

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
24 janvier 2013 (24.01.2013)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2013/012302 A2

(51) Classification internationale des brevets : Non classée

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/MA2012/000012

(22) Date de dépôt international :
26 juin 2012 (26.06.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
34033 15 juillet 2011 (15.07.2011) MA

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH**
[MA/MA]; Route d'Imouzzar, B.P. 2626, Fes (MA).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **BOUSTA, Dalila** [MA/MA]; 16 Rue LaKlak, Quartier Tarik II, 30 000 Fès (MA). **EL MANSOURI, Latifa** [MA/MA]; N° 103, Av. Bir Anzarane, Hay MLY Sliman, 52450 Rissani (MA). **ABDESLAM, Ennabili** [MA/MA]; 47 Res. Mabrouka, Imm. B Hay Badr, BP 8691, 30 000 Fès (MA).

(74) Mandataire : **BENZIANE, Zineb**; Route d'Imouzzar, B.P. 2626, Fes (MA).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g))

(54) Title : PRODUCTION OF A NATURAL ANTI-INFLAMMATORY/ANTI-OEDEMA SYRUP BASED ON AQUEOUS EXTRACTS OF PLANTS ORIGINATING FROM THE SOUTH-EAST OF MOROCCO

(54) Titre : ELABORATION D'UN SIROP ANTI-INFLAMMATOIRE/ANTI-ŒDEME NATUREL A BASE D'EXTRAITS AQUEUX DE PLANTES ORIGINAIRES DU SUD-EST DU MAROC

(57) Abstract : The present invention relates to the production of an improved traditional anti-inflammatory plant medicament in the form of a 100% natural syrup based on five medicinal plants harvested in the Rissani-Errachidia region (south-east of Morocco). This plant medicament is obtained by cold aqueous maceration of five plants (*Rosmarinus officinalis* L., *Phoenix dactylifera* L., *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha pulegium* L., *Mentha suaveolens* Ehrh.) carefully selected on the basis of ethnopharmacological surveys in the abovementioned region, and formulated in the form of a syrup. Firstly, the aqueous macerate of the plants selected, at a dose of 1 g/kg of body weight (b.w.) of the Wistar rat, is evaluated orally; the percentage inhibition of the inflammation is about 82.98%, in comparison with indomethacin 61.7%, 5 hours after induction of inflammation with 0.5% carragenin. The anti-inflammatory capacity of the syrup formulated at 1 g/kg b.w. was also evaluated orally in Wistar rats. A considerable anti-inflammatory capacity of about 84.04%, in comparison with indomethacin, 5 hours after induction of inflammation, was noted. This syrup is a 100% natural anti-inflammatory which is more powerful than indomethacin; it is produced from plants used for recognized traditional purposes. In this respect, it contributes to improving quality of life and to well-being in the case of inflammation.

(57) Abrégé : La présente invention, concerne l'élaboration d'un phytomédicament anti-inflammatoire traditionnel amélioré sous forme de sirop 100% naturel à base de cinq plantes médicinales récoltées dans la région de Rissani-Errachidia (Sud-est du Maroc). Ce phytomédicament est obtenu par macération aqueuse à froid de cinq plantes (*Rosmarinus officinalis* L., *Phoenix dactylifera* L., *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha pulegium* L., *Mentha suaveolens* Ehrh.) sélectionnées soigneusement à la base d'enquêtes ethnopharmacologiques dans la région susmentionnée, et formulées sous forme de sirop. Dans un premier temps, le macérât aqueux des plantes sélectionnées, dosé à 1g/kg de poids corporel (p.c) du rat Wistar est évalué par voie orale; le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est de l'ordre de 82.98 %, en comparaison avec l'indométacine

[Suite sur la page suivante]

WO 2013/012302 A2



61.7%, 5 heures après l'induction de l'inflammation à la carragénine 0.5 %. Le pouvoir anti- inflammatoire du sirop formulé à 1g/kg p.c. a été également évalué par voie orale chez les rats Wistar. Nous avons noté un important pouvoir anti-inflammatoire de l'ordre de 84.04 %, en comparaison avec l'indométacine, 5 heures après l'induction de l'inflammation. Ce sirop est un anti-inflam-matoire 100 % naturel, plus puissant que l'indométacine; il est élaboré à partir de plantes à usage traditionnel reconnu. A ce titre, il participe à l'amélioration de la qualité de vie et au bien être dans le cas d'inflammation.

DESCRIPTION

- Contexte

Cette invention concerne la conception et l'élaboration de phytomédicament traditionnel amélioré à base de cinq plantes médicinales du Sud-est marocain, sélectionnées à partir d'enquêtes ethnopharmacologiques.

5 Il est important de rappeler que dans la majorité des cas, le traitement de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires, médicaments largement répandus et très utilisés en rhumatologie et en traumatologie, ainsi que dans les traitements antalgiques.

Il existe deux types : les anti-inflammatoires stéroïdiens appelés aussi AIS, et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

10 Les AIS sont des dérivés des hormones corticoïdes naturelles fabriquées par la corticosurrénale. En effet, les corticoïdes ont une action anti-œdémateuse, et surtout, une action anti-inflammatoire générale en empêchant la sortie hors des vaisseaux des cellules chargées de déclencher l'inflammation et d'en diminuer l'afflux. Ils sont très puissants, utilisés de façon très large en stomatologie, en ORL et en rhumatologie. Ils ont les inconvénients des corticoïdes (agressivité vis-à-vis de l'estomac, amincissement
15 de la peau, fragilisation des os, aggravation des infections si un traitement antibiotique n'y est pas associé, diminution des défenses immunitaires, en particulier face aux virus, et modification de la répartition des graisses). Un autre problème majeur est celui de la cortico-dépendance qui est la reprise des manifestations pathologiques à l'arrêt du traitement si celui-ci n'est pas interrompu selon un protocole précis et correct. Les AIS,
20 très efficaces aussi, ne sont toutefois pas dépourvus d'effets : brûlures d'estomac et interactions médicamenteuses avec d'autres médicaments comme les anticoagulants.

D'une manière générale, l'utilisation de ces médicaments de synthèse entraîne dans l'organisme humain des effets secondaires incontrôlables (complications digestives, risque infectieux, manifestations neuropsychiques, complications oculaires,
25 complications tendineuses, cancer, etc.) ; d'où l'objet de notre présente invention, ayant pour finalité de développer **un anti-inflammatoire non stéroïdien naturel**, dépourvu de conservateurs et autre adjonction chimique qui pourraient être nuisibles à la santé.

La présente invention se rapporte au domaine de la santé et particulièrement à celui du **phytomédicament traditionnel amélioré** ou du **complément alimentaire**. Cette

30 invention apporte une originalité à l'existant en matière de l'inflammation par l'élaboration d'un phytomédicament à profil **anti-inflammatoire non stéroïdien 100 % naturel**.

- **Etat de la technique antérieure**

La phytothérapie offre de nombreuses plantes aux propriétés anti-inflammatoires, dont
35 l'innocuité est reconnue pour la plupart, et à utiliser dans leur état naturel sous forme d'infusion ou de décoction pour certaines. Pour d'autres, les laboratoires les proposent sous différentes formes : poudre, extraits, teintures-mères (Cassis, Reine des Prés, le Saule, le Curcuma ...).

Les études scientifiques, et particulièrement à visée anti-inflammatoire, des plantes
40 sélectionnées dans cette invention, n'ont fait l'objet d'aucun travail scientifique.

Les cinq espèces étudiées ont été démontrées actives pour d'autres effets pharmacologiques ou biologiques. Ainsi, l'effet anti-arthrite de *Phoenix dactylifera* chez le rat a été prouvé [1]. La partie volatile des autres espèces du sirop élaboré a été
45 testée essentiellement pour d'autres activités biologiques telle l'activité antifongique [2].

L'espèce *Rosmarinus officinalis* est connue comme antioxydante et hépatoprotectrice chez le rat [3]. En outre, l'extrait hydroalcoolique de cette espèce possède un pouvoir anti-ulcérogène en diminuant l'indice de lésion ulcéreuse induite par l'indométacine [4].

Des travaux sur l'activité anti-inflammatoire et anti-oxydante de composés purs,
50 obtenus à partir de plantes issues de la culture *in vitro* de *R. officinalis*, ont été réalisés sur des cellules isolées *in vitro* [5]. D'autres études ont montré que l'extrait méthanolique de *R. officinalis* est connu par son effet antioxydant et antibactérien [6].

L'huile essentielle de l'espèce *Artemisia herba-alba* a été étudiée sur les plans phytochimique et biologique. Il s'est avéré que l'huile essentielle de l'armoise blanche
55 est douée d'un ensemble d'activités telles les activités anti-oxydante, anti-veineuse, antifongique, anti-bactérienne, anti-spasmodique et hypoglycémique [7].

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* a été également étudiée sur le plan phytochimique, et 28 composés chimiques ont été identifiés par GC-FID et GC-MS [8]. Il a été démontré également que l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* est
60 inhibitrice, à plus de 50 %, de l'acétylcholinestérase [9].

- **Description détaillée de l'invention**

Ce sirop est le résultat d'une synergie d'effets de cinq espèces végétales (*Rosmarinus officinalis* L., *Phoenix dactylifera* L., *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha pulegium* L. et *Mentha suaveolens* Ehrh.), sélectionnées pour leurs pouvoirs anti-inflammatoires
65 dans l'arsenal thérapeutique traditionnel de la zone de Rissani-Errachidia (Sud-est du Maroc).

Design expérimental

Exemple 1 : Récolte et identification des cinq espèces étudiées

Les cinq espèces ont été récoltées le mois d'octobre 2010 dans la région de Rissani-ER-
70 Rachidia, identifiées et herborisées à l'herbier de l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA) de Taounate : exsiccata n° INP216 (*R. officinalis*), INP215 (*P. dactylifera*), INP218 (*A. herba-alba*), INP221 (*M. pulegium*) et INP220 (*M. suaveolens*).

Exemple 2 : Extraction aqueuse des cinq espèces

75 Les cinq plantes ont été séchées et broyées. Elles ont été macérées à parts égales dans de l'eau distillée pendant 3 heures avec agitation continue. Ensuite, le macérât a été filtré avec un papier filtre Whatman N°1. Le filtrat obtenu a subi une rota-évaporation (BÜCHI Rotavapor R-205), et un résidu sec a été récupéré avec un rendement de **31.92 %**.

80 **Exemple 3 : Criblage phytochimique de l'extrait sec**

Un criblage phytochimique de l'extrait sec a été réalisé par le biais des techniques décrites par [10, 11, 12, 13, 14, 15]. Ces essais consistent à mettre en évidence la présence d'un certain nombre de groupes chimiques de l'extrait sec des cinq espèces étudiées. Les réactifs de caractérisation utilisés nous ont permis de mettre en évidence

85 les groupes chimiques suivants :

Les flavonoïdes (réaction à la cyanidine), tanins (test au chlorure ferrique), coumarines (test à l'ammoniac), anthraquinones et anthocyanes (test à l'hydroxyde de potassium),

90 saponines (indice de mousse), sapogénines stéroïdiques (test à l'acide sulfurique), glycosides cardiaques (test à l'acide sulfurique), quinones libres (test à l'hydroxyde de sodium), Mucilages (test à l'alcool absolu), oses et holosides (test à l'acide sulfurique et au thymol).

Le macérât contient un certain nombre de familles chimiques telles les flavonoïdes, les tanins, les mucilages, les anthraquinones, les coumarines, les oses et les holosides, connus généralement par leur effet anti-inflammatoire (**Tableau 1**).

95

Tableau. 1 : Criblage phytochimique du macérât des cinq plantes étudiées.

Constituants chimiques	Extrait des cinq plantes
Flavonoïdes	+
Saponosides	-
Tanins	
galliques	+
catéchiques	+
Coumarines	+
Anthraquinones	+
Sapogénines stéroïdiques	-
Glycosides cardiaques	+
Quinones libres	+
Mucilages	+
Oses et holosides	+

NB : (+) : présence, (-) : absence.

Exemple 4 : Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes, composés connus par leur pouvoir anti-inflammatoire

100 Le taux des flavonoïdes, principaux composés chimiques responsables de l'effet anti inflammatoire, a été évalué par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance de la quercétine dans le macérât de plantes étudiées. Plus cette espèce est riche en flavonoïdes, plus la densité optique du macérât est importante. Le spectrophotomètre est préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la quercétine (430 nm). Le sirop élaboré à partir du macérât des plantes est riche en flavonoïdes (**16.934 mg**

105 équivalent en quercétine/g d'extrait sec) (Figure 1).

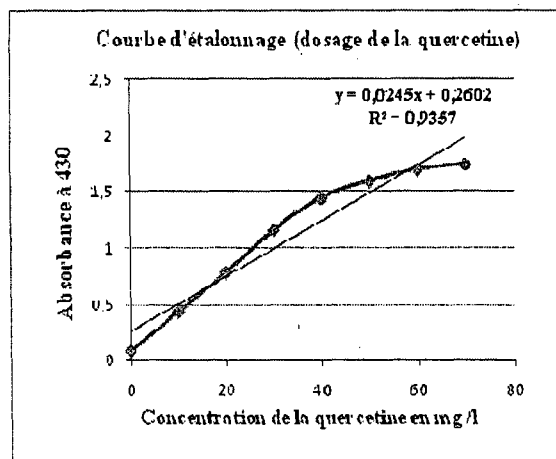


Figure 1. Courbe d'étalonnage de la quercétine en mg/l, un flavonoïde de type flavonol.

Exemple 5 : Extractions des tanins, composés connus par leur pouvoir anti- inflammatoire

La procédure d'évaluation du taux des tanins consiste à réaliser des macérations à 10 %,
 110 répétée 3 fois dans l'acétone à 70 % ; ensuite, les macérâts ont été filtrés et évaporés
 sous pression (BÜCHI Rotavapor R-205). Enfin, le résidu sec est récupéré avec un
 rendement de **21,68%**.

Exemple 6 : Evaluation anti-inflammatoire du macérât aqueux

Les animaux ont été randomisés en groupes témoins et traités et divisés en 5 groupes de
 115 9 animaux chacun. Les animaux du groupe 1 ont été administrés avec une solution
 saline normale (0,9% de NaCl). Les animaux des groupes 2, 3 et 4 ont été administrés
 avec le macérât aqueux des cinq espèces étudiées aux doses de 200, 1000 et 5000
 mg/kg, p.c. Les animaux du groupe 5 ont été administrés avec l'indométacine à la dose
 de 10 mg/kg, p.c. Tous les traitements ont été administrés par voie orale entre 13:00
 120 jusqu'à 14:00 h.

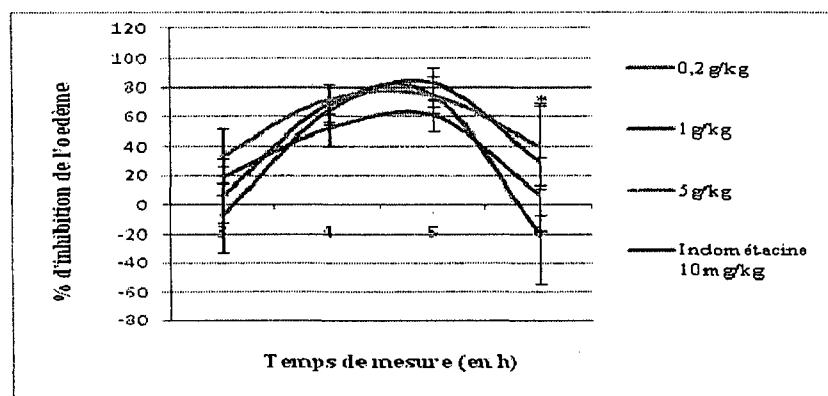
Le macérât administré par voie orale à différentes doses (0.2, 1 et 5 g/kg, p.c.) exerce un
 effet anti-inflammatoire/ anti-œdémateux important (**Tableau 2**).

Le macérât à 1g/kg, p.c. possède le meilleur pouvoir anti-inflammatoire/anti-œdémateux
 de l'ordre de **82.98%**, comparé à celui de l'indométacine (**Figure 2**).

125 La synergie thérapeutique des espèces sélectionnées dans ce travail n'a jamais été étudiée, et selon nos résultats et en comparaison avec d'autres travaux antérieurs, la synergie favorise l'effet pharmacologique de ces plantes.

Tableau 2 : Pouvoir anti-inflammatoire du macérât des cinq plantes étudiées en fonction du temps et de la dose administrée, n= 9.

Traitement	Dose (mg/kg)	Pourcentage d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et de la dose administrée (en %).			
		3h	4h	5h	6h
Indométacine	10	2.34 ± 0.081	2.34 ± 0.099	2.28 ± 0.093	2.28 ± 0.093
Recette	200	2.56 ± 0.107	2.44 ± 0.081	2.4 ± 0.104	2.52 ± 0.177
	1000	2.72 ± 0.203	2.58 ± 0.124	2.48 ± 0.101	2.54 ± 0.169
	5000	2.48 ± 0.124	2.4 ± 0.130	2.38 ± 0.115	2.36 ± 0.102



130 Figure 2 : Pouvoir anti-inflammatoire du macérât par rapport à l'indométacine.

n=9, * : p<0.05 à 6h.

Exemple 7 : Contrôle toxicologie aigu in vivo du macérât aqueux

Le suivi toxicologique des trois doses, en administration unique, a montré que la dose 5 g/kg, p.c. présente un certain nombre d'effets indésirables à savoir une légère
 135 diminution du poids relatif du foie et l'apparition d'ulcérations au niveau de la muqueuse gastrique (Tableau 3).

Nous n'avons noté aucun effet indésirable sur les paramètres étudiés après traitement avec la dose du macérât à 1 g/kg, p.c. (poids et comportement général de l'animal) en comparaison avec le lot témoin.

140 **Tableau 3 : Effet du macérât à la dose 5g/kg p.c. sur le poids relatif du foie, de la rate, de l'estomac et des reins. n= 4**

Groupes	Dose (g/kg p.c.)	Poids corporel (g)	Poids relatif des organes (g)			
			Foie	Estomac	Reins	Rate
Contrôle	0	148±7.21	38.27±0.48	10.58±0.09	3.20±0.09	2.83±0.07
Traité	5	158±23.59	36.43±0.61	9.90±0.06	3.73±0.09	2.70±0.10

Suite à ces résultats, nous avons opté pour la formulation d'un sirop dosé à 1g/kg, p.c.; ensuite, il a été administré aux animaux. Le sirop formulé présente une activité anti-inflammatoire importante en comparaison à celle de l'indométacine, soit **84.04%**

145 (Figure 3).

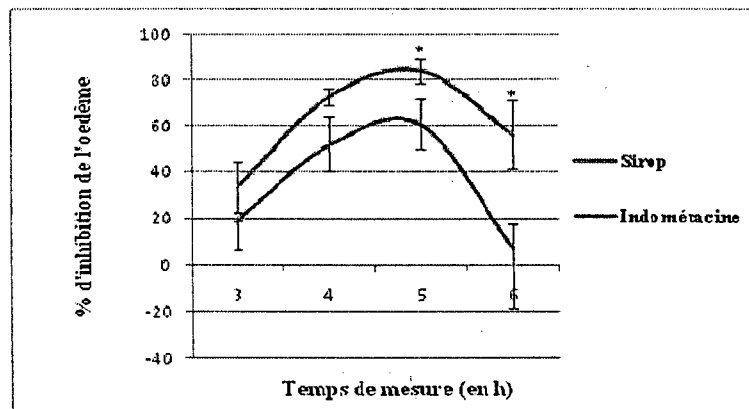


Figure 3 : Profil anti-inflammatoire du sirop élaboré, n=9, p<0.05.

Aucun signe de toxicité aiguë n'a été noté chez les animaux traités avec le sirop formulé (1g/kg, p.c.) (Tableau 4).

Tableau 4 : Effet du sirop formulé sur le poids relatif du foie, de la rate, de l'estomac et des reins. N= 6

Groupes	Dose (g/kg p.c)	Poids corporel (g)	Poids relatif des organes (g)			
			Foie	Estomac	Reins	Rate
Contrôle	0	148±7.21	38.27±0.48	10.58±0.09	3.20±0.09	2.83±0.07
Traité	1	111.33±16.16	38.69±0.51	12.43±0.22	3.40±0.01	3.02±0.03

Revendications

1. Une enquête ethno-pharmacologique a été menée dans la région de Rissani Errachidia (Sud-est du Maroc).
2. Les plantes récoltées, selon la revendication 1, sont préconisées dans le traitement des maladies accompagnées de symptômes inflammatoires, représentant **26 %** de l'ensemble des **50** pathologies traitées par la médecine traditionnelle.
3. Les *Lamiaceae* (15.21 %) et les *Astéraceae* (11.5 %), suivant les revendications 1 et 2, sont les familles les plus utilisées dans la zone d'étude.
4. Utilisation selon les revendications 1 à 3, caractérisée en ce que *Artemisia herba-alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Phoenix dactylifera* et *Mentha suaveolens* sont les espèces les plus utilisées sur le plan thérapeutique dans la zone d'étude, avec des taux respectifs de 5.1 %, 3.05 %, 1.69 %, 3.72 % et 1.36 %.
5. Utilisation selon les revendications 1 à 4, caractérisée en ce que les espèces constituant la présente invention sont au nombre de cinq : *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha pulegium* L., *Mentha suaveolens* Ehrh., *Phoenix dactylifera* L. et *Rosmarinus officinalis* L.
6. Utilisation selon les revendications 1 à 5, caractérisée en ce que les feuilles de *Artemisia herba-alba*, *Mentha pulegium*, *Mentha suaveolens* et *Rosmarinus officinalis*, et les fruits de *Phoenix dactylifera* ont été récoltés ; les feuilles des quatre premières espèces ont été séchées et broyées, et les fruits de *P. dactylifera* ont été utilisés à l'état frais.
7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le macérât aqueux est constitué à parts égales de chaque espèce.
8. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que l'extraction **des principes actifs** a été réalisée par macération aqueuse à froid avec une agitation continue pendant 3 heures.

9. Le macérât, selon les revendications 1 à 8, est filtré et évaporé sous pression (BÜCHI Rotavapor R-205).
10. Utilisation selon les revendications 1 à 9, caractérisée en ce que le résidu sec est récupéré avec un rendement de 31.92 %.
- 30 11. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que le résidu sec a subi un ensemble de tests phytochimiques (Tableau 1).
12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce qu'une macération à 10 %, répétée 3 fois dans l'acétone à 70 %, a été réalisée pour l'extraction des tanins dans le mélange des plantes étudiées.
- 35 13. Utilisation selon la revendication 12, caractérisée en ce que les trois macérâts sont filtrés.
14. Utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce que les 3 filtrats sont récupérés et évaporés sous pression (BÜCHI Rotavapor R-205).
15. Le résidu sec, selon la revendication 14, est récupéré avec un rendement de
40 21.68 %.
16. Le résidu sec, selon la revendication 10, est mis dans l'eau à une concentration de 1g/l.
17. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que 1 ml de la solution est mélangé à 1 ml d'une solution méthanolique d'AlCl₃ (2 %).
- 45 18. Utilisation selon les revendications 16 et 17, caractérisée en ce que le mélange est incubé pendant 20 min à l'obscurité ; l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre sous UV à 430 nm (JENWAY 6505 UV/Vis Spectrophotometer) [16], et le taux des flavonoïdes a été évalué (16.934 mg/g d'extrait).
19. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée

- 50 en ce que le macérât est récupéré dans une solution de NaCl (0.9 %) pour les tests toxico-pharmacologiques.
20. Utilisation selon la revendication 19, caractérisée en ce que le macérât est administré par voie orale à une dose de 1g /kg, p.c. une heure avant l'induction de l'inflammation.
- 55 21. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'inflammation a été induite par injection de la carragénine 0.5 % sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat Wistar [17].
22. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'effet anti-inflammatoire du macérât est évalué par la mesure de la
- 60 circonférence de la patte avant et après l'injection de la carragénine à 3, 4, 5 et 6 heures à l'aide d'un fil de coton enroulé sur la patte [18].
23. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est calculé selon la formule suivante :
- 65
$$\% \text{ inhibition} = [(S_t - S_0)_{\text{contrôle}} - (S_t - S_0)_{\text{traité}}] / (S_t - S_0)_{\text{contrôle}}$$
24. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le pourcentage d'inhibition de l'inflammation du macérât est de l'ordre de 82.72 %, 5 heures après l'induction de l'œdème.
25. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes,
- 70 caractérisée en ce qu'un contrôle toxicologique de la dose 5g/kg, p.c. a été réalisé dans le but de déterminer le seuil toxique du macérât.
26. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'une administration unique de la dose 5g/kg, p.c., a été évaluée en contrôlant le poids, le comportement général et le poids des organes
- 75 des animaux.

27. Utilisation selon la revendication 26, caractérisée en ce que l'étude morphologique et le poids relatif des organes ont été réalisés selon la formule suivante :

$$\text{ROW} = (\text{poids d'organe/poids corporel}) \times 1000 \text{ [19].}$$

80 28. Le macérât, selon les revendications 1 à 10, est formulé avec le saccharose.

29. Cinquante grammes de saccharose sont mis dans 27 ml d'eau purifiée.

30. Le mélange, selon la revendication 29, est mis au bain-marie à une température de 80°C.

31. Le mélange, selon les revendications 29 et 30, a été filtré.

85 32. Dans **11 ml** d'eau purifiée, nous avons dissous **3.8 g** du macérât.

33. Selon les revendications 28 à 32, le sirop est élaboré par mélange des différentes parties par agitation magnétique.

34. Le sirop élaboré, selon la revendication 33, est administré par voie orale aux rats Wistar, 1 heure avant l'induction de l'inflammation.

90 35. Utilisation selon la revendication 34, caractérisée en ce que l'effet anti-inflammatoire du sirop est évalué.

36. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que des contrôles toxicologiques aigus du sirop formulé ont été réalisés après une administration unique ; les rats ont été suivis pendant 72 heures.

95 37. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que les études de sécurité préclinique du sirop, objet de cette invention, ne montrent aucune modification significative des paramètres suivis [comportement général, aspect morphologique et poids relatif des organes (foie, estomac, reins et rate)], en comparaison avec les animaux témoins.

- 100 38. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le sirop formulé est visqueux, limpide et caractérisé par une couleur brune et un goût légèrement amer. Il peut être conservé pendant un mois à 4°C.
- 105 39. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le sirop, objet de l'invention, est dosé à **1g/kg p.c.** chez l'animal ; **théoriquement**, il peut être utilisé chez un homme de 60 kg à une dose journalière admissible (DJA) de l'ordre de **10 mg/kg p.c** ou **600 mg** par jour sans risque pour la santé.