainsi séchée, l'algue peut conserver la totalité et l'intégrité des substances actives que nous souhaitons extraire. Après séchage et broyage, la poudre d'algue préparée pour chaque espèce va subir une série de macération dans le méthanol à raison de 1l par kg de poudre d'algue. Les extraits sont ensuite filtrés sur papier whatman puis évaporés et séchés à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les produits obtenus seront récupérés dans l'eau physiologique pour être finalement prêts pour les différents tests physiologiques.

### *Tests pharmacologiques*

#### **• Etude de l'activité anti-inflammatoire**

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par Winter<sup>9</sup> selon laquelle l'inflammation est induite par injection de la carragénine au niveau de la voûte plantaire de la patte gauche du rat. L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par le Pléthysmomètre ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire.

Pour chaque essai de l'activité anti-inflammatoire, trois lots de six rats ont été utilisés. Ces rats sont de même sexe et ont été mis à jeun, 16 heures avant l'essai.

- Lot témoin : Les rats de ce lot reçoivent la solution véhicule (eau physiologique) par voie intra-péritonéale

**Tableau I : Classification, codes et lieux de collecte des macroalgues testées**

Classes d'algues	Ordre	Genres et espèces	Codes	Lieux de collecte
Algues vertes	Bryopsidales	<i>Codium bursa</i>	Cb-V	Côte tunisienne
	Ulvales	<i>Enteromorpha compressa</i>	Ec-V	Côte marocaine
		<i>Ulva lactuca</i>	Ul-V	Côte Tunisienne
		<i>Chaetomorpha linum</i>	Cl-V	Côte tunisienne
Algues brunes	Dictyotales	<i>Zonaria tournefortii</i>	Zt-B	Côte tunisienne
	Fucales	<i>Sargassum vulgare</i>	Sv-B	Côte marocaine
		<i>Cystoseira barbata</i>	Cb-B	Côte tunisienne
		<i>Cystoseira ericoidies</i>	Ce-B	Côte marocaine
		<i>Sacchoriza bulboza</i>	Sb-B	Côte marocaine
Algues rouges	Astrorhizida	<i>Laurencia glandulifera</i>	Lg-R	Côte grecque
	Ceramiales	<i>Gelidium sesquipedale</i>	Gs-R	Côte marocaine
		<i>Corralina officinalis</i>	Co-R	Côte marocaine
		<i>Hypnea musciformis</i>	Hm-R	Côte marocaine
		Gigartinales		

(*ip*), 1 heure avant l'injection de la carragénine (100µl; 0,6%) dans la voûte plantaire de la patte gauche du rat.

- **Lot référence** : Les rats de ce lot ont été traités par voie (*ip*) avec un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique, 1 heure avant l'injection de la carragénine. L'administration de l'anti-inflammatoire se fait à raison de 200 mg/Kg pour l'aspirine et de 2mg/Kg pour la dexaméthasone.

- **Lot essai** : L'extrait à tester est administré aux rats par voie *ip* à raison de 200 mg/kg ; 1h avant l'injection de la carragénine.

L'administration du médicament anti-inflammatoire ou de l'extrait à tester se fait à raison de 25 ml/Kg par voie intra-péritonéale.

Le suivie de l'évolution de l'œdème se fait par mesure des deux pattes : une patte traitée P(t) et une patte non traitée P(nt), et ceci à 1h, 2h, 3h, 4h et 5h après injection de la carragénine. Ces valeurs seront corrigées en tenant compte de la valeur (d) mesurée à 1h avant l'injection de l'agent phlogogène.

$$d = P(t) - P(nt)$$

La moyenne des valeurs obtenues pour chaque lot à un temps donné sera déterminée selon la formule suivante:

$$M = (D - d) = [\sum (D - d)/n]$$

M : la moyenne des valeurs obtenues.

D : la différence entre la patte traitée et la patte non traitée à un temps donné.

d : la différence anatomique entre les deux pattes .

n = nombre de rats pour chaque lot.

Ces moyennes sont reportées sur une courbe permettant de suivre l'évolution de l'œdème pour chaque lot. La détermination du pourcentage d'inhibition de

l'œdème (**PIO**) permet d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait étudié et de le comparer à celui du produit de référence.

$$PIO = [M(D-d)_{\text{témoin}} - M(D-d)_{\text{essai}}] / M(D-d)_{\text{témoin}}$$

#### • Etude de l'activité analgésique

Cette étude a été réalisée selon la méthode de Koster<sup>10</sup>. Elle consiste à induire une action algogène par l'administration à des souris de l'acide acétique (1%), par voie *ip*. Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales. L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 30 min après l'injection de l'agent algogène.

Pour chaque essai de l'activité analgésique, trois lots de six souris ont été utilisés. Ces souris sont de même sexe et ont été mises à jeun 16 heures avant l'essai.

- **Lot témoin** : Les souris de ce lot reçoivent la solution véhicule (eau physiologique) 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique (1%) par voie *ip*.

- **Lot référence** : Les animaux de ce lot ont été traités par voie intra-péritonéale avec un analgésique utilisé en thérapeutique (l'aspirine) 30 minutes avant l'injection *ip* de l'acide acétique. L'administration de l'analgésique de référence se fait à raison de 200 mg/ Kg.

- **Lot essai** : Les animaux reçoivent, par voie *ip* l'extrait à tester à raison de 200 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.

L'administration de l'aspirine et de l'extrait à étudier se fait à raison de 10 ml/Kg par voie intra-péritonéale.



Le pourcentage d'inhibition des crampes est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = \frac{[\text{Moyenne témoin} - \text{Moyenne essai}]}{\text{Moyenne témoin}}$$

**Analyse statistique**

Les données sont présentées comme moyenne ± SEM. Les analyses ont été faites grâce au logiciel Prism Graph Pad 4.0 (Graph Pad, San Diego, CA). Toutes les données étaient normalement distribuées. Des comparaisons multiples dans des groupes ont été exécutées par des mesures répétées ANOVA, suivi par le post-test de Dunnett. La signification statistique a été acceptée à  $p < 0,05$ .

**RESULTATS**

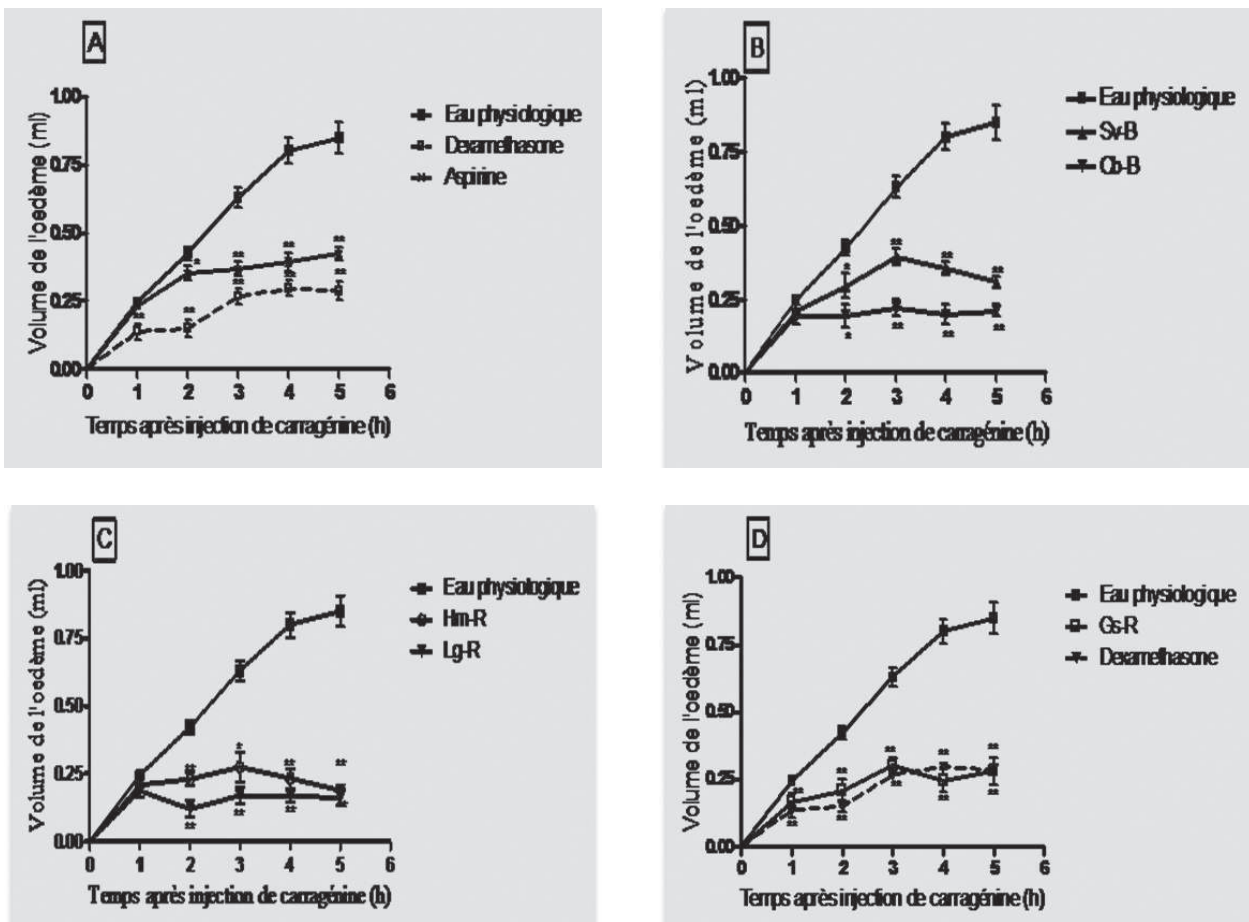
**Criblage de l'activité anti-inflammatoire**

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits méthanoliques des algues marines est réalisée

par la mesure du volume de l'œdème induit par la carragénine chez trois lots de rats (témoin, essai et référence) en absence et en présence d'un traitement anti-inflammatoire. Les résultats sont représentés sous forme de courbes mettant en valeur l'évolution du volume de l'œdème en fonction du temps (Figures 1(A), 1(B), 1(C) et 1(D)).

L'injection de 100µl de carragénine à 0,6 %, au niveau de la patte postérieure gauche du rat, provoque une inflammation visible dans l'heure qui suit cette injection (volume de l'œdème est de 0,25ml), L'œdème augmente progressivement et atteint une intensité maximale au bout de cinq heures (Volume d'œdème des lots témoins atteint les 0,85ml) (Figure 1(A)).

Administré préventivement, l'effet de chacune des molécules de référence (aspirine et dexaméthasone) se traduit par une réduction de l'œdème de façon progressive. L'aspirine (200 mg/kg en ip) n'agit qu'à partir de la deuxième heure et atteint son



**Figure 1 :** Courbe de l'évolution de l'œdème (m ± S.E.M) en présence d'un prétraitement par voie ip, une heure avant l'injection de la carragénine (0,05 ml ; 1%), chez 4 lots de rats : (A) Lot de référence (témoin négatif : eau physiologique, témoin positif : aspirine et dexaméthasone), (B) Lot des extraits d'algues brunes actives, (C) Lot des extraits d'algues rouges actives, (D) lot de l'extrait de l'algue rouge Gs-R (*Gelidium sesquipedale*). Chaque point représente une moyenne de 6 animaux. Sv-B : *Sargassum vulgare* ; Cb-B : *Cystoseira barbata* ; Hm-R : *Hypnea musciformis* ; Lg-R : *Laurencia glandulifera*. Les astérisques \*, \*\*, \*\*\* indiquent une différence significative respectivement à  $p < 0,05$ ,  $P < 0,01$  et  $p < 0,001$  par rapport au témoin (ANOVA, post test Dunnett).

maximum d'activité à la cinquième heure avec un pourcentage d'inhibition de 50%. Contrairement à l'aspirine, l'effet inhibiteur de la dexaméthasone (2 mg/kg en *ip*) se manifeste dès la première heure qui suit l'injection de la carragénine; l'inhibition est maintenue presque au même niveau durant 5 heures, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 60% (Figure 1 (A) et (Tableau II).

Le prétraitement des rats, par les extraits méthanoliques (200 mg/kg en *ip*) entraîne un changement de l'évolution du volume de l'œdème (Figures 1 (B), 1(C), 1(D)). L'analyse de ces résultats montre qu'aucune algue verte parmi les 4 testées n'a montré d'effet anti-inflammatoire significatif (Tableau II). Par contre, deux algues brunes

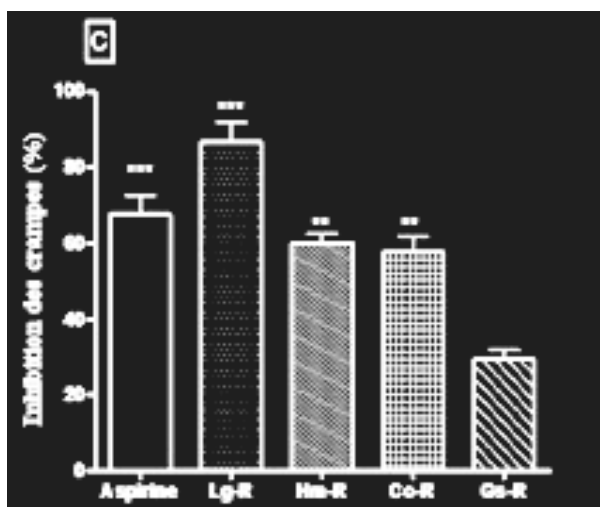
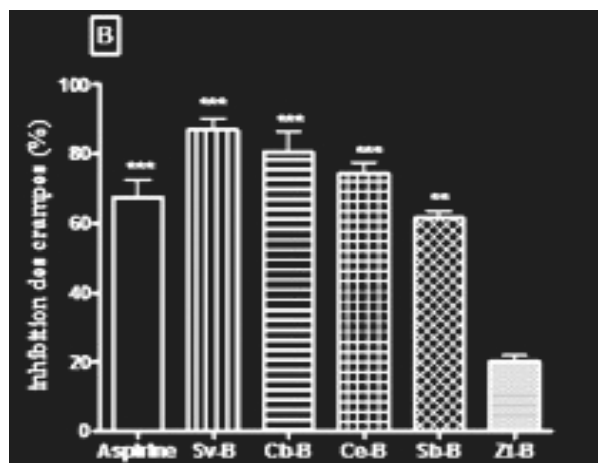
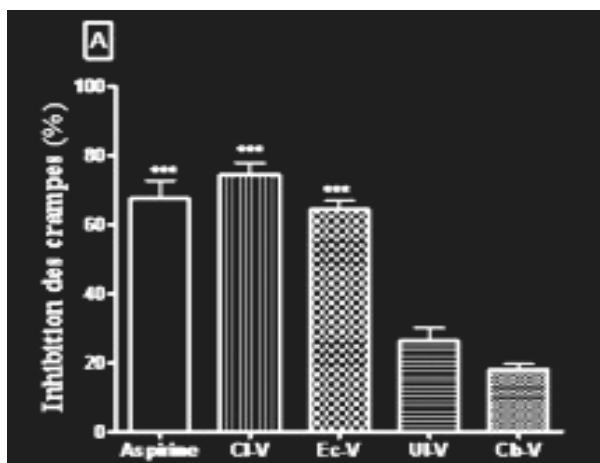
parmi les cinq testées (Cb-B et Sv-B) ont induit une diminution significative de l'œdème (Figure 1(B), Tableau II). Cet effet n'est visible qu'à partir de la deuxième heure. Il atteint un maximum d'activité à la cinquième heure avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 75% et 63%. De même, le prétraitement des rats par les extraits des algues rouges (*Lg-R*, *Gs-R* et *Hm-R*) a induit une forte inhibition de l'inflammation à la cinquième heure respectivement de 80, 67 et 77% (Figure 1 (C) et Tableau II).

Contrairement à *Lg-R* et *Hm-R*, seule *Gs-R* se distingue par son effet précoce; le pourcentage d'inhibition atteint 35 % dès la première heure (Figure 1(D) et (Tableau II).

**Tableau II : Inhibition de l'œdème chez les différents lots de rats, en présence d'un prétraitement, par voie *ip*, par les extraits méthanoliques (200mg/kg) et des molécules de références Asp (aspirine 200mg/kg) et Dex (Dexaméthasone, 2mg/kg).**

Traitements	Inhibition de l'œdème (%)		
	1h	3h	5h
<b>Algues vertes</b>			
Cl-V	19,6 ns	20,2 ns	10,6 ns
Ec-V	17,5 ns	23,3 ns	21,5 ns
Ul-V	2,5 ns	16,5 ns	22,7 ns
Cb-V	2,8 ns	7,9 ns	11 ns
<b>Algues brunes</b>			
Sv-B	12,5 ns	37,5 *	63,9 **
Cb-B	18,3 ns	65,1 **	75,3 ***
Ce-B	9,6 ns	11,1 ns	17,4 ns
Sb-B	19,8 ns	10,1 ns	9,4 ns
Zt-B	10,4 ns	0 ns	14,7ns
<b>Algues rouges</b>			
<i>Lg-R</i>	19,1 ns	73,1 ***	80,7 ***
<i>Hm-R</i>	14,3 ns	56,3 *	77,6 ***
<i>Gs-R</i>	35 **	52,1 **	67,1 ***
Co-R	13,8 ns	21,6 ns	25,4 ns
<b>Références</b>			
Asp	5,4 ns	41,8 **	50,2 **
Dex	43,1 **	57,7 **	66,3 **

Cl-V : *Chaetomorpha linum*; Ec-V : *Enteromorpha compressa*; Ul-V : *Ulva lactuca*; Cb-V : *Codium bursa*; Sv-B : *Sargassum vulgare*; Cb-B : *Cystoseira barbata*; Ce-B : *Cystoseira ericoides*; Sb-B : *Sacchoriza bulboza*; Zt-B : *Zonaria tournefortii*; *Lg-R* : *Laurencia glandulifera*; *Hm-R* : *Hypnea musciformis*; *Gs-R* : *Gelidium sesquipedale*; Co-R : *Corralina officinalis*; Asp : Aspirine et Dex : Dexaméthasone. Chaque valeur représente une moyenne de 6 animaux. ns = non significatif. Les astérisques (\*, \*\*, \*\*\*) indiquent respectivement que  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  et  $p < 0.001$ ; relativement aux témoins correspondants (ANOVA, post test Dunnett).



**Figure 2** : Inhibition des crampes abdominales induites par une injection de l'acide acétique (1%, ip) chez des lots de souris prétraitées par des extraits méthanoliques d'algues (A) : vertes (Cb-V, Ec-V, Ul-V, Cl-V) (B) : brunes (Sv-B, Cb-B, Ce-B, Sb-B ; Zt-B) (C) : rouges (Lg-R, Gs-R, Co-R, Hm-R) et une molécule de référence: aspirine; administrée par voie ip à une dose de 200 mg/kg. Cb-V : *Codium bursa* ; Ec-V : *Enteromorpha compressa* ; Ul-V : *Ulva lactuca* ; Cl-V : *Chaetomorpha linum* ; Sv-B : *Sargassum vulgare* ; Cb-B : *Cystoseira barbata* ; Ce-B : *Cystoseira ericoidies* ; Sb-B : *Sacchoriza bulboza* ; Zt-B : *Zonaria tournefortii* ; Lg-R : *Laurencia glandulifera* ; Gs-R : *Gelidium sesquipedale* ; Co-R : *Corralina officinalis* et Hm-R : *Hypnea musciformis*. Chaque colonne représente une moyenne de 6 animaux. Les astérisques (\*, \*\*, \*\*\*) indiquent respectivement que  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  et  $p < 0.001$  ; relativement aux témoins correspondants (ANOVA, post test Dunnett).

### Criblage de l'activité analgésique

Nous avons effectué un criblage de l'activité analgésique chez les 13 extraits méthanoliques d'algues marines. Cette activité a été mise en évidence grâce au test des crampes abdominales<sup>10</sup>. Ainsi, une injection ip à un lot de souris, d'un produit algogène: l'acide acétique, provoque une lésion tissulaire responsable de la libération d'un certain nombre de médiateurs chimiques tels que la bradykinine, l'histamine, la sérotonine, l'acétylcholine et les prostaglandines. Ces dernières sensibilisent les nocicepteurs aux stimuli douloureux et en résulte une douleur plus tardive et diffuse<sup>11, 12, 13</sup>. Cette douleur se manifeste chez les souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale.

Dans les conditions expérimentales de notre travail, l'injection d'une dose de 200µl d'acide acétique 1% par voie intra péritonéale provoque une moyenne de 130.66 crampes comptabilisées au bout de 30 minutes chez le lot témoin. Les extraits méthanoliques des algues vertes (Ul-V et Cb-V), de l'algue brune Zt-B et de l'algue rouge Gs-R n'ont pas d'activité analgésique.

Les différents autres extraits ont inhibé les crampes avec des pourcentages variables allant de 64 % pour l'algue verte Ec-V pour atteindre les 87% pour l'algue rouge Lg-R (Figure 2 (A), 2(B) et 2(C)).

### DISCUSSION

L'étude systématique de la biodiversité marine à des fins thérapeutiques a suscité de grands espoirs grâce à la découverte, de quelques molécules actives et rares, qui sont généralement des métabolites secondaires. Un intérêt de plus en plus croissant pour les algues a démarré afin de passer au crible un plus grand nombre d'espèces réparties dans les mers et les océans.

Ce travail s'inscrit dans ce cadre et consiste à déterminer l'activité pharmacologique (anti-inflammatoire et analgésique) de substances extraites à partir d'un nombre important d'algues appartenant aux 3 classes de macroalgues : vertes, brunes et rouges.

Afin d'élargir notre périmètre de recherche, l'échantillonnage a été effectué à différents endroits de la Côte Méditerranéenne (tunisienne, marocaine et grecque). Le criblage de l'activité anti-inflammatoire est réalisé par le test de la carragénine<sup>9</sup>. Cet agent phlogogène

induit au niveau de la patte du rat un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés<sup>14</sup>. Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation (développement de l'œdème dans l'heure qui suit l'injection, avec un effet maximal au bout de 5 heures) et également en raison de sa reproductibilité.

L'évolution du volume de l'œdème suite à l'injection de la carragénine évolue de manière temps dépendante et se divise en deux phases : Une première phase de 0 à 1h et une deuxième phase de 1 à 5h. En effet l'injection de la carragénine induit une augmentation de synthèse de l'ARNm de la cyclooxygénase 2 (COX-2) d'où une élévation de la concentration de cette enzyme avec un pic à 1h. Cette élévation est accompagnée par une augmentation de la synthèse des prostaglandines (PGs), essentiellement la prostaglandine E2 (PGE2) (maximum à 2h) impliquée dans les processus de la douleur et de l'inflammation<sup>15,16</sup>. Ceci explique l'effet tardif des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine qui n'a pas d'effet à 1h<sup>17</sup>. Ceci est en relation avec leur mode d'action qui passe par l'inhibition des PGs par la stimulation des deux enzymes COX-1 et COX-2<sup>8,18</sup>, et dont la courbe d'inhibition montre une stabilisation à partir de 3h qui correspond à la stabilisation des médiateurs. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) comme la dexaméthasone agissent dès la première heure vu qu'elle interagit directement avec l'ADN. Son effet est en relation avec plusieurs voies moléculaires (cytokines pro-inflammatoires, phospholipase, COX) généralement à travers le facteur nucléaire de transcription NF-κB<sup>6,19</sup>.

Le criblage des extraits méthanoliques des algues par le test de l'œdème induit par la carragénine, a permis de mettre en évidence un potentiel anti-inflammatoire de 38% (cinq algues actives sur 13 algues testées). Un rapport similaire a été obtenu par Mayer et al<sup>20</sup> qui ont révélé le même pourcentage d'inhibition par le test anti-inflammatoire *in-vitro* (Test anti-phospholipase A2). Les algues actives sont constituées essentiellement d'algues brunes et rouges. D'ailleurs la majorité des travaux effectués appartient à ces deux classes d'algues (brunes : *Sargassum*<sup>21, 22</sup> *Padina minor*<sup>23</sup>, *Caulocystis cephalornithos*<sup>24</sup> et rouges : *Hypnea*<sup>25</sup>, *Galaxaura marginata*<sup>26</sup>. Ceci pourrait être expliqué

par leur richesse en polysaccharides sulfatés, en acide gras et en terpènes. Ces molécules s'avèrent être dotées d'activité anti-inflammatoire<sup>24, 27, 28, 29</sup>.

Dans nos conditions expérimentales, les quatre algues vertes sont dénuées de toute activité pharmacologique. Contrairement à nos résultats, un effet anti-inflammatoire a été rapporté chez les deux algues vertes des genres *Ulva*<sup>21, 30</sup> et *Enteromorpha*<sup>31</sup>. Ceci peut être attribué à la variation de la période et/ou du site de récolte, au niveau desquels les facteurs écologiques (pH, salinité, pression, température...) et l'état physiologique de l'algue au cours de l'année<sup>22, 32</sup> jouent un rôle important.

Le criblage de l'effet analgésique est réalisé par le test de l'acide acétique, très répandu pour sa haute sensibilité et sa capacité de mettre en évidence les molécules aussi bien à effet périphérique que central<sup>11</sup>. Ce criblage a montré que 69% des algues testées ont révélé un effet analgésique, essentiellement à partir d'algues brunes et rouges. Ceci est consolidé par les travaux de l'équipe de Viana<sup>33, 34, 35</sup> et celle de Silva<sup>36</sup>.

Les différentes approches menées au cours de ce travail nous ont permis de révéler différents profils pharmacologiques : des algues qui ont combiné les deux activités analgésique et anti-inflammatoire, et d'autres qui sont dotées d'une seule activité anti-inflammatoire ou analgésique.

Les extraits d'algues dotés de la double activité sont les algues brunes *Cystoseira barbata* (*Cb-B*) et *Sargassum vulgare* (*Sv-B*) et rouges *Laurencia glandulifera* (*Lg-R*) et *Hypnea musciformis* (*Hm-R*). Ces extraits ont inhibé l'œdème induit par la carragénine de manière tardive avec un pourcentage d'inhibition supérieur à celui de l'aspirine (50%) à la cinquième heure. Cet effet tardif sur l'inflammation, couplé à un effet analgésique est similaire à celui des AINS<sup>18</sup>. Ce résultat a déjà été signalé chez quelques espèces d'algues brunes appartenant au genre *Sargassum* tel que *S. wightii*, *S. tenerrimum*, et *S. cervicorne*<sup>22, 40</sup>. Ces extraits renferment probablement des substances qui semblent inhiber la production des prostaglandines (essentiellement celle de la PGE2) par blocage des enzymes spécifiques les cyclooxygénases (COX-1 et COX-2) impliquées dans la réaction inflammatoire et dans la genèse de la nociception.

L'algue rouge *Gelidium sesquipedale* (*Gs-R*) est dotée d'un effet anti-inflammatoire précoce qui apparaît dès la première heure. Toutefois, aucun effet analgésique n'a été révélé. Ce profil pharmacologique est similaire à celui des molécules apparte-



nant à la famille des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) telle que la dexaméthasone. Ces molécules agissent primordialement sur les médiateurs de l'inflammation en agissant directement sur l'ADN<sup>37</sup>. Cette interaction induit une inhibition de la transcription des gènes cibles impliqués dans la genèse des signes physiologiques de l'inflammation (œdème vasodilatation, rougeur, chaleur...) <sup>6,19</sup>. Ces derniers sont connus pour leur effet anti-inflammatoire précoce, non associé à un effet analgésique<sup>37</sup>.

L'algue rouge *Gelidium sesquipedale* pourrait présenter une ou plusieurs molécules appartenant à la famille des AIS. Ce type de molécule est très intéressant surtout pour les sujets, chez lesquels les AINS ne peuvent pas être prescrits vu leurs effets indésirables, telle que les personnes ayant des problèmes vasculaires (augmentation du risque hémorragique du fait des propriétés antiagrégantes) ou gastriques (diminution de la protection de la muqueuse gastro intestinale).

Les algues vertes *Enteromorpha compressa* (Ec-V) et *Chaetomorpha linum* (Cl-V), brunes *Cystoseira ericoidis* (Ce-B) et *Sachoriza bulboza* (Sb-B) et rouge *Corallina officinalis* (Co-R) ont inhibé les crampes abdominales induites par l'injection de l'acide acétique mais elles n'ont eu aucun effet sur l'œdème induit par la carragénine. Ces algues se caractérisent par leur effet analgésique non associé à l'effet anti-inflammatoire. Ces extraits renferment probablement une ou des molécule(s) appartenant à la classe des analgésiques centraux<sup>38,39</sup>. Ces derniers agissent sur les récepteurs aux opioïdes ( $\mu$ ,  $\delta$  et  $\kappa$ ) dont l'activation aboutit à une diminution de la libération des médiateurs de la douleur comme la substance P. En effet, l'action centrale de ces médiateurs n'a aucun effet sur l'inflammation.

## CONCLUSION

Notre étude a porté sur un grand nombre de macroalgues marines collectées à différents endroits de la côte méditerranéenne et appartenant à différentes classes. Ce criblage nous a permis de répartir les algues actives en trois groupes. La présence simultanée ou individuelle des activités analgésique et anti-inflammatoire au niveau des différents extraits pourrait être expliquée par la présence de molécules bioactives avec des mécanismes d'action différents. Ces molécules sont intéressantes pour expliquer les rouages moléculaires impliqués dans l'inflammation et la douleur ainsi qu'à la conception de nouvelles molécules théra-

peutiques. En effet, les extraits d'algues dotés de la double activité pourraient être des substituants des AINS ; surtout si nos travaux démontrent l'absence des effets secondaires de ces algues. Pour les extraits dotés d'une seule activité. Ce type d'extrait est très recherché par les phytothérapeutes qui préfèrent des molécules ciblées afin d'éviter les interactions entre les différents médiateurs de la douleur et l'inflammation.

Pour cela, nous envisageons d'entamer une étude chimique en vue d'isoler la ou les substance(s) active(s) et d'élucider leur(s) structure(s) chimique(s) responsable(s) de l'effet analgésique et/ou anti-inflammatoire. Cette étude pourrait être approfondie par une étude pharmacologique qui nous aidera à cibler le niveau d'action des molécules actives.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions Dr Roussis Vassilios du département de pharmacognosie et chimie des produits naturels, Ecole de pharmacie, Université d'Athènes (Grèce) ainsi que Dr Salem Bakkas de l'unité de chimie Marine, Laboratoire de chimie organique, bioorganique et environnement (LCOBE) Eljadida (Maroc) de nous avoir fournis certaines algues marines. Nous remercions aussi Dr Lamia Guizani-Tabbane pour ses conseils.

## REFERENCES

- 1- **M.J. Balunas et Kinghorn** (2005). Drug discovery medicinal plants. *Life science*, **78**, 431.
- 2- **J. Lioret** (2010) Human health benefits supplied by Mediterranean marine biodiversity. *Marine Pollution bulletin*, **60**, 1640-1646.
- 3- **K.L. Rinehart** (1992). Secondary metabolites from marine organisms. *Ciba. Found. Symp.*, **171**, 236-249.
- 4- **C. Tringali** (1997). Bioactive metabolites from marine alga. *Current Organic Chemistry*, **1**(4), 375-394.
- 5- **A.A. El Gamal** (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi. Pharm. J.*, **18**, 1-25.
- 6- **R. Newton** (2000). Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax*, **55**, 603-613.
- 7- **J. Stewart, N. Kellett et D. Castro** (2003). The central nervous system and cardiovascular effects of levobupivacaine and ropivacaine in healthy volunteers. *Anesth. Analg.*, **97**, 412-416.

- 8- **Editorial** (2005). Dual inhibition of cyclo-oxygenases and 5-lipoxygenase : a novel therapeutic approach to inflammation ? *Revue du Rhumatisme*, **72**, 379-382.
- 9- **C.A. Winter, E.A. Risley et G.W. Nuss** (1962). Carragenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **111**, 544-547.
- 10- **R. Koster, M. Anderson et E.J. Beer** (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, **18**, 412-417.
- 11- **D. Le Bars, M. Gozariu et S. Cadden** (2001). Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, **53**(4), 597-652.
- 12- **H.D.J. Collier, L.C. Dinnin, C.A. Johnson, C. Schneider** (1968). The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **32**, 295-310.
- 13- **P.P. Raj** (1996). Pain mechanisms. In *Pain medicine : a comprehensive review*, 1st ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, USA: 12-24.
- 14- **C.J. Morris** (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.*, **225**, 115-121.
- 15- **I. Posadas, M. Bucci, F. Roviezzo, A. Rossi, L. Parente, L. Sautebin, G. Cirino** (2004). Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependant and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British journal of pharmacology*, **142**, 331-338.
- 16- **F. Nantel, D. Denis, R. Gordon, A. Northey, M. Cirino, K.M. Metters et C.C. Chan** (1999). Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *Br. J. Pharmacol.*, **128**, 853-859.
- 17- **M. Di Rosa, J.P. Giroud et D.A. Willoughby** (1971). Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.*, **104**, 15-29.
- 18- **P. Vergne, P. Bertin et R. Trèves** (2000). Aspirine, douleurs et inflammation. *Rev. Méd. Interne*, **21**(11), 89-96.
- 19- **A. Biola et M. Pallardy** (2000); Mode d'action des glucocorticoïdes. *La Presse médicale*, **29**, 215-223.
- 20- **A.M.S. Mayer, V.J. Paul, W. Fenical, J.N. Norris, M. S. De carvalho, R.S. Jacobs** (1993). Phospholipase A2 inhibitors from marine algae. *Hydrobiologia*, **260**, 158-168.
- 21- **D.D.Hong, H.M. Hien, and H.T.L. Anh** (2011). Studies on the analgesic and anti-inflammatory activities of *Sargassum swartzii* (Turner) C. Agardh (Phaeophyta) and *Ulva reticulata* Forsskal (Chlorophyta) in experimental animal models. *African Journal of Biotechnology*, **10**(12), 2308-2314.
- 22- **A.Dar, H.S.Baig, S.M. Saifullah, V.U.Ahmed, S.Yasmeen et M. Nizamuddin** (2007). Effect of seasonal variation on the anti-inflammatory activity of *Sargassum wightii* growing on the N. Arabian Sea coast of Pakistan. *J. of exp. mar. biol. and ecol.*, **351**, 1-9.
- 23- **Y.Peerapornpisal, D. Amornlerdpison, U. Jamjai, T. Taesotikul, Y. Pongpaibul, M. Nualchareon, et D. Kanjanapothi** (2010). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Brown Marine Alga, *Padina minor* Yamada. *Chiang Mai J. Sci.*, **37**(3), 507-516.
- 24- **P.Buckle, B. Baldo et K.M. Taylor** (1980). The anti-inflammatory activity of marine natural products 6-n-tridecylsalicylic acid, flexibilide and dendalone 3-hydroxybutyrate. *Agents Actions*, **10**, 367.
- 25- **F. S. Bitencourt, G. Jozi, J.G. Figueiredo, R. L. Mário, M.R. Mota, C. R. Carla, C.C.R. Bezerra, P.P. Silvestre, M.R. Vale, K.S. Nascimento, A.H. Sampaio, C.S. Nagano, Silvana S.Saker-Sampaio, W.R.L.Farias, B.S.Cavada, A.M.S. Assreuy et N.M.N De Alencar** (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of a mucin-binding agglutinin isolated from the red marine alga *Hypnea cervicornis*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **377**, 139-148.
- 26- **E. Rozes et J. C. Freitas** (2007). Anti-inflammatory activity of the apolar extract from the seaweed *Galaxaura marginata* (Rhodophyta, Nemaliales). *Journal of venomous animal toxins incl. trop. Dis.*, **13** (2), 544-548.
- 27- **A. M. S. Assreuy, D. M. Gomes, M.S.J. Silva, V. M. Torres, R.C.L. Siqueira, A. F. Pires, D.N. Criddle, N.M.N. Alencar, B.S. Cavada, A.H. Sampaio et W.R.L. Farias** (2008). Biological Effects of a Sulfated-Polysaccharide Isolated from the Marine Red Algae *Champia feldmannii*. *Biol. Pharm. Bull.*, **31**(4), 691-695.
- 28- **B.De las Heras, B.Rodriguez, L.Bosca et A.M. Villar** (2003). Terpenoids: sources,

- structure elucidation and therapeutic potential in inflammation. *Curr. Top. Med. Chem.*, **3**, 171-185.
- 29- **A. Rajic, G. Kweifio-Okai, T. Macrides, R.M. Sandeman, D.S. Chandier et G.M. Poiva** (2000). Inhibition of Serine Proteases by anti-inflammatory triterpenoids. *Planta Medica*, **66**, 206-210.
- 30- **D-Q. Jin, C. Seung Lim, J.Y. Sung, H. Gil Choi, I. Ha, J.S. Han** (2006). Ulva conglobata, a marine algae, has neuroprotective and anti-inflammatory effects in murine hippocampal and microglial cells. *Neuroscience letters*, **402**, 154-158.
- 31- **Y.Okai and K.Higashi Okai** (1997). Potent anti-inflammatory activity of pheophytin a derived from edible green algae enteromorpha prolifera (Sujiao-nori). *Int. J.Immunopharmacol.*, **19**, 355-358.
- 32- **N. Vidyavathi et K.R. Sridhar** (1991). Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the Mangalore Coast of India. *Botanica Marina*, **34**, 279-284.
- 33- **G.S.B. Viana, A.L.P. Freitas, M.M.L. Lima, L.A.P. Vieira, M.C.H. Andrade et N.M.B. Benevides** (2002). Antinociceptive activity of sulfated carbohydrates from the red algae *Bryothamnion seaforthii* (Turner) Kütz. and *B. triquetrum* (S.G. Gmel.) M. Howe. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **35**, 713-722.
- 34- **L.A.P. Vieira, A.L.P. Freitas, J.P.A. Feitosa, D.C. Silva and G.S.B. Viana** (2004) The alga *Bryothamnion seaforthii* contains carbohydrates with antinociceptive activity. *Brazilian journal of Medical and Biological Research*, **37**, 1071-1079.
- 35- **S.A. Neves, A.L.P. Freitas, B.W.S. Souza, M.L.A. Rocha, M.V.O. Correia, D.A. Sampaio et G.S.B. Viana** (2007). Antinociceptive properties in mice of a lectin isolated from the marine alga *Amansia multifida* Lamouroux. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **40**, 127-134.
- 36- **L. M. C. M. Silva, V. Lima, M. L. Holanda, P. G. Pinheiro, J. A. G. Rodrigues, M. E.P. Lima et N. M. B. Benevides** (2010). Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of Lectin from Marine Red Alga *Pterocladia capillacea*. *Biol. Pharm. Bull.*, **33**(5), 830-835.
- 37- **H. Nakamura, Y. Mizushima, Y. Seto, S. Motoyshi et T. Kadokawa** (1985). Dexamethasone fails to produce antipyretic and analgesic actions in experimental animals. *Agents and actions*, **16**, 542-547.
- 38- **M. J. Vázquez-Freire, M. Lamela et J. M. Calleja** (1994). *Laminaria ochroleuca*: A preliminary study of its effect on the central nervous system. *Phytotherapy Research*, **8**(7), 422-425.
- 39- **M. J. Vázquez-Freire, E. Castro, M. Lamela et J.M. Calleja** (1995). Neuropharmacological effects of *Cystoseira usneoides* extract. *Phytotherapy Research*, **9**(3), 207-210.
- 40- **H.S. Baig** (2004). These de doctorat en biologie à l'université de Karachi au Pakistan; Pharmacological activities of *Sargassum* and study associated harmful dinoflagellates in the coastal waters of Pakistan.