

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/FSNVST/DSA/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Agro-alimentaire et contrôle de qualité

Présenté par :

BOUBEKEUR Leila & MECHAT Celia

Thème

**Etude des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles
d'une plante médicinale locale *Inula Viscosa***

Soutenu le: 14 / 09 /2022

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr. RAI</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ. Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme CHEKROUNE M.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mr. HANSALI K.</i>	<i>Dr</i>	<i>Univ. O. Chine</i>	<i>Co-Promoteur</i>
<i>Mme FERHOUM F.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

On remercie, Dieu, le tout puissant pour nous avoir donné la foi qui nous a guidé jusqu'à la réalisation et l'aboutissement de ce projet.

*Tout d'abord, on tient à remercier notre promotrice **Madame CHEKROUNE** pour sa qualité d'enseignement, pour le suivi qu'elle nous a accordé au déroulement de ce mémoire, on vous suis très reconnaissantes de nous avoir encadrés, d'avoir dirigé ce travail et d'avoir veillé à son élaboration en ne ménageant aucunement votre temps et vos conseils.*

*Un immense merci à **Mr Hansali** notre co-promoteur pour leur aide et leur disponibilité tout au long de notre stage .*

*On tient à remercier très vivement **Monsieur RAI** qui nous a honorés en acceptant d'être président de ce jury*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Madame FERHOUM** de nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire.*

Nous tenons à remercier également tous les gens qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail

Qu'Allah le clément et miséricordieux vous accorde son aide dans tous vos projets et toute votre vie quotidienne

Dédicaces

A la femme qui a souffert sans me laisse souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

A ma chère mère

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et de ces dévouements. Ainsi que son mari qui m'a encouragé et soutenir toutes au long de mes études

A ma chère grande sœur et son mari

A celui, pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et a qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitude

A mon cher mari

A ma binôme, Leila qui a partagé avec moi ces moments.

A mes chers : père, frères et leurs femmes, mes sœurs, mes petits nièces, neveux et mon amie Lylia

A tous ceux que j'aime

Célia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À ma chère mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

À celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenu tout au long de ce projet : mon mari rida, et bien-sûr À mes frères : Mohand fahem Samir et ma sœur farida sans oublié ma belle sœur Lynda

À ma binôme Célia et son mari pour ces encouragements tout au long de ce travail

*À toute ma famille, et ma belle famille et mes amis surtout Lylia
Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci*

Leila

Sommaire

Remerciements

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les plantes médicinales et la phytothérapie

I. La phytothérapie.....	3
I.1. Historique.....	3
I.2. Définition.....	4
I.3. Types de phytothérapies.....	5
I.4. Principe de la phytothérapie.....	5
I.5. Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales.....	5
I.5.1. L'infusion.....	5
I.5.2. La décoction.....	6
I.5.3. La macération	6
I.5.4. Cataplasme.....	7
I.6. Différentes formes d'utilisation des plantes médicinales.....	7
II. L'inule visqueuse.....	7
II.1. Définition.....	7
II.2. Etymologie.....	8
II.3. Taxonomie.....	8
II.4. Description de la plante.....	8
II.5. Répartition géographique.....	9
II.6. Principes actifs.....	9
II.7. Les Parties utilisées de la plante.....	10
II.8. Indication thérapeutique et usage traditionnelles d' <i>inula viscosa</i>	10

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes.....	11
I.1. Matériel végétal	11
I.2. Méthodes d'analyses.....	11
I.2.1. La récolte.....	11
I.2.2. Séchage et broyage.....	12
I.2.3. Tamisage.....	12
I.2.4. Conservation.....	13
I.3. Caractérisation physico-chimiques de la plante <i>Inula viscosa</i>	13
I.3.1. Détermination la teneur d'eau	13
I.3.2. Détermination du taux de cendres.....	13
I.3.3. Détermination du pH.....	14
I.3.4. Mesure de la conductivité électrique.....	14
I.3.5. Détermination de l'acidité titrable.....	15
I.4. Dosages des composés phénoliques.....	15
I.4.1. Préparation des extraits.....	15
I.4.2. Dosage des Polyphénols totaux.....	16
I.4.3. Dosage des flavonoïdes.....	18
I.4.4. Dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH).....	18
I.5. Etude de l'activité anti-inflammatoire d' <i>inula viscosa</i> in vitro.....	19
I.5.1. Inhibition de la méthode de dénaturation des protéines.....	19
I.5.2. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouge humaine.....	20
I.6. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	20
I.6.1. Préparation de l'inoculum (la revivification des souches bactérienne).....	21
I.6.2. Ensemencements.....	21
I.6.3. Test de sensibilité des germes à l'extrait aqueux.....	21

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Caractéristique physicochimique d' <i>inula viscosa</i> (L).....	22
I.1. La teneur en eau.....	22
I.2. La teneur en cendre.....	22
I.3. L'acidité.....	23
I.4. Valeur de PH.....	23

I.5. Evaluation conductivité de la plante.....	23
II. Dosages des composés phénoliques.....	23
II.1. Les flavonoïdes.....	23
II.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire (DPPH).....	24
II.3. Détermination de la teneur en poly phénol totaux.....	26
III. L'activité anti-inflammatoire d' <i>inula viscosa</i> in vitro.....	27
III.1 Inhibition de la méthode de dénaturation des protéines.....	27
III.2. Stabilisation de la membrane des globule rouge humaine.....	28
VI. Test de sensibilité.....	29
VI.1. Discussion.....	30
Conclusion.....	33
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

Abs C : Absorbance témoins.

Abs E : Absorbance extrait.

AOAC: Association of Official Agricultural Chemists

BSA : Albumine de Sérum Bovin

Cd : LA teneur en cendre.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DPPH : Di Phenyl Picryl Hydrazyl.

DO : Densité Optique.

EAIV : Extrait Aqueux Inule Visqueuse.

EC 50 : Concentration inhibitrice de 50 %.

EFIV : Extrait frais Inule Visqueuse.

EIV : Extrait Inule Visqueuse

GN : Gélose nutritive.

H % : Humidité.

MGRH : Membrane des Globules Rouges Humains.

M 1 : Masse de la capsule vide + matière fraîche avant séchage en gramme.

M 2 : Masse de l'ensemble après séchage en gramme.

M₁ : Masse de la capsule contenant la prise d'essai.

M2 : Masse de la capsule contenant les cendres.

méq.g/100 g : milliéquivalent gramme par cent gramme d'extrait.

mg EAG/gE : milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

mg EQ/gE : milligramme équivalent quercitine par gramme d'extrait.

MO % : matière organique.

P : Masse de la prise d'essai en g.

PI : Pourcentage d'inhibition.

N1 : normalités de préfiltre.

N2 : normalité de la solution NaOH.

V1 : Volume de filtrat.

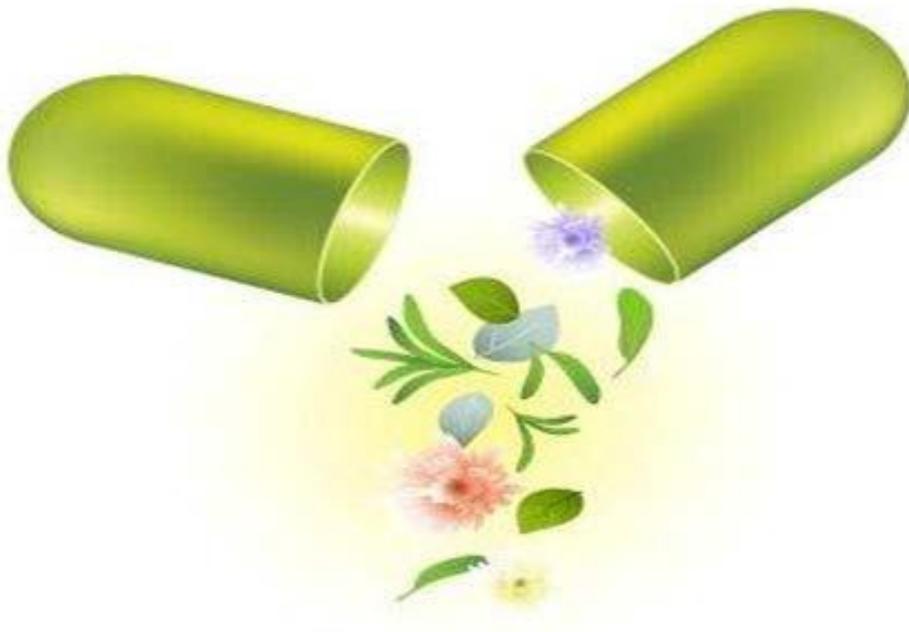
V2 : Volume de la solution de NaOH.

Liste des figures

Figure 01 : Tablette babylonienne mentionnant une formule.....	03
Figure 02 : Fragment du Papyrus d'Ebers.....	03
Figure 03 : Image d'infusion.....	05
Figure 04 : Image de décoction.....	05
Figure 05 : Image de la macération.....	06
Figure 06 : Images de cataplasme.....	06
Figure 07 : La plante médicinale <i>Inula Viscosa</i>	08
Figure 08 : Situation géographique du site de collecte d' <i>Inula viscosa</i>	11
Figure 09 : Image de lieu de la récolte.....	12
Figure 10 : Séchage des feuilles de la plante <i>I.viscosa</i>	12
Figure 11 : Schéma de préparation des extraits éthanoyiques	16
Figure 12 : Schéma de dosage des polyphénols (Folin- Ciocalteu).....	17
Figure 13 : Schéma des étapes dosage des flavonoïdes.....	18
Figure 14 : Diagramme de quantité de flavonoïdes.....	24
Figure 15 : Réaction d'un antioxydant avec le DPPH.....	24
Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH.....	25
Figure 17 : Diagramme de quantité des phénols totaux dans les extrait poudre et frais.....	26
Figure 18 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation BSA.....	27
Figure 19 : Effet de diclofénac et EIV sur la stabilisation de la membrane.....	28
Figure 20 : Résultat de l'étude de la sensibilité.....	29

Liste des tableaux

Tableau 01 : Coordonnées géographiques de lieu de la récolte.....	11
Tableau 02 : Paramètre physico chimique d' <i>inula viscosa</i>	22
Tableau 03 : Résultat du test Antioxydant exprimant la EC50.....	25



Introduction

Introduction

Depuis plusieurs années, les effets défavorables et dangereux des traitements médicamenteux tels que l'immunosuppression, la corticothérapie au long terme, l'antibiothérapie à large spectre ou encore la radiothérapie sont très importants. Face à ce constat, les scientifiques tentent d'explorer des approches thérapeutiques alternatives plus naturelles, notamment celles issues des plantes, afin de contrebalancer les effets néfastes des médicaments. [1]

Les ouvrages sur les plantes médicinales augmentent à un rythme alarmant. Enseignants et guérisseurs, pharmaciens et médecins, herboristes et journalistes, s'expriment librement sur ce sujet. C'est la preuve évidente que les plantes médicinales suscitent l'intérêt du public. [2]

La phytothérapie est la pratique de prendre soin de soi avec des produits naturels. Près de 95 000 plantes ont été découvertes sur notre planète pour leurs bienfaits médicinaux. Aussi diverses et nombreuses soient-elles, les "simples", comme elles préfèrent être appelées, offrent un panel de vertus vitales pour soigner les maladies et les petites plaies. Les plantes et leurs extraits sont connus depuis longtemps pour leurs propriétés médicinales. [3]

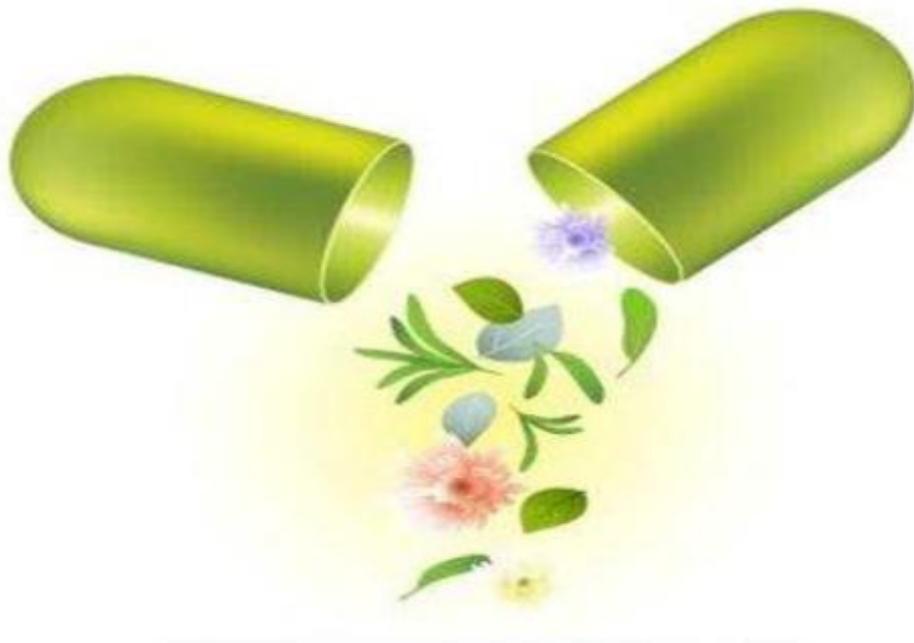
Bien entendu, notre époque se définit par la recherche d'un mode de vie sain, d'un retour à la nature et de valeurs fondamentales. Cependant, le succès de la Phytothérapie s'explique avant tout par le niveau de compétence technologique et scientifique aujourd'hui atteint dans ce domaine. L'agronomie, la chimie et la pharmacologie ont progressé, permettant le développement de formulations thérapeutiques et galéniques plus sûres, plus appropriées et plus efficaces. La phytothérapie apparaît comme la réaction idéale aux "maladies du siècle" qui caractérisent nos sociétés. [4]

L'Algérie a un environnement très diversifié et les plantes prospèrent abondamment dans les régions côtières, montagneuses et sahariennes. Ces plantes ont le potentiel d'être des traitements naturels qui peuvent être utilisés à la fois de manière curative et préventive. En Kabylie surtout les plantes médicinales n'ont jamais été abandonnées et les populations n'ont jamais cessé de pratiquer la médecine traditionnelle, ce qui a permis de préserver une tradition thérapeutique vivante malgré les progrès remarquables de la médecine moderne. [5]

❖ Problématique

Dans le monde actuelle y'a lieu de plusieurs maladies appelée maladie de siècle, citant par exemple, les maladies d'articulations « arthroses », diabète, le goitre, ovaires polykystique etc... dont la médecine nous as proposée que des traitements calment , et ces traitements qui sont a base des produits chimiques peuvent provoquer des effets secondaire indésirable et voir même mortels , en effet les biologistes ont proposés des traitements a base des plantes « la phytothérapie », qui jouent le rôle d'un remède et sans effet secondaire dangereux au même temps .

Alors on as pensé d'une part de mettre en lumière la phytothérapie et d'une autre part d'étudier l'action sur l'organisme de l'une des plantes locales qui est l'inule visqueuse « *inula viscosa* » sachant que cette plante est utiliser par les anciens indigènes de notre région depuis l'ex-temps pour soulager les douleurs des articulations, Ce travail est une contribution à l'étude physicochimique, phytochimique, anti-inflammatoire et antibactérienne de la partie aérienne de la plante.



Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Les plantes médicinales et la phytothérapie

I. La phytothérapie

I.1. Historique

Le premier texte connu sur la médecine des plantes est écrit sur une tablette d'argile et a été écrit par des Sumériens en caractères cunéiformes il y a 3000 ans av j.-c. (**Figure 01**).[6]

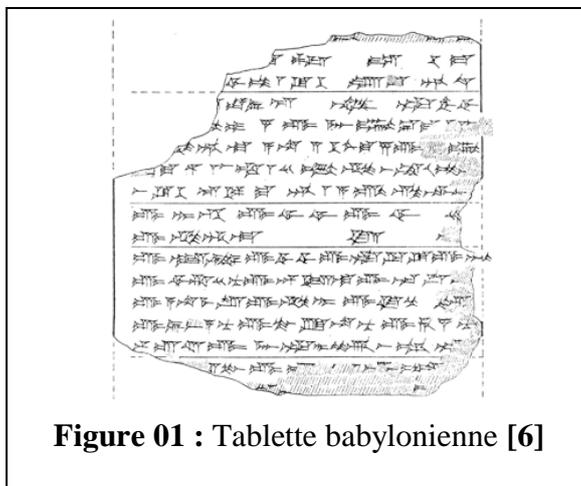


Figure 01 : Tablette babylonienne [6]

L'Égypte fournit encore un autre exemple de l'utilisation ancienne des herbes médicinales, il s'agit du **papyrus Ebers**, (**Figure 02**), en 1600 av J.-C. [7]

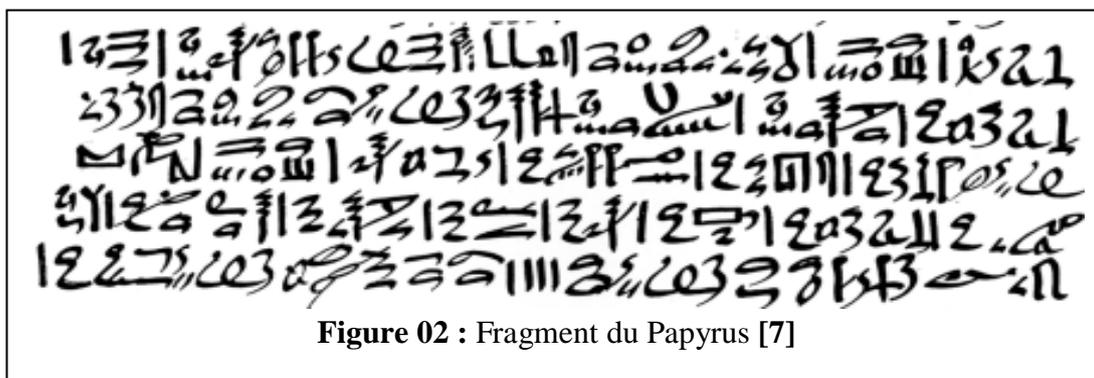


Figure 02 : Fragment du Papyrus [7]

Abu Bakr Arazi ou Rhazes (865-925), a laissé plus de cinquante publications. Il fut remplacé par Ibn-Sina ou Avicenne (980-1037), qui créa le Canon de la Médecine. [9] [10] Le botaniste arabe et andalou Abu al-Abbas al-Nabati, a introduit la méthode expérimentale dans la botanique, la médecine et l'agronomie au XIIIe siècle. [11]

Au XVIe siècle, Paracelse introduit la notion de principe actif. [8] La phytothérapie a été abandonnée au XXe siècle au profit de composés issus de la chimie de synthèse. La phytothérapie gagne en popularité de nos jours. Cependant, ces deux thérapies ne doivent pas être considérées comme antagonistes, mais plutôt complémentaires au bien-être du patient, qui est l'objectif premier de la médecine. [12]

I.2. Définition

Le terme « phytothérapie » est dérivé de deux mots grecs, phytos et therapeua, qui signifient respectivement « plante » et « traitement ». [13]

Avant tout, la phytothérapie se caractérise comme une discipline allopathique centrée sur l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales sur la base des savoirs traditionnels. Il vise à prévenir ou à traiter certaines anomalies fonctionnelles mineures ou états pathologiques à l'aide de plantes, de parties de plantes ou de préparations de plantes, qu'elles soient consommées ou appliquées par voie externe. [13]

La phytothérapie moderne dite "clinique", quant à elle, emploie la plante médicinale conformément à toutes les données issues des connaissances pharmacologiques et à certaines données ancestrales confirmées par la pratique clinique, en les réintégrant dans le contexte de l'actualité scientifique, médicale et connaissances pharmacologiques, prenant en compte la notion de totum, les mécanismes de synergie et de potentialisation des différents constituants d'une même plante et des plantes entre elles, ainsi que les réactions physiologiques cliniques qu'elles provoquent sur un individu donné, tout en tenant compte du système de régulation du système endocrinien de sa fonctionnalité. [13]

I.3. Types de phytothérapies

✓ La phytothérapie traditionnelle

Il s'agit d'un type de thérapie de remplacement destiné à traiter les symptômes d'une maladie. Elle repose sur l'utilisation des plantes en fonction de leurs bienfaits découverts scientifiquement, et ses origines peuvent parfois être assez anciennes. Ils s'intéressent particulièrement aux maladies saisonnières. [14]

✓ La phytothérapie en clinique

Une évaluation clinique complète, ainsi qu'une approche large du patient et de son environnement, sont nécessaires pour choisir un traitement. Son mécanisme d'action repose sur un traitement à longue durée ciblant le système neuro-végétatif. Les indications de cette classe sont liées aux thérapies complémentaires. Ils complètent ou renforcent l'efficacité des traitements allopathiques traditionnels pour des maladies spécifiques. [15]

I.4. Principe de la phytothérapie

La phytothérapie est basée sur l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales. Les fabricants de produits pharmaceutiques extraient l'ingrédient actif des plantes pour fabriquer des médicaments en médecine traditionnelle. [16]

I.5. Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales

I.5.1. L'infusion

Le principe est simple : verser de l'eau bouillante sur la plante (une cuillère à café de plante par tasse) et laisser infuser pendant dix à vingt minutes. [17]. (Figure 03)



Figure 03 : Image d'infusion
(Original)

I.5.2. La décoction

Cette méthode s'applique principalement aux parties souterraines de la plante, telles que les racines et l'écorce, qui ont du mal à libérer les principes actifs lors d'une infusion. Cette méthode consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant « infuser » dans de l'eau avant de la porter à ébullition pendant une vingtaine de minutes, soit jusqu'à ce que le liquide ait réduit d'un tiers. Retirer du feu et laisser infuser (et refroidir) pendant une heure avant de filtrer. [17] (Figure 04)



Figure 04 : Image de décoction [17]

I.5.3. La macération

Les plantes sont macérées en les trempant dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. La macération des plantes dans l'alcool, la glycérine ou un autre solvant est également possible. [17] (Figure 05)



Figure 05 : Image de la macération [17]

I.5.4. Cataplasme

Il fonctionne sur le même principe que les compresses, sauf que les herbes sont utilisées directement plutôt qu'en infusion. Les plantes sont hachées grossièrement, puis chauffées dans une casserole, recouverte d'un peu d'eau, et mijotées pendant deux à trois minutes. Les herbes sont ensuite pressées et déposées sur la zone à traiter. Couvrir avec un pansement ou un morceau de gaze. [17] (Figure 06)



Figure 06: Images de cataplasme [17]

I.6. Différentes formes d'utilisation des plantes médicinales

On peut utiliser le principe actif de la plante sous plusieurs forme citant : Tisane, teinture, sirop, compresses, pommade, les crèmes, inhalation, les bains, gélules et comprimées...etc. [17] [18] [19]

II. L'inule visqueuse

II.1. Définition

L'inule visqueuse est une Plante bien connue et couramment utilisée en médecine traditionnelle, originaire des régions méditerranéennes. Il appartient à la famille des astéracées. Dans le monde des plantes, cette famille est parmi les plus connues. Selon Guignard en 1994 [20], il compte plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. Selon Quszel et Santa, entre (1962-1963) [25], il y aurait également 109 genres et 408 espèces en Algérie et 111 genres et 638 espèces en France. Selon les recherches de Ciccarelli en 2007 [21], l'inule visqueuse a été classée comme membre du genre *Dittrichia* (*Dittrichia viscosa*) car elle diffère des autres plantes du genre *Inula* par la présence de poils glanduleux sur l'ovaire.

II.2. Etymologie

Inula pourrait provenir de mot grec *Inéo*, qui signifie « je purge », allusion à une des propriétés thérapeutique de la plante, et *Viscosa*, qui signifie « visqueuse » ou « visqueuse Aunée ». [22] [23]

❖ Autres appellations :

Nom scientifique : *Dittrichia viscosa* (L), *Inula viscosa*. [24]

Nom vernaculaire : Amagramane, magramane, Mersitt [25]

Nom arabe : El tibek, el tayoun

Nom français : Inule visqueuse, Aunée visqueuse

Nom anglais : Rock Flea-bane [26]

Au Maroc on la trouve sous le nom Trehla [27]

II.3. Taxonomie

D'après Fournier en 1947 [23], la position systématique de l'inule visqueuse est comme suite :

Règne.....Plantae
Embranchement.....Spermaphytes
Sous-embranchement.....Angiospermes
Classe.....Dicotylédones
Ordre.....Campunulales
Famille.....Compositae
Genre.....*Inula*
Espèce.....*I.viscosa* L.

II.4. Description de la plante :

Inula viscosa est une espèce particulièrement mellifère [28] [29]. C'est un arbuste vivace [25] [30], sa croissance est rapide, pousse de 50 cm à 1 m de haut [25], fleurit en été et en automne. [26] [31] [32]

- ❖ Les feuilles sont simples, caduques, opposées, entières, ovales, acuminées, de 2 à 3 cm de long, et de 1 à 1,5 cm de large [30]. Elles sont visqueuses, sinueuses, sessiles, ondulées, dentées, aiguës, rudes. [25] [31] [33]
- ❖ Les fleurs sont de couleur jaune à odeur forte [30].
- ❖ Les fruits sont des akènes à aigrette grisâtre, cylindriques et sont étranglés puis renflés au sommet. [25] [34]
- ❖ Les poils glandulaires de la plante émettent une résine collante et parfumée. [35]



Figure 07 : La plante médicinale *Inula viscosa* (Original ,2021).

II.5. Répartition géographique

Inula viscosa (L) est largement répandue dans le bassin méditerranéen, en Europe (Espagne, France...), Asie (Chine, Turquie, Japon, Korea ...) et en Afrique (Egypte, Algérie, Maroc...) [25], Elle se multiplie souvent dans des sols salés et dans des prairies humides. [36]

En Algérie on la trouve dans les régions de moyenne altitude du Tell, dans les terres garrigues et rocailles ainsi que dans les terrains argileux secs. [15]

II.6. Principes actifs

Une étude menée par Benayache et son équipe en 1991 [37], sur les parties aériennes d'*Inula viscosa* a montré sa richesse en flavonoïde, en terpène et en lactones sesquiterpéniques. Parmi les composés présents dans cette espèce, nous retenons : l'apigénine, quercétine, 2-Ométhylkaempferol (classe des flavonoïdes), 3 β -acetoxydammarane-20, 24-diène (terpène), α -santonine et inulviscolide (sesquiterpènes lactones), comporte également d'autres substances mineures [38] [39]. Cependant, les racines contiennent de nombreuses substances actives comme l'Inuline et le camphre. [23]

II.7. Les Parties utilisées de la plante

Les feuilles et la tige séchées en poudre, ainsi que les feuilles et les racines fraîches, sont les parties les plus couramment utilisées de l'inule visqueuse en médecine traditionnelle. [40]

II.8. Indication thérapeutique et usage traditionnelles

Inula viscosa est une plante herbacée vivace topique utilisée en médecine traditionnelle comme anti-gale, anti-inflammatoire, diurétique et antihypertenseur. [41] Elle est également reconnue pour ses caractéristiques antiseptiques et son efficacité contre les irritations cutanées. [42] Ainsi qu'elle est à la fois désinfectante et cicatrisante. Comme également utilisé pour traiter les problèmes pulmonaires et les maux de tête. [43]

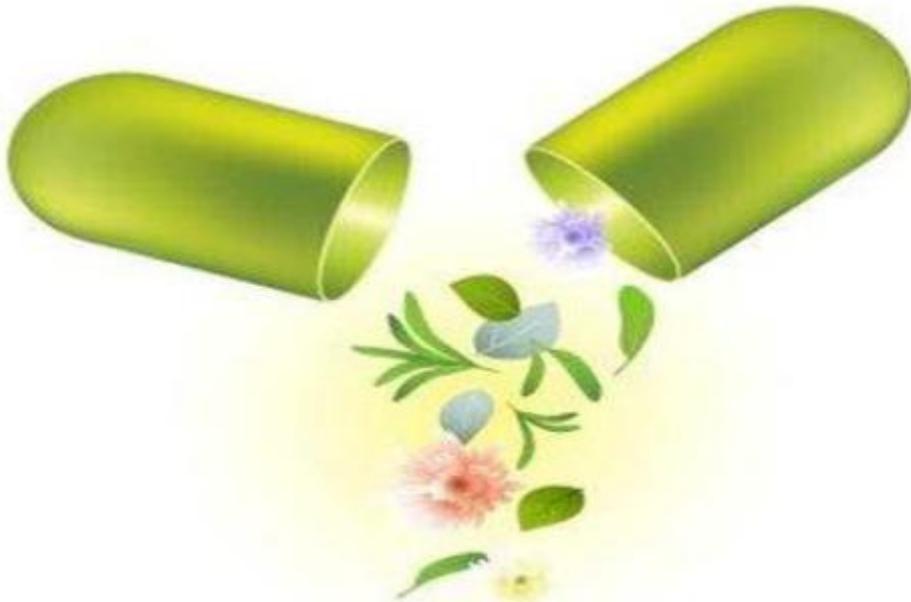
L'inule visqueuse contient une substance visqueuse biologiquement active (antimicrobienne et antifongique). En médecine traditionnelle, elle a été couramment utilisée pour allonger la durée de conservation des aliments [44]. *Inula viscosa* a été largement utilisée comme traitement des plaies. Il agit comme un agent antibactérien et anti-inflammatoire.

Les villageois préfèrent *Inula viscosa* aux médicaments modernes, car il favorise la cicatrisation plus rapide.

La poudre de feuilles d'*Inula viscosa* est séchée, combinée avec de l'huile et appliquée à l'extérieur des parties du corps affectées et pour adoucir la peau sèche et rugueuse.

En cas d'hémorroïdes, une pâte à base de feuilles broyées est mélangée à de l'huile d'olive et utilisée comme pommade.

Pour traiter l'hypertension artérielle et le diabète, les feuilles d'*Inula viscosa* sont bouillies et prises comme tonique. En cas de bronchite et d'autres maladies respiratoires, l'extrait est mélangé à de l'eau bouillante et la tonique consommée. [45]



Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes

Ce travail consiste en une étude physico-chimique et phytochimique, suivie d'une évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne des extraits d'*Inula viscosa* (des feuilles sèches et fraîches).

L'ensemble des manipulations est réalisé au niveau du laboratoire de la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre de l'université Akli Mohand Oulhadj de Bouira (UAMOB) (**annexe 01**).

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la plante *Inula Viscosa* (*Astéraceae*). Et la partie utilisée de la plante est les feuilles à l'état séchées et fraîches (**voire annexe 05**).

I.2. Méthodes d'analyse

I.2.1. La récolte

La récolte de la plante *Inula Viscosa* a été effectuée durant les mois février et mars 2022 dans une région "Avaali" Chorfa de la daïra M'chedallah wilaya de Bouira qui est une région propre loin de tout impact de pollution (**Tableau 01**), (**Figures 08, 09**)

Tableau 01 : Coordonnées géographiques de la station M'chedallah (lieu de la récolte)

Coordonnées géographiques	Latitude: 36.3672030, Longitude: 4.2841557 36° 21' 55" Nord, 4° 16' 15" Est
Altitude	442 m
Climat	Climat méditerranéen avec été chaud (Classification de Köppen: Csa)

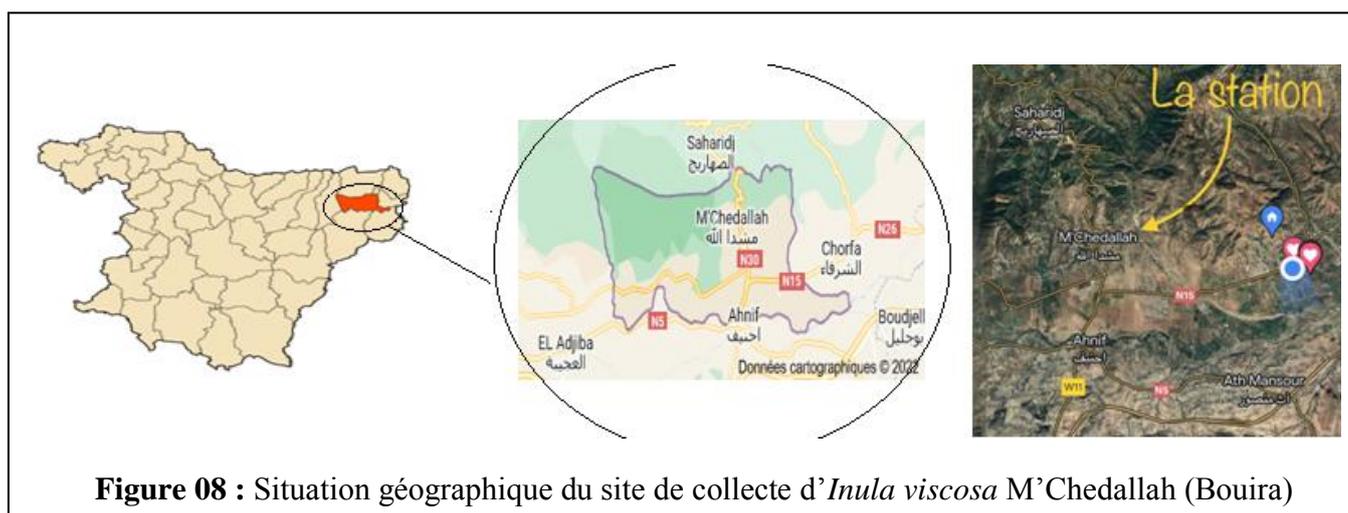


Figure 08 : Situation géographique du site de collecte d'*Inula viscosa* M'Chedallah (Bouira)

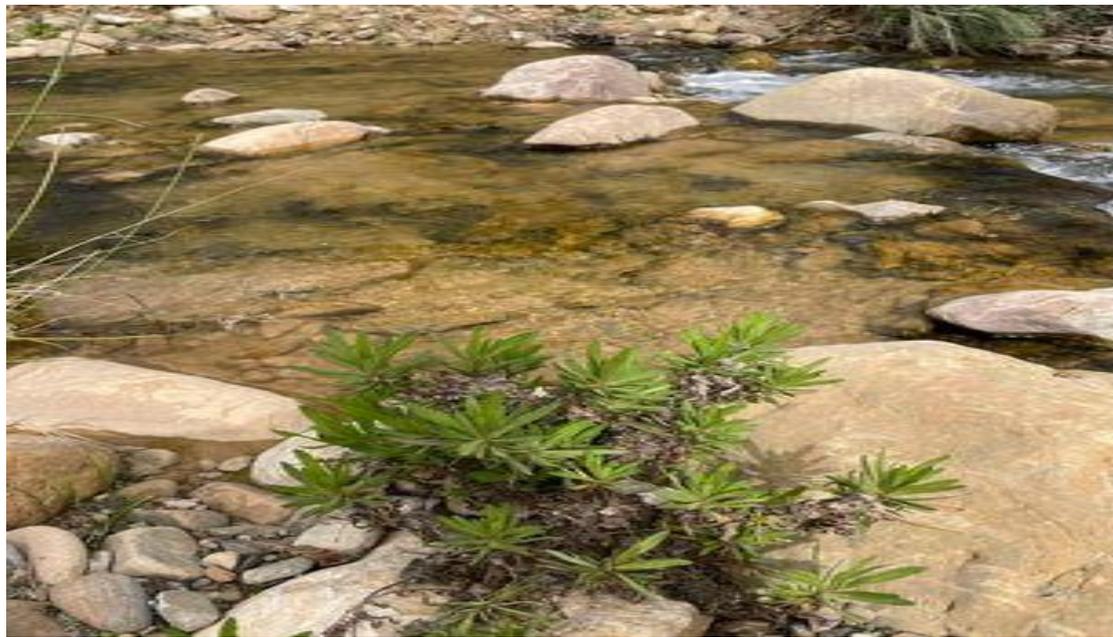


Figure 09 : Image de lieu de la récolte (**originale, 2021**)

I.2.2. Séchage et broyage

Une fois récoltée, les feuilles ont été séparées des tiges et séchées pendant 10 à 15 jours à l'abri de la lumière et de l'humidité à une température (T°) ambiante afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules (**Figure 10**). Ensuite, broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



Figure 10 : Séchage des feuilles de la plante *Inula viscosa*. (**Originale, 2021**)

I.2.3. Tamisage

La poudre issue de broyage des feuilles séchées a été tamisée en utilisant un tamis à mailles 250 μm afin d'obtenir une poudre très fine. (**Voir annexes 05**)

I.2.4. Conservation

Afin d'éviter toutes sortes de contamination, la poudre résultante est conservée à l'abri de la lumière dans des bouteilles en verre jusqu'au moment de leur utilisation.

I.3. Caractérisation physico-chimiques de la plante *Inula viscosa*

I.3.1. Détermination la teneur d'eau (NF T 60-305, Juin 1976)

➤ Principe

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation de 1g de feuille d'*Inula viscosa* dans une capsule en porcelaine puis séchée dans une étuve, à 103°C.

➤ Mode opératoire

Avant de commencer, les capsules vides sont séchées pendant 15 minutes à 103°C dans une étuve ; et mettez-les dans un dessiccateur pour refroidir; nous avons utilisé une balance (KERN 440-35N) pour les peser.

Placer 1 g d'échantillon dans chaque capsule et sécher à 103°C pendant 75 minutes. Placez-les dans un dessiccateur et pesez-les après refroidissement. L'opération est répétée chaque 15 min jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = (M1 - M2) / P \cdot 100$$

Soit :

H % : Humidité.

M 1 : Masse de la capsule vide + matière fraîche avant séchage en g.

M 2 : Masse de l'ensemble après séchage en g.

P : Masse de la prise d'essai en g.

$$\text{Matière sèche} = 100 - H\%$$

I.3.2. Détermination du taux de cendres (NF V05-113, 1972)

➤ Principe

Dans un four à moufle, la poudre de l'inule visqueuse est calcinée à 550°C jusqu'à formation d'une cendre blanchâtre de poids constant. [46]

➤ **Mode opératoire**

Une masse de 2 g d'échantillon est placée dans des capsules en porcelaine et calcinée au four à moufle à 550°C pendant 5 heures, jusqu'à ce qu'une couleur grise apparaisse claire ou blanchâtre, après quoi les capsules sont retirées du four et pesées.

➤ **Expression des résultats**

$$MO\% = (M_1 - M_2) / P \times 100$$

Soit :

MO % : matière organique.

M₁: masse de la capsule contenant la prise d'essai.

M₂: masse de la capsule contenant les cendres.

P : masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit:

$$Cd\% = 100 - MO\%$$

I.3.3. Détermination du pH

➤ **Principe**

Le pH est un concept qui permet d'indiquer le caractère acide, basique ou neutre d'une solution de manière simple et exacte.

➤ **Mode opératoire**

Une quantité de 2 g de poudre est placée dans un flacon muni d'un réfrigérant, auquel on ajoute 100 ml d'eau distillée. Le chauffage par reflux prend 30 minutes. Après un refroidissement, le pH de la suspension est mesuré avec un pH-mètre, selon la technique **NF-V05-108 (Afnor., 1982)**.

I.3.4. Mesure de la conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique est effectuée à l'aide d'un conductimètre selon la méthode de Vorwohl en 1964. La technique est basée sur la mesure de la résistance électrique à 20 °C qui est exprimée en milliSiemens par centimètre (mS.cm⁻¹) selon le mode opératoire suivant : l'électrode du conductimètre est plongée dans un bêcher contenant une solution à 20% de poudre de plante, et la valeur est lue directement sur l'appareil à 20°C. [47]

I.3.5. Détermination de l'acidité titrable

➤ Principe

Selon la méthode AOAC (2000), ce dosage consiste à déterminer l'acidité titrable d'un produit à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) de normalité 0,1N avec indicateur coloré phénolphthaléine.

➤ Mode opératoire

Pour ce faire, un échantillon de 10 g d'un produit finement broyé est dilué dans 75 mL d'eau distillé, laissé macérer, puis le filtrat obtenu est récupéré. Trois gouttes de phénolphthaléine sont ensuite ajoutées à un volume $V_1=10\text{ml}$ de ce filtrat, et le dosage est réalisé en versant un volume de solution de NaOH de normalité N_2 (0,1N) jusqu'à apparition d'une couleur rose.

➤ Expression

Si V_2 est le volume de la solution de NaOH utilisé, la formule suivante peut être utilisée pour déterminer la normalité :

$$N_1 = N_2 \times V_2 / V_1$$

Cette normalité a été convertie en milliéquivalent pour 100 g d'échantillon frais (méq/100g) en utilisant la formule suivante : [48]

$$\text{Acidité (méq.g/100 g)} = N_1 \times 105/P$$

I.4. Dosages des composés phénoliques

I.4.1. Préparation des extraits

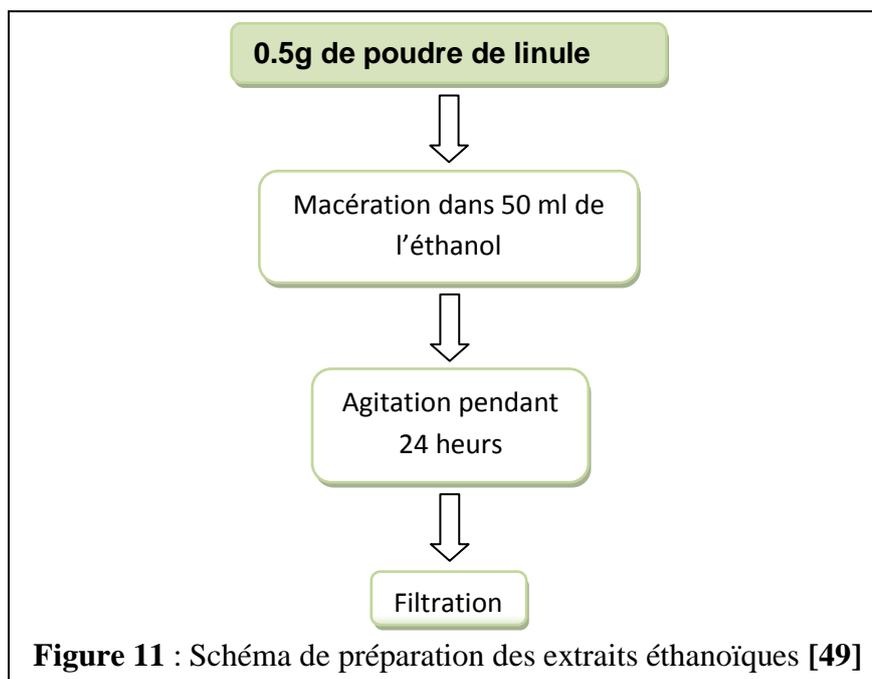
La méthode d'extraction utilisée dans notre étude était la macération, qui a été réalisée selon le protocole développé par Chiang et ces coéquipiers en 1994, avec quelques modifications. [49]

➤ Le principe

Cette méthode repose sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénoliques. [49]

➤ **Mode opératoire**

Les extraits ont été préparés en assurant une macération pendant 24h de la poudre de l'inule visqueuse dans l'éthanol suivie d'une filtration (**figure 11**).



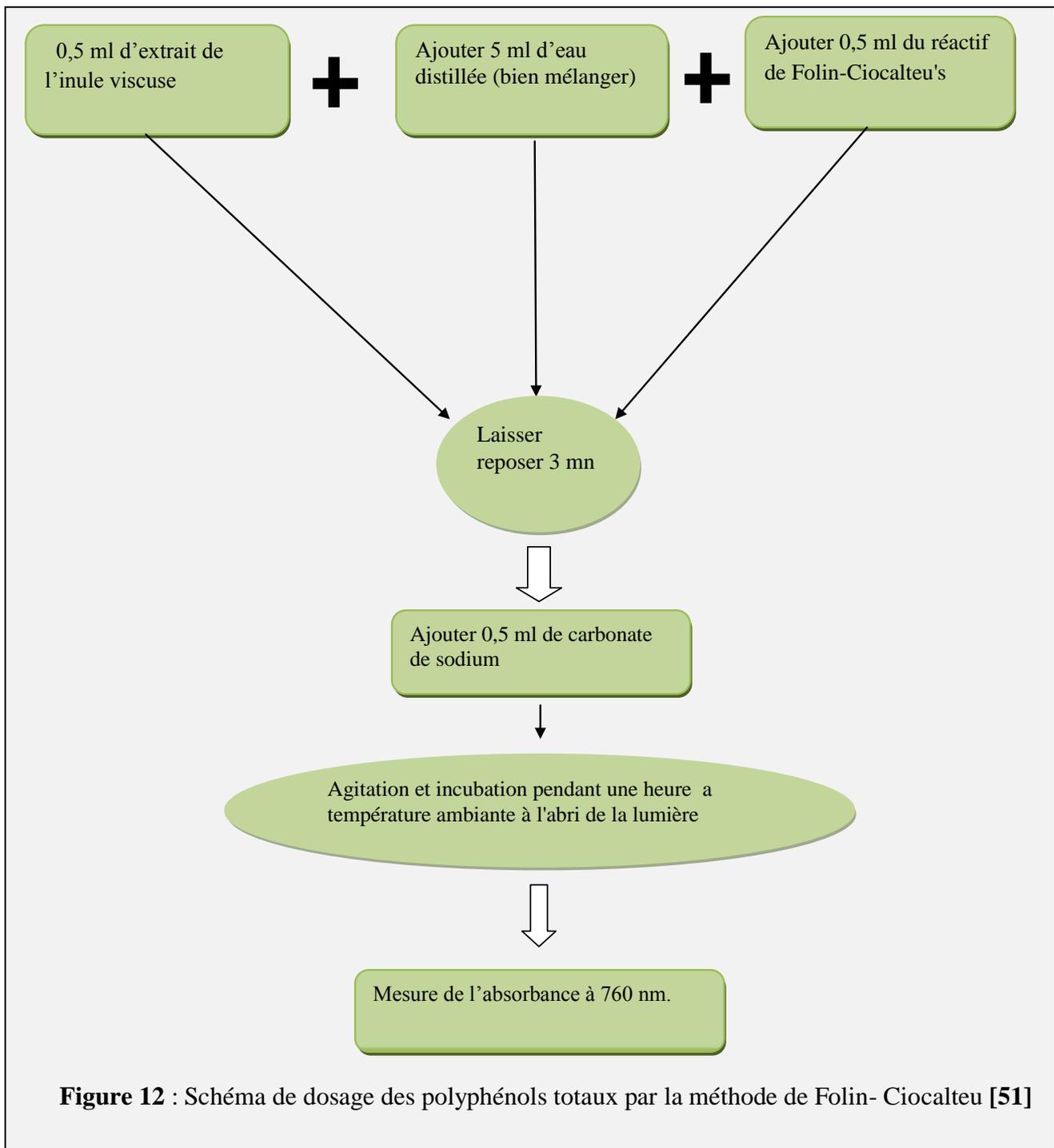
I.4.2. Dosage des polyphénols totaux

➤ **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide jaune composé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en une combinaison d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). [50]

➤ **Mode opératoire**

La teneur totale en phénol des extraits a été déterminée En utilisant le protocole de Sfahlan Ali Jahanban et al en 2009. Dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique comme standard pour déterminer les concentrations en phénols totaux (**voir annexe 02**) des extraits exprimées en mg équivalent acide gallique/g d'extrait. [51]



N.B : Le blanc est de l'éthanol mélangé avec du Folin-Ciocalteu et du carbonate de sodium.

Dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été créée en utilisant l'acide gallique comme standard pour déterminer les concentrations en phénols totaux des extraits exprimées en mg équivalent acide gallique/100g d'extrait.

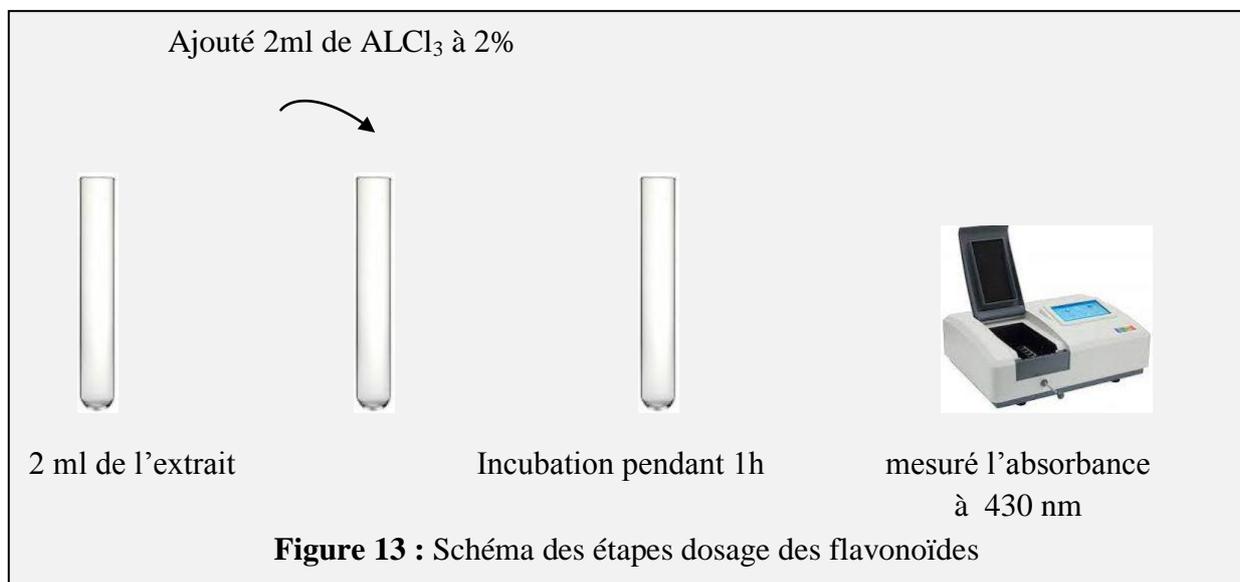
I.4.3. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Après décomposition du chlorure d'aluminium, les flavonoïdes forment des complexes avec l'aluminium sous forme d'ions Al^{+3} . Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible. [52]

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée selon la méthode de Bahorun en 1996. L'extrait a été mélangé avec un volume égal de solution éthanolique de chlorure d'aluminium (2 %). L'absorbance a été mesurée 430 nm. Les concentrations en flavonoïdes dans les différents extraits ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (0-40 $\mu\text{g/ml}$) obtenue avec la quercétine comme standard (**voir annexe 02**), et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine / g extrait (mg EQ/g extrait). [53]



Nb. L'éthanol ajouté à $AlCl_3$ représente le blanc.

I.4.4. Dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH)

➤ Principe

Cette méthode est basée sur la réduction des solutions alcooliques de DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) en présence des antioxydants dans le milieu réactionnel.

➤ **Mode opératoire**

Une série de dilution a été préparée (**voir annexe 04**). Ajouter 950 µl de la solution éthanolique de DPPH à 50 µl de la solution de chaque dilution, protéger de la lumière pendant 1 heure et lire l'absorbance à 515 nm. Remplissez le blanc avec de l'éthanol pur. [54]

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical libre est calculé comme suit :

- % d'inhibition = $[(\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C}] \times 100$
- Abs C : Absorbance du contrôle
- Abs E : Absorbance de l'extrait

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (EC₅₀) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. [55] [56]

I.5. Etude de l'activité anti-inflammatoire d'*Inula viscosa* in vitro

I.5.1. Inhibition de la méthode dénaturation des protéines

La méthode consiste à préparé quatre solutions :

- ❖ La solution d'essai (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'Albumine de sérum bovin (BSA) 5 % et 0,05 ml d'extrait aqueux (50, 100, 150, 200,250 µg/ml).
- ❖ La solution control test (0,5 ml) composé de 0,45 ml de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé.
- ❖ La solution contrôle produit (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extrait aqueux (50, 100, 150, 200,250 µg/ml).
- ❖ La solution standard test (0,5 ml) compose de 0,45 ml de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium (50, 100, 150, 200,250 µg/ml).

Le pH de chacune des solutions sus-mentionnées a été porté à 6,3 en utilisant de l'acide chlorhydrique 1N. Les échantillons ont été incubés à 37°C pendant 20 min et la température a été augmentée pour maintenir les échantillons à 57°C pendant 3 min. Après refroidissement, 2,5 mL de tampon phosphate saline a été ajoutée aux solutions ci-dessus.

L'absorbance a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à 416 nm. [57]
Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines était calculé comme pourcentage d'inhibition.

$$\text{pourcentage d'inhibition} = [100 - (\text{D.O. de la solution de test} - \text{D.O. du contrôle du produit} / \text{D.O. du contrôle du test})] \times 100$$

(D.O. : Absorbance)

Les résultats ont été comparés avec le diclofénac sodium.

I.5.2. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouge humaine

➤ Le principe

Le principe concerné dans cette méthode est la stabilisation de membrane de globule rouge humain (MGRH) par hypotonicité induite lyse membranaire.

➤ Mode opératoire

Du sang (récupéré de l'hôpital) a été prélevé (2 mL) sur des volontaires sains qui a été mélangé avec un même volume de solution Alsevers (qui contient 2 % de dextrose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% NaCl dans de l'eau distillée) et centrifugé à 3 000 RPM/min.

Les concentrés de cellules ont été lavés avec de l'eau iso-saline. La solution a été préparée avec une solution saline normale à 10% et conservée à 4° avant l'utilisation. Différentes concentrations d'extrait d'*Inula viscosa* et de diclofénac de sodium ont été préparées (50, 100, 150, 200,250 µg/ml) dans une solution saline normale.

Le diclofénac de sodium a été utilisée comme standard alors que l'eau distillé a été utilisée comme contrôle négatif. Des mélanges séparés de ces concentrations ont été réalisés en utilisant 1 ml de tampon phosphate, 2 ml d'hyposaline et 0,5 ml d'une solution de 10 % de HRBC. Toutes les solutions de test ont été centrifugées pendant 20 minutes à 3000 rpm après 30 minutes d'incubation à 37°C et la teneur en hémoglobine de la solution surnageant a été estimée par spectrophotométrie à 560 nm. [58]

Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane MGRH a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de stabilisation} = \left[\frac{\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance du test}}{\text{Absorbance du contrôle}} \right] \times 100$$

I.6. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux (poudre et frais) de l'*inula viscosa* (5 et 10 %) a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose « Méthode des puits », c'est une technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien. Les puits ont été imbibés de 50 µL de chaque extraits. Le mode opératoire passe par plusieurs étapes (**voir annexe 05**):

I.6.1. Préparation de l'inoculum (la revivification des souches bactérienne)

Les souches bactériennes ont étéensemencées dans la gélose nutritive (**voir annexe 06**) (14g de GN dissoudre dans 500 mL d'eau distillée avec agitation et chauffage jusqu'à solubilisation totale, elle est approprié pour la revivification des souches bactérienne). Par la suite les souches ont été incubées à 37°C pendant 24 h, pour la croissance.

Après 24h, des colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester ont été prises à l'aide d'une anse de platine. L'anse a été déchargé dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile, la suspension bactérienne a été homogénéisée à l'aide d'un vortex, cela a pour bute d'avoir une densité bactérienne de 10^8 UFC/mL ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 620 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. Après la détermination de la densité bactérienne, deux dilutions décimales ont été réalisées afin d'obtenir une concentration final 10^6 UFC/mL.

I.6.2. Ensemencements

Après la solidification des boites, nous avonsensemencé les bactéries en question, dont l'ensemencement est réalisé par la méthode d'écouvillonnage sur boites de Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne (10^6 UFC/mL), puis l'essorer en pressant sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est étalé sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées. Pour chaque souche bactérienne l'opération est répétée deux fois.

I.6.3. Test de sensibilité des germes à l'extrait aqueux

Pour chaque boite déjàensemencée, des puits de 0,6 cm de diamètre ont été faits à l'aide des embouts stériles, par la suite, on a introduit un volume de 50 µl de chaque extrait aqueux (poudre et frais) de l'*Inula viscosa* dans un puits, et on a gardé un puits comme un témoin négatif. Les boites ont été fermées par un parafilm et incubées dans le réfrigérateur pendant 24h puis une deuxième incubation à l'étuve à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne des extraits étudiés est déterminée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour de chaque puits. Si on aura une zone d'inhibition énorme autour des puits donc nos extraits ont un effet antibactérien vis-à-vis les bactéries étudiées.

Chapitre II :

Résultats et discussion

I. Caractéristiques physicochimiques d'*Inula viscosa* (L)

Les résultats détaillés concernant les caractéristiques physicochimiques de l'*Inula viscosa* (tableau 02) :

Tableau 02 : paramètre physico chimique d'inula viscosa

Paramètres	Extrait frais EFIV	Extrait EAIV (poudre)
Teneur en eau (%)	86,66 ± 1.52	/
Matière sèche (%)	13,33 ± 1.52	/
ph	5,61 ± 0.03	5,74±0.12
Taux de cendre (%)	10,66 ± 0.57	9.85± 0.84
Acidité (%)	4.95 ± 0.70	4.4 ± 0.141
Conductivité (ms)	5,41± 0.17	2,53 ± 0.005

I.1. La teneur en eau

Le test d'humidité est effectué pour estimer la teneur en eau de la plante étudiée et pour déterminer la durée de séchage. L'échantillon analysé a révélé un taux d'humidité élevé de 86,66 %, ce qui indique que l'eau constitue la majorité de la plante. Cette richesse est peut être liée au facteur climatique du milieu et au moment de la récolte. [59]

Les plantes fraîches ont une teneur en eau allant de 60% à 80% [88]. Kheyar à découvert un pourcentage d'eau important (81,66%) dans la région de Tichy (Bedjaia) en 2009. Aussi, AL-Dissi, (2001) et Benayache, (1991) et leurs équipes ont découvert un pourcentage d'environ 80%. [37] [60] [61]

Toutes ces découvertes sont approximativement proches à ce que nous avons trouvé.

I.2. La teneur en cendre

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique, et peut dépendre de la composition minérale du sol ou pousse l'inule. [62]

Les résultats du taux de cendre montrent des valeurs moyennes de 10.66 ± 0,57 pour l'extrait frais et de 9.85±0.84 dans l'extrait aqueux poudre.

I.3. L'acidité

Le résultat obtenu montre que la plante sèche et la plante fraîche ont des valeurs d'acidité proches, les valeurs sont $(4.4 \% \pm 0.141)$, $(4.95 \% \pm 0.070)$, respectivement.

I.4. Valeur de PH

La plante et fraîche présente un pH de 5,74 et 5,61 respectivement. Ce qui explique les résultats obtenue pour l'acidité.

I.5. Evaluation conductivité de la plante

Les résultats trouvés montrent que la plante fraîche possède une conductivité supérieure par rapport à la plante sèche.

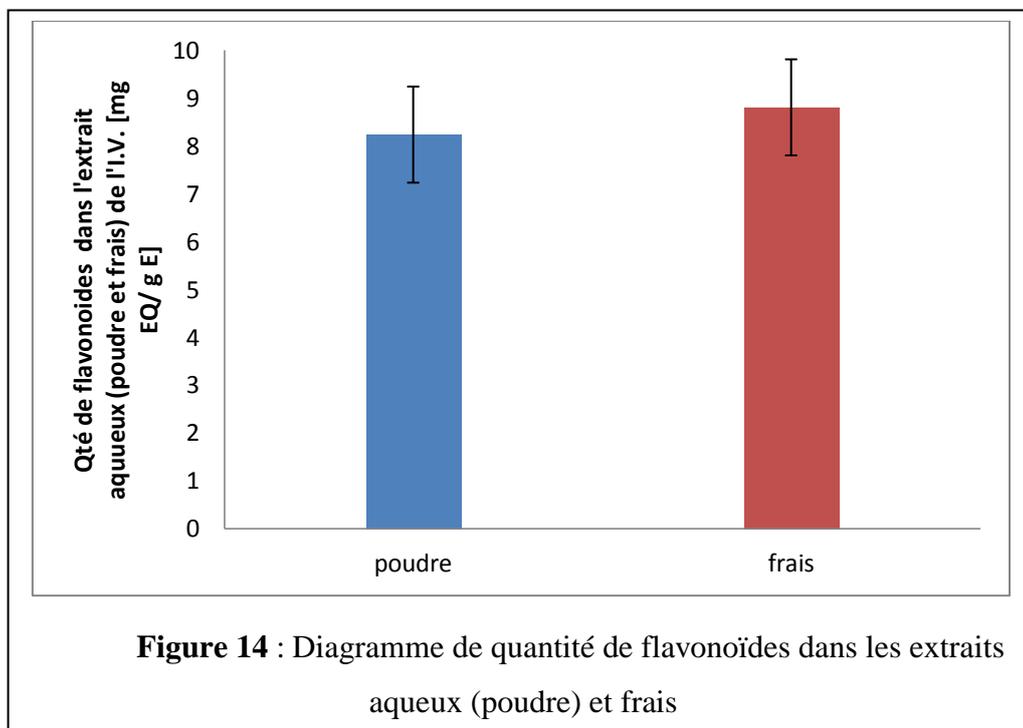
La propriété d'une substance à conduire le courant électrique est exprimée en conductivité. Les ions sont responsables du transfert de charge dans les solutions aqueuses. Les ions se forment lors de la dissolution des sels, des acides et des bases. Plus la concentration d'ions dans le liquide est élevée, mieux il conduit l'électricité. En raison du lien entre la concentration d'ions et la capacité à conduire le courant électrique, la conductivité est une mesure intrigante qui peut être utilisée pour déterminer la concentration de sels dissous [63]

II. Dosages des composés phénoliques

II.1. Les flavonoïdes

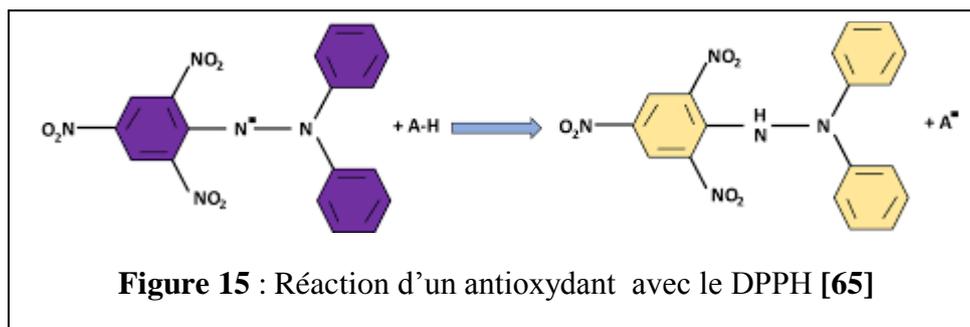
La quantité totale des flavonoïdes a été déterminée à l'aide d'une évaluation quantitative d'extraits aqueux en utilisant la technique du trichlorure d'aluminium. Pour cet objectif, une courbe d'étalonnage a été élaborée en utilisant la quercétine à différentes doses (**Annexe n° 02**). Les mesures de densité ont été prises à 430 nm pour chaque fraction. Les quantités des flavonoïdes apparentés ont été rapportées en équivalents milligrammes de quercétine par gramme d'extrait et ont été calculées à l'aide de l'équation suivante : $y = a x + b$

La méthode au trichlorure d'aluminium pour la détermination des taux de flavonoïdes révèle que l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* est riche en flavonoïdes, et la teneur en flavonoïdes, exprimées en mg équivalent quercétine par g d'extrait, est de $8,24 \pm 0.69$ mg EQ/gE pour l'extrait aqueux (poudre), et de 8.81 ± 0.87 mg EQ/ gE pour l'extrait frais (**figure 14**).



II.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire (DPPH)

Un radical libre instable, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), devient une molécule stable en recevant un électron ou un radical hydrogène. La capacité des antioxydants à convertir ce radical en un radical hydrogène reflète leur effet sur celui-ci. (**figure 15**). [64]



L'activité antioxydante d'échantillon (extraits aqueux et frais d'inule viscosse) vis-à-vis du radical vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne de son changement de couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est évaluée par une diminution de l'absorbance provoquée par les composés anti radicalaires. [66]

Le pouvoir antioxydant des extraits examinés montre qu'à des concentrations de l'ordre de 5,0 mg/ml, le pourcentage d'inhibition des extraits aqueux (poudre, frais) de l'inule viscosse est supérieur à 75% (**Figure 16**)

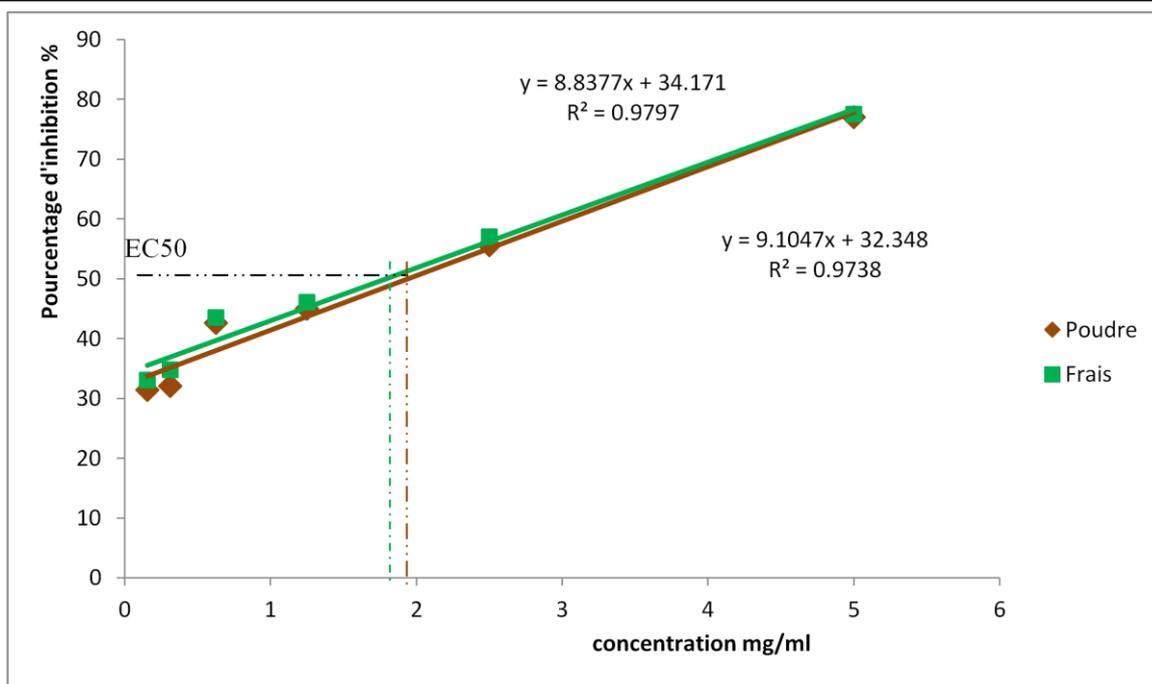


Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'*Inula viscosa* extrait aqueux (poudre et frais)

Les valeurs d'EC₅₀ en mg/ml représentent la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire au piégeage et à la réduction de 50 % moles de DPPH dissous dans du l'éthanol (**Tableau 03**)

Tableau 03 : Résultat du test Antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mg/ml

Extrait	EC50
Acide Ascorbique	0.134 ± 0.030
Inule.Viscose EAIV (poudre)	1.938 ± 0.324
Inule Viscose EFIV (frais)	1.791 ± 0.256

Selon les résultats, les extraits aqueux d'inule viscose (poudre et frais) ont une capacité anti-oxydante modérée, avec des valeurs EC₅₀ de 1,938 ± 0.324 et 1,791 ± 0.256 respectivement, mais comparativement avec l'acide ascorbique (**voir annexe 02**) sont relativement faible, qui a une valeur de l'ordre de 0,134 mg/ml selon les travaux de Bougandoura N. et son coéquipier. [67]

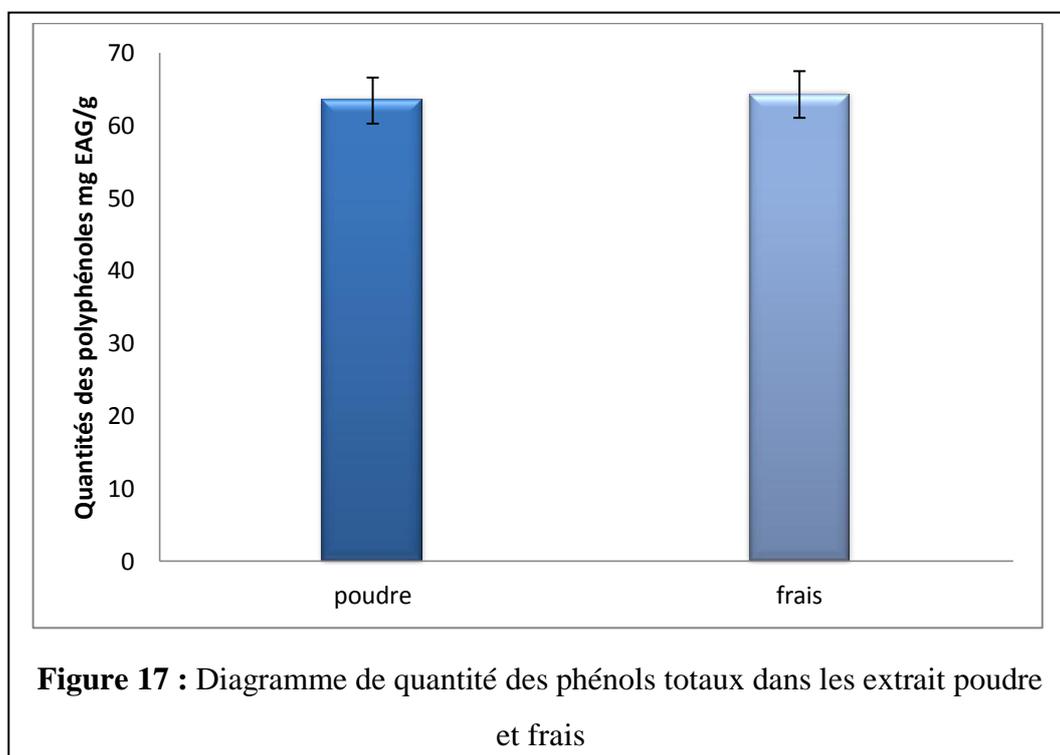
En raison de leur propension à donner de l'hydrogène, les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tanins diminuent et décolorent le DPPH. [68]

Les polyphénols présents dans les extraits d'*Inula viscosa* sont très probablement responsables de leur action antioxydante.

II.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été évaluée par la technique colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont été représentés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g), en référence à une courbe d'étalonnage (**voir annexe 02**) préalablement construite par l'acide gallique à l'aide de l'équation de régression linéaire.

La teneur en composés phénoliques totaux (**Figure 17**) de l'extrait aqueux poudre et frais est égale à 63.41 ± 5.2 mg EAG/g de l'extrait brut et 64.25 ± 6.61 mg EAG/g de l'extrait brut respectivement, dont ces résultats relativement proche des résultats annoncés par Deghdak, H., et Zaiter R., (2014). [69]



Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres produits en permanence par notre organisme ou synthétisés en réaction aux agressions environnementales (cigarettes, pollution, maladies...) qui accélèrent le vieillissement cellulaire. [70] Ils seraient impliqués dans la prévention du cancer. [71]

Les produits chimiques phénoliques jouent également un rôle dans les systèmes d'invasion microbienne et de résistance aux rayons UV. En raison de leurs caractéristiques

antioxydantes, ils sont employés comme agents antibactériens. De nombreuses bactéries, champignons et même virus sont inhibés par ces produits. [72]

Les défenses antioxydantes des polyphénols sont essentielles pour protéger le cerveau et les tissus neurologiques des dommages oxydatifs tels que ceux observés dans la maladie d'Alzheimer. [73]

Les polyphénols sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes ainsi que leurs bienfaits biologiques. Ils contribuent à la prévention des maladies dégénératives et cardiovasculaires. [71] [73] Ils participent à la régénération de certains antioxydants tels que la vitamine E. [71]

Les composés phénoliques ont des groupements hydroxyle, qui peuvent agir comme donneurs d'électrons. En conséquence, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et des inactivateurs d'oxydants. [74]

III. L'activité anti-inflammatoire d'*Inula viscosa* in vitro

III.1 Inhibition de la méthode de dénaturation des protéines

Le tableau montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait Aqueux d' *Inula viscosa* (poudre et frais) qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'albumine de sérum bovin (BSA). (voir annexe 03) (figure 18)

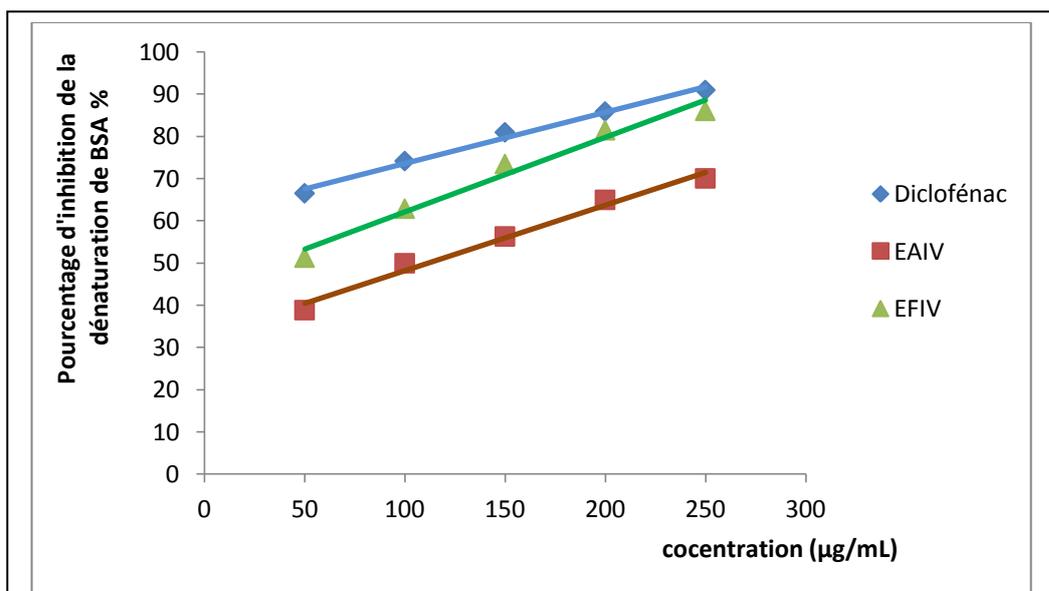


Figure 18 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (courbes de régressions)

D'après les résultats représentés par la figure 18, l'extrait EFIV (frais) exerce un pourcentage d'inhibition plus élevé que celle de l'extrait EAIV (poudre) à différentes concentrations.

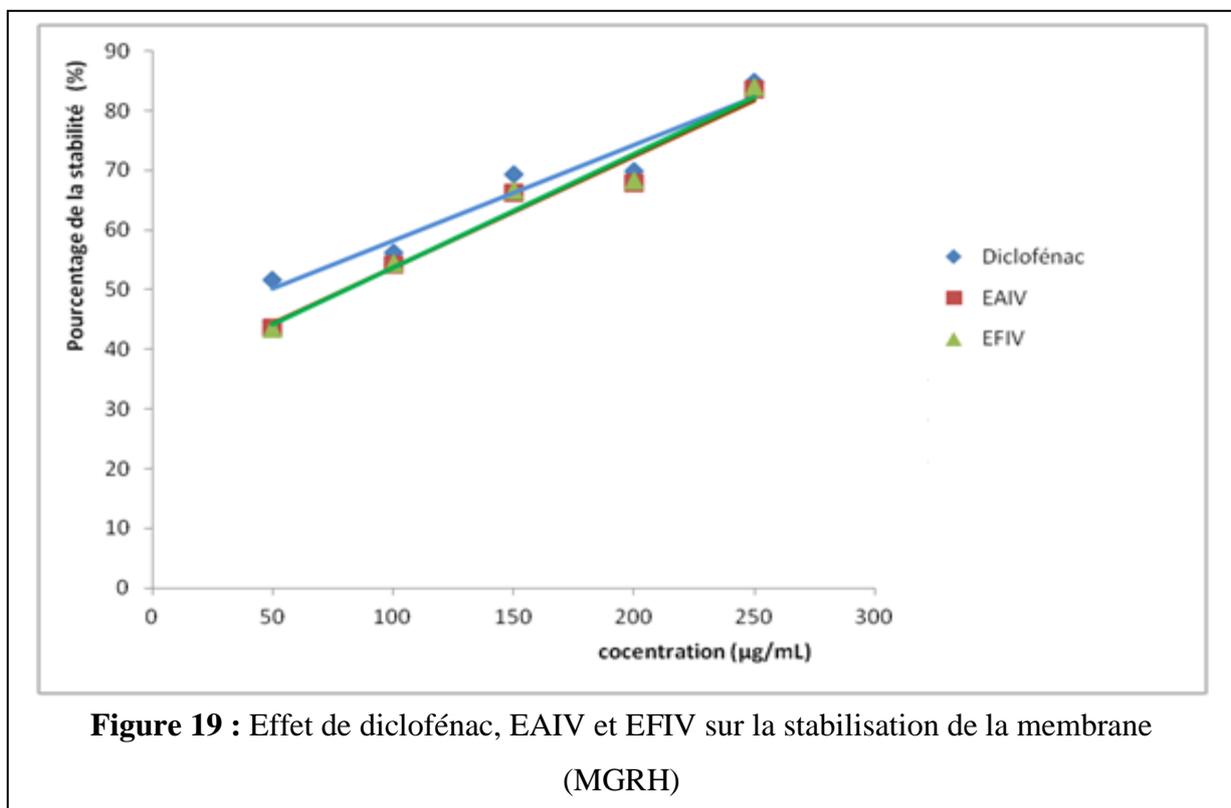
En comparant les résultats obtenus pour le diclofénac sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard, avec l'extrait EFIV (frais), on peut conclure que EFIV (frais) possède un effet anti-inflammatoire élevé in vitro contre la dénaturation des protéines plus proche à celui du médicament (diclofénac sodium).

L'une des causes de l'inflammation est la dénaturation des protéines. La formation d'auto-antigènes dans les troubles inflammatoires peut être causée par la dénaturation des protéines in vivo. La modification des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes et disulfure qui préservent la structure tridimensionnelle des protéines est un processus probable de dénaturation. [75] [76] [77]

La présence de divers composants bioactifs tels que les flavonoïdes et les tanins dans l'extrait découvert lors des cribles phyto-chimiques peut être liée à l'action inhibitrice de la dénaturation de la BSA. Selon les résultats, les échantillons EAIV, EFIV peuvent réduire la formation d'auto-antigènes en empêchant la dénaturation des protéines. [78] [79]

III.2. Stabilisation de la membrane des globules rouge humain

Le tableau (voir annexe 03) montre les résultats in vitro de l'effet d'*Inula viscosa* (poudre et frais) sur la stabilité membranaire des globules rouge humain (MGRH) (figure 19).



L'étude in vitro sur des extraits aqueux frais et en poudre d'*Inula viscosa* montrent qu'ils réduisent l'inflammation. Cette activité peut être attribuée à la présence de substances actives telles que les flavonoïdes et les polyphénols apparentés. En conséquence, l'inule visqueuse peut être utilisée comme agent anti-inflammatoire efficace.

VI. Test de sensibilité

Cette partie est consacrée aux résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux (poudre et frais) de *Inula viscosa* (5 et 10 %) sur cinq souches bactériennes responsables de diverses pathologies chez l'homme (*Salmonelle*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline « SARM », *Enterobacter*, *staphylococcus*, *Krebsiella*).

L'activité antibactérienne est déterminée par la technique des puits sur gélose Muller-Hinton qui est estimé en termes de diamètres de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits aqueux. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité : **Résistant (R)** pour diamètre total inférieur à 6 mm, **Intermédiaire (I)** pour un total de diamètre compris 6 à 13 mm, **Sensible (S)** pour diamètre total plus grand que 13 mm. [80]

Après 24 heures d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus (**Figure 20**) ont montré que les extraits aqueux de *Inula viscosa* (poudre et frais) étudiés n'ont pas produit des zones d'inhibition autour des puits c'est-à-dire aucune activité antimicrobienne n'a été constatée. Autrement dit, les extraits aqueux n'ont aucun effet sur la croissance des cinq bactéries qui ont été utilisés.

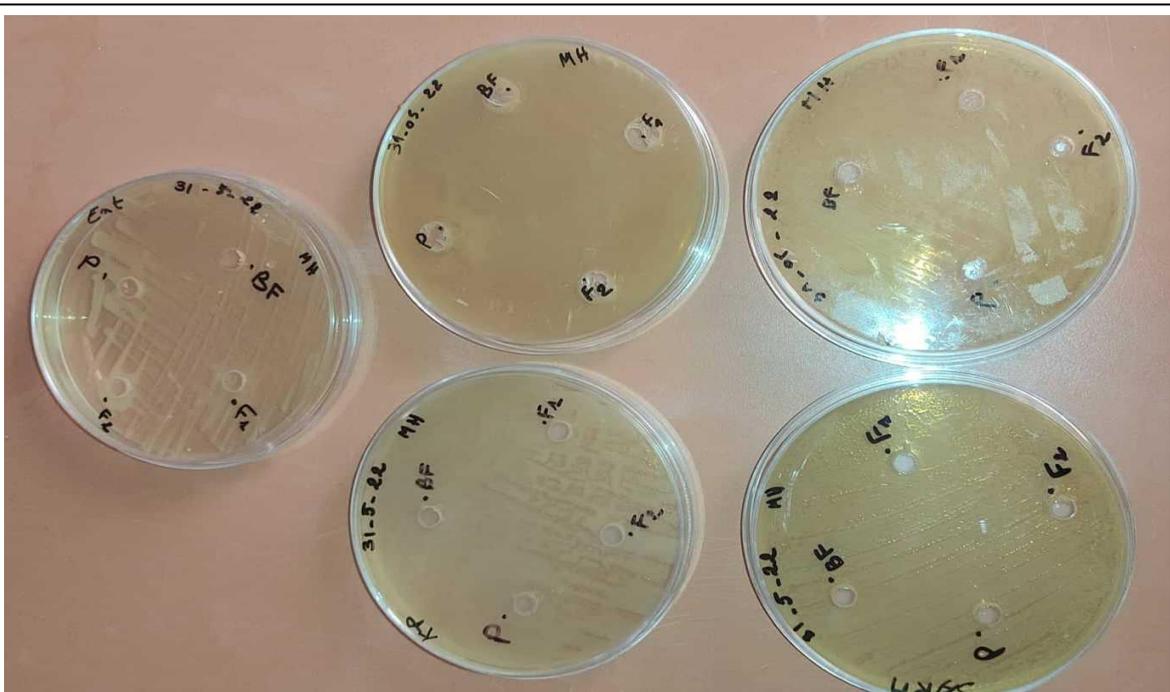


Figure 20 : Sensibilité de cinq souches bactériennes vis-à-vis les deux extraits de *Inula viscosa* (5 et 10 %), aucune zone d'inhibition n'a été observée.

VI.1. Discussion

Les résultats obtenus du test de sensibilité a montré que les extraits aqueux (poudre et frais) de *Inula viscosa* (5 et 10 %) ne montrent aucun effet sur les bactéries testés, d'après l'absence totale des zones d'inhibition autour des puits, que ce soit sur les bactéries Gram positive (*S. aureus*, SARM), et même les bactéries Gram négative (*Salmonella*, *Enterobacter* et *Klebsiella*).

Ces résultats concordent avec les travaux d'Ould Mammar et al en 2021, qui ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Inula viscosa* L qui a été déterminée in vitro, par la méthode des disques, en présence de quatre souches bactériennes de références qui sont : Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25852), et Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Bacillus cereus* ATCC 10876). Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de l'inule visqueuse aux concentrations utilisées à une légère inhibition sur la croissance des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) qui sont sensibles alors qu'aucun effet inhibiteur n'a été remarqué sur les souches (*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) qui sont résistantes.[81]

En revanche, Kedjar et al., (2016), ont testé les extraits aqueux et organiques d'*Inula viscosa* sur 10 souches différentes de *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats montrent que les extraits sont montrés actifs contre les 10 souches de *Klebsiella pneumoniae* (8-14mm) ainsi que les souches de références *S. aureus* ATCC 25923(8,66±0,57-9±1mm) et *E. coli* ATCC 25922(8-9,16mm). [82]

De même les travaux de Laghrifi et son équipe en 2013, montrent que l'extrait méthanolique et éthanolique d'*Inula viscosa* ont un fort pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif dont *E.coli* et *K. pneumoniae*. Il s'est avéré ainsi que l'extrait méthanolique est le plus actif contre toutes les souches bactériennes testées. En outre, ils ont également constaté que l'extrait éthanolique s'est prononcé antibactérien plus que l'extrait aqueux. [83]

Dans une autre étude, Chekroud et al (2020), ont essayé d'évaluer l'effet antibactérien d'*Inula viscosa* L. sur 5 souches cliniques : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* et *Morganella morganii* en plus de 2 souches de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC29213 et *Escherichia coli* ATCC25922. Les résultats ont montré que toutes les souches testées étaient sensibles à l'extrait polyphénolique avec des zones d'inhibition 10,8-21 mm. *Klebsiella pneumoniae*,

Pseudomonas aeruginosa et *Staphylococcus aureus* se sont avérés plus sensibles aux extraits polyphénoliques en comparaison avec les antibiotiques testés. [84]

Les extraits aqueux de dix plantes médicinales ont été testés, dont *inula viscosa*, contre trois souches bactériennes à Gram positif. Ils ont remarqué que l'extrait aqueux d'*inula viscosa* a présenté un effet inhibiteur maximal contre les trois bactéries testées. [85]

D'après tous ces résultats, il est clair qu'*inula viscosa* représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui ont des activités antibactériennes importantes sur les bactéries Gram positives et Gram négatives. L'inhibition des souches multirésistantes telle que *staphylococcus aureus* et *K. pneumoniae* par les différents extraits d'*Inula viscosa* montrent non seulement que cette plante pourrait constituer une source naturelle de principes actifs antimicrobiens mais également la richesse et le potentiel régional en termes de plantes médicinales.

Les mécanismes précis impliqués dans l'action antimicrobienne des extraits sont encore loin d'être totalement élucidés. Étant donné le grand nombre de composants présents dans un extrait, il est évident que l'activité antibactérienne ne peut être due à un seul mécanisme d'action spécifique mais plutôt à divers mécanismes. [86]

L'étude phytochimique d'*inula viscosa*, réalisée par Ulubelen et Goun en 1986 et Benayache et al en 1991 a abouti à l'isolement d'une série importante de flavonoïdes, plus d'une vingtaine de molécules sesquiterpéniques et des triterpènes. Ces dernières exercent une action antibactérienne contre les Gram positifs, les Gram négatifs et les mycobactéries. Les flavonoïdes d'*inula viscosa* ont montré leur efficacité comme substances antibactériennes. Cette propriété serait due à une inhibition des enzymes bactériennes, du fait de la réaction d'addition avec le groupement thiol ou amine. [88]

Les flavonoïdes peuvent provoquer une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane plasmique, ce qui engendre des lésions majeures entraînant ainsi leur mort. [89]

Il à noter que la différence entre les activités antimicrobiennes des extraits peut s'expliquer par la différence des composés actifs obtenus. Par conséquent, l'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactive extraite. [90] Concernant notre expérimentation, nous avons testé l'effet antibactérien de l'extrait aqueux sur les germes déjà cités.

On pense que le solvant d'extraction ainsi que les méthodes utilisés pour l'extraction jouent un rôle important en terme d'obtenir un extrait fortement actif, autrement dit, riche en composés actifs qui peuvent inhiber la croissance des microorganismes en particulier les bactéries. Aussi, on peut lier cette absence d'activité aux concentrations des extraits utilisés

dont on a utilisé que 5 et 10%. Pour conclure, l'extrait aqueux d'*inula viscosa* contient de nombreux composés actifs pouvant inhiber la croissance de divers microorganismes comme ils l'ont montré plusieurs travaux, c'est la raison pour laquelle il peut être utilisé comme source alternative d'antibiotiques.

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales continuent d'être une source inépuisable de composés actifs à visée thérapeutique. Il ne fait guère de doute que la grande variété de produits chimiques bioactifs contribue à cette diversité d'activités biologiques et thérapeutiques.

Cette étude examine les propriétés physicochimiques et phytochimiques ainsi que les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes d'extraits aqueux de l'espèce indigène d'*Inula viscosa*.

Tout d'abord, en utilisant la méthodologie colorimétrique et le réactif de Folin-Ciocalteu, nous avons pu quantifier la concentration en phénol à l'aide de méthodes spectrophotométriques, en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium, et les résultats ont montré que la plante a des niveaux élevés de flavonoïdes et de polyphénols, avec des teneurs de (64,25 6,61 mg EAG/gE frais et 63,41 5,2 mg EAG/gE sec) ; (8,24 0,69 mg EQ/gE sec ; 8,81 0,87 mg EQ/gE frais), respectivement. [51]

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire a permis de trouver des valeurs de EC50 de (1,938± 0,324 mg/ml pour l'extrait aqueux en poudre) et 1,791± 0,256 mg/ml pour l'extrait frais), l'extrait aqueux d'inule a un fort effet radicalaire anti-DPPH.

De plus, l'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro réalisée à l'aide de la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines montre un pourcentage d'inhibition proportionnel à la concentration d'inule (à 250 µg/ml de l'extrait inule frais le pourcentage d'inhibition peut atteindre 81.41 ±0.27%)

Nous avons conclu de l'ensemble des résultats que l'extrait aqueux de la section aérienne de la plante *Inula viscosa L.* a une activité antioxydante et anti-inflammatoire élevée et pourrait être utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Plusieurs facteurs peuvent cependant être pris en compte pour une plus grande efficacité :

Augmenter la gamme des tests biologiques pour l'activité antioxydante in vivo et in vitro, ainsi que pour les effets antitumoraux, anticancéreux et anti-analgésiques en réalisant aussi des études sur les autres parties de la plante.

Séparation et identification des composés actifs de la plante, et étude de leur toxicité et envisager la formulation d'un médicament à base de la plante.

Il serait aussi souhaitable de compléter cette étude en s'intéressant à utiliser d'autres solvants et d'optimiser les conditions d'extraction, aussi le choix de la plante ainsi que la région infectera beaucoup. Il serait intéressant en cas des résultats positifs de **déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), et à identifier les substances responsables de l'effet biologique**, dans ce cas des efforts et des études plus approfondies sont nécessaires afin

de déterminer ces molécules clés et les tester sur d'autres micro-organismes pathogènes, que ce soit des bactéries ou bien des champignons.

Références bibliographiques

- [1] BELLAMINE, K. (2017) la phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. These de doctorat en pharmacie, université mohammed V- Rabat. Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/15961/P-101-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (consulté le : 18/05/2022).
- [2] Pelt. la médecine par des plantes. 1986.
- [3] ZAZZO Jean-Fabien, CRENN Pascal, PUISSANT Marie-Christine, MONIER Louise. Dictionnaire de nutrition et diététique. Editions Maloine : 2010. Paris, France. 365 pages.
- [4] Wichtl M., Anton R. Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.
- [5] CHAMEK C., OUALLI L. (2018) contribution va l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestive en Kabylie. Mémoire de fin d'étude a fin d'obtention du diplôme docteur en pharmacie, université Mouloud Mammeri faculté de médecine Tizi ousou, 117p.
- [6] JULIEN Pierre. L'histoire de la pharmacie commence au IIIe millénaire avant le Christ :Samuel-Norah KRAMER. L'Histoire commence à Sumer. Revue d'histoire de la pharmacie.1958, vol. 46, n° 156, pp. 254-255.
- [7] KOEMOTH Pierre. Les plantes médicinales en Égypte pharaonique : du mythe à la Médecine. Février 2010. (Consulté le 21 juillet 2022). Accessible via le site, https://culture.uliege.be/jcms/prod_195168/fr/les-plantes-medicinales-en-egypte-pharaonique-du-mythe-a-la-medecine
- [8] Guide phytosante. Histoire de la phytothérapie. [en ligne]. [consulté juillet. 2022]. Disponible sur : <http://www.guide-phytosante.org/demarrer-guide/histoire-phytotherapie.html>
- [9] Merouane abdelaziz. Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (Salvia algeriensis, Salvi argentéa et Salvia barrelieri). [mémoire] chlef. Université Hassiba Ben Bouali .2013

- [10] Françoise Micheau, 1985. L'âge d'or de la médecine arabe. In : L'histoire [en ligne]. 1985. Mensuel 74 disponible à l'adresse : <https://www.lhistoire.fr/l%C3%A2ge-dor-de-la-m%C3%A9decine-arabe> [consulté le : juillet. 2022].
- [11] Toby Huff, *The Rise of Early Modern Science : Islam, China, and the West*, Cambridge University Press, 2003, 218 p.
- [12] CAZAU-BEYRET Nelly. *Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie*. [thèse] université TOULOUSE III PAUL SABATIER .France .2013 disponible sur : <https://docplayer.fr/9473265-Prise-en-charge-des-douleurs-articulaires-par-aromatherapie-et-phytotherapie.html>
- [13] CARILLON Alain. *Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle*. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba, Mars 2009
- [14] PRESCRIRE., 2007 _ *Bien utiliser les plantes en situations de soins*, numéro spécial été, T. 27, n° 286.
- [15] Moreau B., maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. *Enseignements dirigés et pratiques de phytothérapie de 6ème année de doctorat de pharmacie*, 2006.
- [16] DEVOYER J., 2012 _ Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du *Guide des plantes qui soignent* (éd. Vidal). Publié le 28.09.2012)
- [17] Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, (2003). *La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes* Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. P : 25-30
- [18] ALI-DELLILE L., 2013 _ *Les plantes médicinales d'Algerie*. Berti Edition Alger 6_11.
- [19] Iserin P. *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2ème édition. Londres : Larousse ; 2001.
- [20] GUIGNARD J.L. (1994). *Abrégé Botanique*, 9ème édition: 204.
- [21] CICCARELLI D., GARBARI F. & PAGNI A.M. (2007). *Glandular hairs of the ovary. A helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy*, 44:1-7.
- [22] Fauron R., Moatti R., Donadien Y. (1983) *la phytothérapie . les therapeutique différentes*. Ed Moloine ,245 p.

- [23] Fournier P., 1947. Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France .Ed. Le chevalier. Tome1, p176-178
- [24] Bartels A.(1997) Guide des plantes du bassin méditerranéen . Ed Eugenulmer,Paris ,172 p.
- [25] QUEZEL P. & SANTA S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2 :218-940. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris France.
- [26] Halimi A ,(1997).Les plantes médicinales en Algérie. P .158-159.
- [27] Zeggwagh et al. (2006) Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L.aqueous extract in normal and diabetic rats. Journal of ethno-pharmacology (108) ,223-227p.
- [28] Franco-Mican S.X., Castro J., Campos M.. 2008. Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne, et ses méthodes de propagation. Le Nouvel Olivier, n°66, novdéc. 2008.
- [29] Warlop F., 2006. Limitation des ravageurs de l'olivier par le recours à la lutte biologique par conservation. Cahiers Agriculture, vol. 15(5), pp. 449-455
http://www.john-libbeyeurotext.fr/fr/revues/agro_biotech/agr/edocs/00/04/1F/42/article.phtml
- [30] Bezanger - Beau Quesne L., Pinkas M. 1986. Les plantes dans la thérapeutique moderne 2ème édition MALOINE –Paris. Pp 68-262-268.
- [31] Ait Youcef M., 2006. Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press, Paris. 349p.
- [32] Warlop F., Spagnol E., Conand C., Lecomte J., Gimilio R., Delvare G. 2009. Pourquoi et comment propager l'inule visqueuse dans les oliveraies? GRAB, Maison de la Bio, Agro parc, Avignon. 4p.
- [33] Chiarlo Sui B. 1968. costituenti dell' inula viscosa .Ait. Contenuto in azuleni dell' olio essenziale . Boll. Chim. Farm, 107(6) : 370 – 382.
- [34] Grande M., I.S. Bellido 9-Hydroxynerylidol esters and bicyclic sesquiterpenoids from *dittrichia viscosa*. Journal of Natural Products. Vol.55, No8, pp. 1074-1079, August 1992.

- [35] Reeb C., 2010. Plantes mellifères, l'Inule visqueuse, Abeilles et Fleurs.N°720.Université Paris VI : 19-20.
- [36] Paulian P (1967) Guide pour l'étude de quelques plantes tropicales. Éds Gauthier-Villards, Paris France.
- [37] Benayache S, Banayache F, Dendoughi H, Jay M (1991). Les flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. Plantes médicinales et phytothérapie. Tome 25, n° 4, P170-176.
- [38] Bicha S (2003). Etude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme d'*Inula viscosa* (Compositae). Thèse de magister, Université de Constantine.
- [39] Oksósz S (1976). Taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. *Plantamed*, 29(4) : 343-345.
- [40] Ulubelen A., Terem B. et Tuzlaci E. 1986. Coumarins and flavonoids from *Daphnognidioides*. *J Nat Prod*, 49, 692-694.
- [41] Danino O, Gottlieb H.E, Grossman S et Bergmire M (2009). *Food Research Inter*.
- [42] Hernandez V, Recio M, Manez S. Giner R et Rios J (2007). *Sci. dir.*Vol. 81(6). 480-488.
- [43] Djerroumi A et Nacef M (2004). 100 Plantes médicinales d'Algérie. Edd Palais du livre p.83.
- [44] Adam A, Sivropoulon A, Kokkini T Lanaras et Arsenakis M (1998). *J. Agric. Food chem.* Vol 46.1739-1745.
- [45] Nissim Krisspil (1982). *Herbs Pouch* (Traduit de l'original hébreu), Jérusalem. Kana éditeurs, (1982).
- [46] Laurent, L. (1991) Eléments minéraux. In : *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Volume 4. Lavoisier (Ed). Paris, pp78-98
- [47] Vorwohl,G. (1964). Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Honigs und der Verwendung der Messwerte zur Sortendiagnose und zum Nachweis von Verfälschungen mit Zuckerfütterungshonig. *Zeitschr.Bienenforsch.* 7 :37-47.
- [48] AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis* (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, D C.

- [48] AOAC. 2000. Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, D C.
- [49] Chiang H., Lo Y., Lu F., 1994. Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophilaspinulosa* (Hook) Tryon. *Journal of Enzyme inhibition*, 8(1), 61–71.
- [50] Boizot, N., et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech.INRA. N°. special. P: 79-82.*
- [51] Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., & Jamei, R., (2009). Antioxidants and antiradicals in almondhull and shell (*Amygdaluscommunis*L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115(2), 529-533.
- [52] Ribéreau-Gayon, P., (1968). *Les composés phénoliques dm végétaux.* Ed. Dunod. Paris. P 254.
- [53] Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations *Arzneimittle Forshing.* 46 (11), pp 1086-1089.
- [54] Djerrad, Z., Kadik, L. & Djouahri, A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, 74, 440-449.
- [55] Scherer R. and Godoy H. T. (2009) Antioxydant Activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* ; 112 : 654-658
- [56] Fabri R. L., Nogueira M. S., Braga F. G., Coimbra E. S. and Scio E. (2009) *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects, *Bioresource Technolog* ; 100 : 428-433.
- [57] Lavanya R, Maheshwari SU, Harish G, Raj JB, Kamali S, Hemamalani D, et al. Investigation of in-vitro antiInflammatory, anti-platelet and anti-arthritic activities in the leaves of *Anisomeles malabarica* Linn. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2010; 1(4): 745 52
- [58] Kumar V, Bhat ZA, Kumar D, Bohra P, Sheela S. In-vitro antiinflammatory activity of leaf extracts of *Basella alba* linn. var. *alba*. *Int J Drug Dev Res* 2011; 3(2): 176-9.

- [59] Abdassamad H., 2010. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* L. Thèse de magister, Université EL-HADJ LAKHDAR BATNA. disponible sur : <http://www.secheresse.info/spip.php?article13417> [consulté le : 08/08/2022]
- [60] Kheyar N. , . Meridja D. et Belhamel K., 2009. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. In : *Algerian Journal of Natural Products* 2:1(2014)18-26 [en ligne]. Disponible sur : <https://www.asjp.cerist.dz/en/downArticle/59/2/1/10392> [consulté le : 12/08/2022]
- [61] Al-Dissi, N.M., Salhab, A.S. and Al-Hajj, H.A. (2001) Effects of *Inula viscosa* Leaf Extracts on Abortion and Implantation in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 117-121. Disponible sur : [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkpozje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1502859](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkpozje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1502859) [consulté le 19/08/2022].
- [62] HASNIOU Merbouha AIDEL Manel Etude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A 2021 mémoire master
- [63] Reinhard Manns, Guide de la mesure de conductivité, Fulda, avril 2007.
- [64] Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H. and Neffati M. (2010) Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*; 13: 380-386.
- [65] Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B. (2009) Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4) :8p
- [66] Majhenic L., kergel M.S., et Knez Z. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258–1268.
- [67] BOUGANDOURA, N., BENDIMERAD, N. 2012. valuation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.*Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09. Juin 2013. Pages 14 à 19. Disponible a l'adresse : https://www.univ-chlef.dz/revuenatec/issue_09_art_b_03.pdf [consulté le 02/08/2022]

- [68] De Pooter H.L. et Schamp N. (1986). Comparaison of the volatils composition of some calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150p.
- [69] DEGHDAK H., et ZAITER R.2014. évaluation de l'activité antioxydante et anti inflammatoire de la plant médicale *Inula viscosa* . université Constantine 1. Diplôme de fin d'étude master. Disponible a l'adresse :
<https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2014/101-2014.pdf> [consulté le : 20/07/2022]
- [70] Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N.(2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolics coumpounds. Food Chemistry, 97, pp 654-660.
- [71] Scalbert , A., Williamson, G., (2000). Chocolate: Modern Science Investigates an ancient Medicine Dietary Intake and Bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition, 130, pp.
- [72] Bourgeois, C.M., Larpent, J. P.(1996). Microbiologie Alimentaire : aliments fermentés et fermentations alimentaires (Tome 2). Edition Techniques et documentations, 623 p.
- [73] Henk, J., Zwir, E., Rik, L., (2003). Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif. Arome. Ingrédients. Additifs N°44, pp 42-45.
- [74] Siddhuraju p., et Becker K. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vignaunguiculata* (L) Walp. seed extracts. Food Chemistry. 101 (1), 10-19.
- [75] Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.(2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. Food Chem. 111, 61–66.
- [76] Mizushima Y and Kobayashi M. (1968).Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins.Journal of Pharmacy and Pharmacology 20 (1)169-173.
- [77] Bagad YM, Umarmkar AR, Tatia AU, SuranaSJ.Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *brideliaairyshawii* (Euphorbiaceae). J pharm Res 2011; 4(5):1326- 1332

- [78] Choi S., Saxena N., Dhammu T., Khan M., Singh AK., Singh I., Won J. Regulation of endothelial barrier integrity by redox-dependent nitric oxide signaling: Implication in traumatic and inflammatory brain injuries. *Nitric Oxide Biol Chem* 2018;1(83): 51-64. 46.
- [79] Clemenzi M., Wellhauser L., Aljghami M., Belsham D. Tumour necrosis factor alpha induces neuroinflammation and insulin resistance in immortalized hypothalamic neurons through independent pathways. *J Neuroendocrinology* 2018;31(1): 1-11.
- [80] VG de Billerbeck, 2007. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. In : *Phytothérapie* 5, 249–253 (2007). Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0265-z> [consulté le : 13/08/2022]
- [81] Ould Mammar, N., & Abane, M. (2021). L'activité antioxydante et antibactérienne des feuilles d'*Inula viscosa* L (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [82] Kedjar, K., & Ramdane Cherif, S. 2016. *Klebsiella pneumoniae*: Antibiorésistance et effets des extraits organiques et aqueux d'*Inula viscosa* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [83] LAGHRIFI, K., & EL IDRISSE, M. (2013). Chemical Composition of essential oil of sage officinale L. (*Salvia Officinalis*). *Science lib*, (2013), volume 5, N° 131213
- [84] Chekroud, Z., Kheffif, A., & Bassout, R. (2020). Research Article Valorisation of Algerian Medicinal Plants: *Inula viscosa* L. A Future Source of Antibacterial Drugs.
- [85] Maoz, M., & Neeman, I. (1998). Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Letters in applied microbiology*, 26(1), 61-63.
- [86] Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- [87] Ulubelen, A., Öksüz, S., & Gören, N. (1987). Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, 26(4), 1223-1224.
- [88] PARIS R.R. & MOYSE H. (1965). *Abrégé de matières médicales*. Collection de pharmacie sous la direction de JAMOT, Tome 1, édition., Masson : 78-79-453.

[89] BEZZAZ, N. (2013). Détermination structural des métabolites secondaires et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* (Doctoral dissertation, Université de M'Sila-Mohamed Boudiaf).

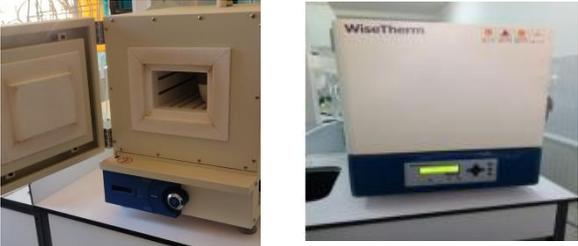
[90] Chabot, S., Bécard, G., & Piché, Y. 1992. Life cycle of *Glomus intraradix* in root organ culture. *Mycologia*, 84(3), 315-321.

[91] Rahmani S. Belkacemi D., 2019. Essai d'incorporation de la poudre de datte obtenue par séchage dans une formulation alimentaire (Madeleine). Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme master en science agronomie. Université AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

Annexe n° 01 : matériels utilisé

I. Matériels utilisés :

Tableau 01 : Le matériel du laboratoire

Matériel	Photo
Etuve de type Venticell FSNV/5072/16	
PH- mètre De type METTLER TOLEDO	
Four à moufle De type Wise Therm	
Spectromètre De type OPTIZEN 3220 UV	
Centrifugeuse De type EZ Swing 3k	

<p>Balance analytique De type OHAUS</p>	 A white analytical balance with a digital display showing 0.0024g. The brand name 'OHAUS' is visible on the front panel.
<p>Conductimètre de type AD 3000 EC/TDS & temperature Meter</p>	 A white and blue conductivity meter with a digital display showing 176.7 and 21.1. The brand name 'ADINA' is visible on the top right.
<p>Incubateur BINDER</p>	 A white Binder incubator with a red top section. The digital display shows 36.3°C and SetPt 37.0°C.
<p>Tamiseur</p>	 A label for a sieve with Chinese text: 金属丝编织网试验筛 (Metal wire woven mesh test sieve), GB/T6003.1-1997, 筛框材料 0Cr18Ni9 (Sieve frame material 0Cr18Ni9), 筛网材料 不锈钢 (Sieve net material stainless steel), 中国航空工业第五四零厂 (China Aviation Industry No. 540 Factory), 20 年 月 (20 年 月).
<p>Autoclave</p>	 A stainless steel autoclave with a control panel on the left and a lid on the right. The interior contains several bottles.



Autres matériels et verrerie :

Eprouvette, entonnoir, plaque agitatrice, bêcher, erlenmayer, tubes à essai, boîte pétri
burette dessiccateur, fiole, bec benzène, mortier.

Annexe n° 02 : Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et évaluation de l'activité anti radicalaire

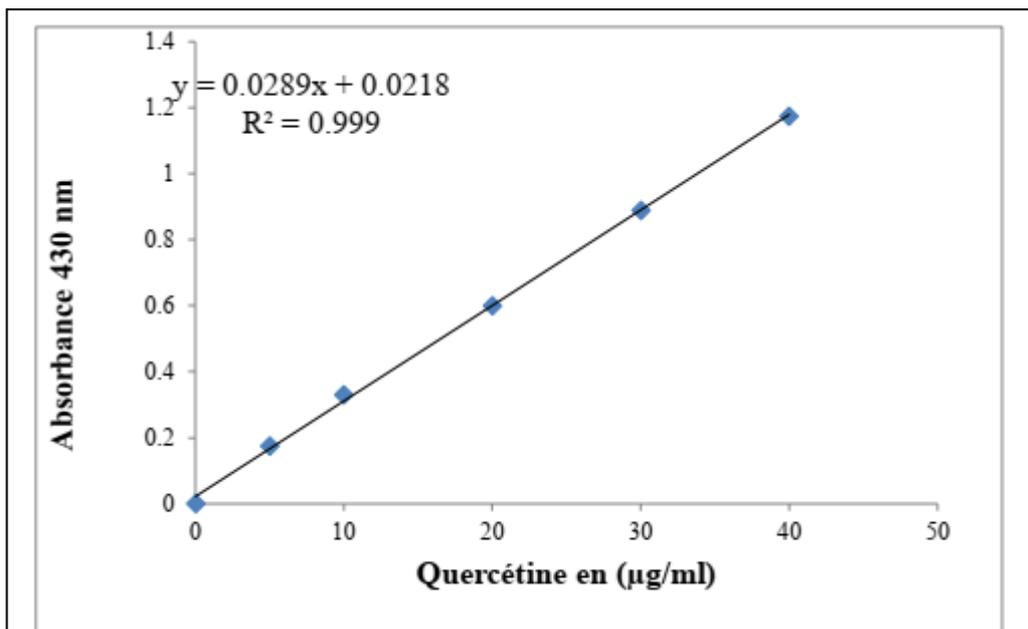


Figure 01 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes [91]

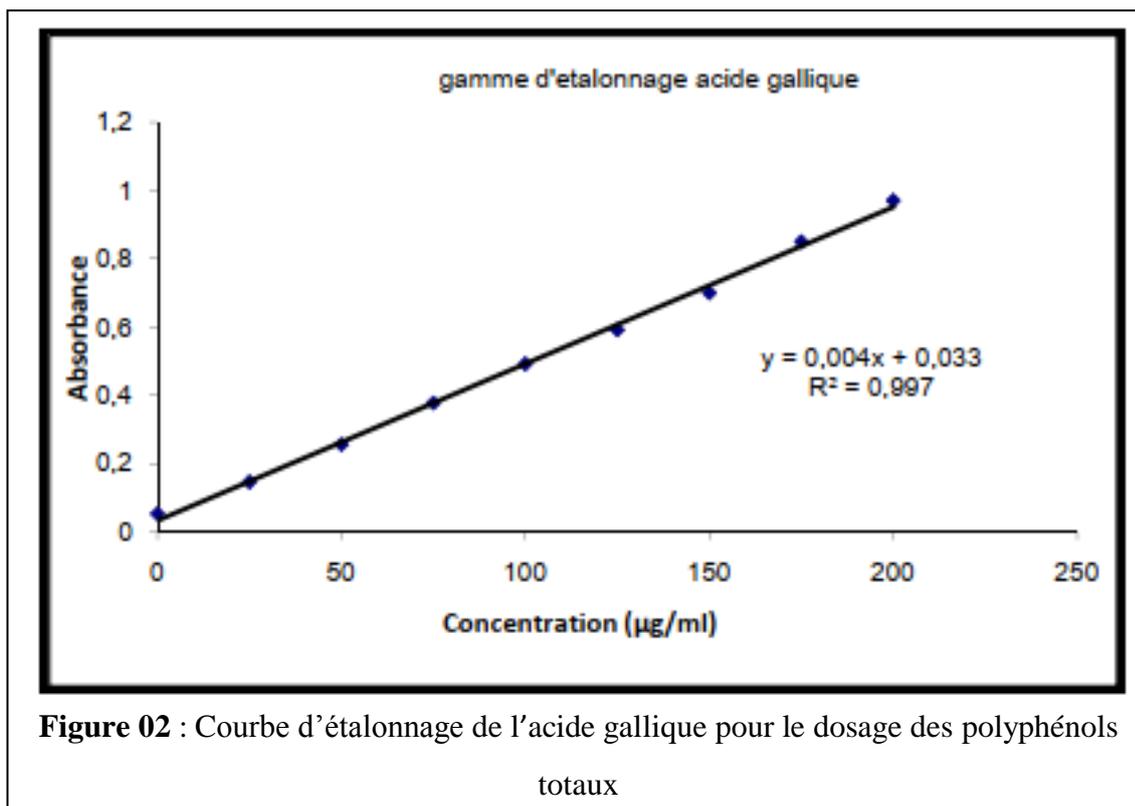
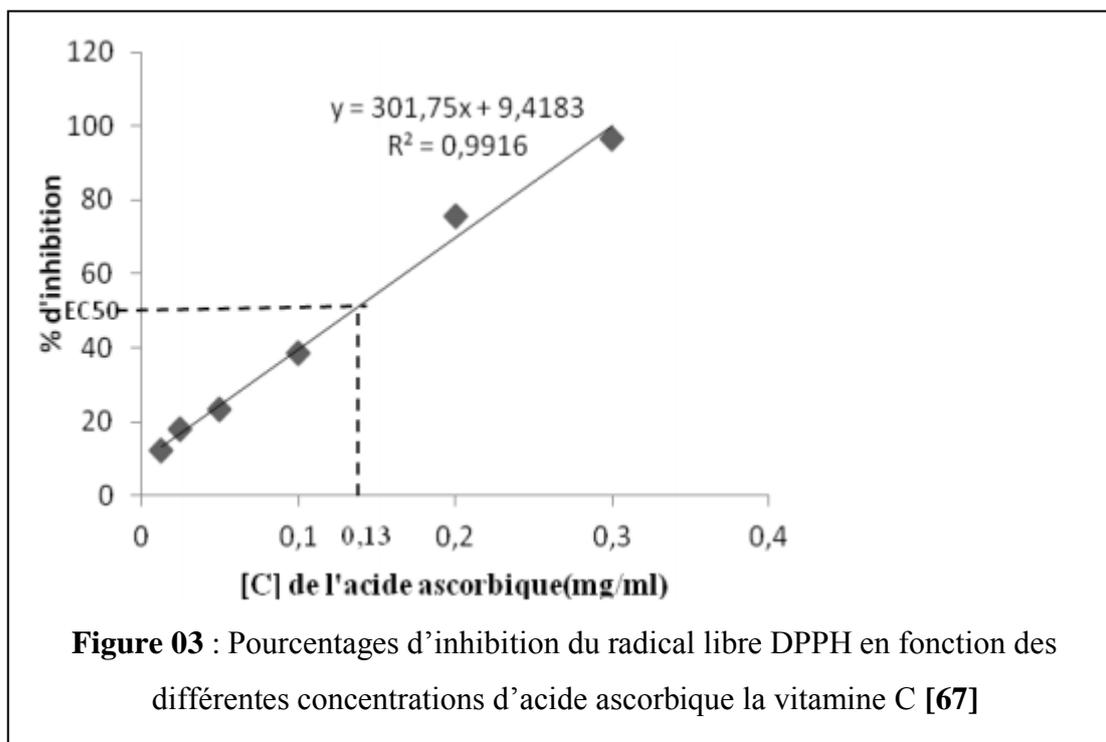


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe n° 03 : Tableaux des résultats de l'activité anti - inflammatoire

Tableau 01 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.

Doses ($\mu\text{g/ml}$)	Diclofénac sodium (%)	EAIV (poudre) (%)	EFIV (frais) (%)
50	66.48 \pm 0.11	38.8 \pm 0.2	51.23 \pm 0.15
100	74.12 \pm 0.17	49.9 \pm 0.19	62.83 \pm 0.2
150	80.92 \pm 0.3	56.25 \pm 0.47	73.41 \pm 0.3
200	85.85 \pm 0.15	64.92 \pm 0.11	81.41 \pm 0.27
250	90.94 \pm 0.43	70.01 \pm 0.25	86.01 \pm 0.17

Tableau 02 : Le pourcentage de stabilité de la membrane des globules rouges humains (HRBC) avec le diclofénac sodique et l'extrait d'inule visqueuse poudre et frais

Doses ($\mu\text{g/ml}$)	Diclofénac sodium	EAIV (poudre)	EFIV (frais)
50	51.54 \pm 0.45	43.45 \pm 0.30	43.35 \pm 0.21
100	56.07 \pm 0.50	54.16 \pm 0.29	54.24 \pm 0.33
150	69.16 \pm 0.32	66.07 \pm 0.37	66.55 \pm 0.41
200	69.76 \pm 0.21	67.85 \pm 0.24	68.08 \pm 0.27
250	84.76 \pm 0.11	83.45 \pm 0.40	83.87 \pm 0.29

Annexe n° 04 : Préparer une gamme de dilution

Préparer une gamme de dilution à partir de la solution mère (extrait de l'inule), ajouter 500 μ l de l'extrait à la première dilution (S/2), transmettre 500 μ l de la première dilution à la seconde (1/4) et répéter l'opération jusqu'à la dernière (1/64) et jeter les 500 μ l retirés de ce dernier.[54]

Tableau : Tableau des dilutions préparées

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Ethanol (μ l)	500	500	500	500	500	500

Annexe n° 05 : Les photos des expériences faites :

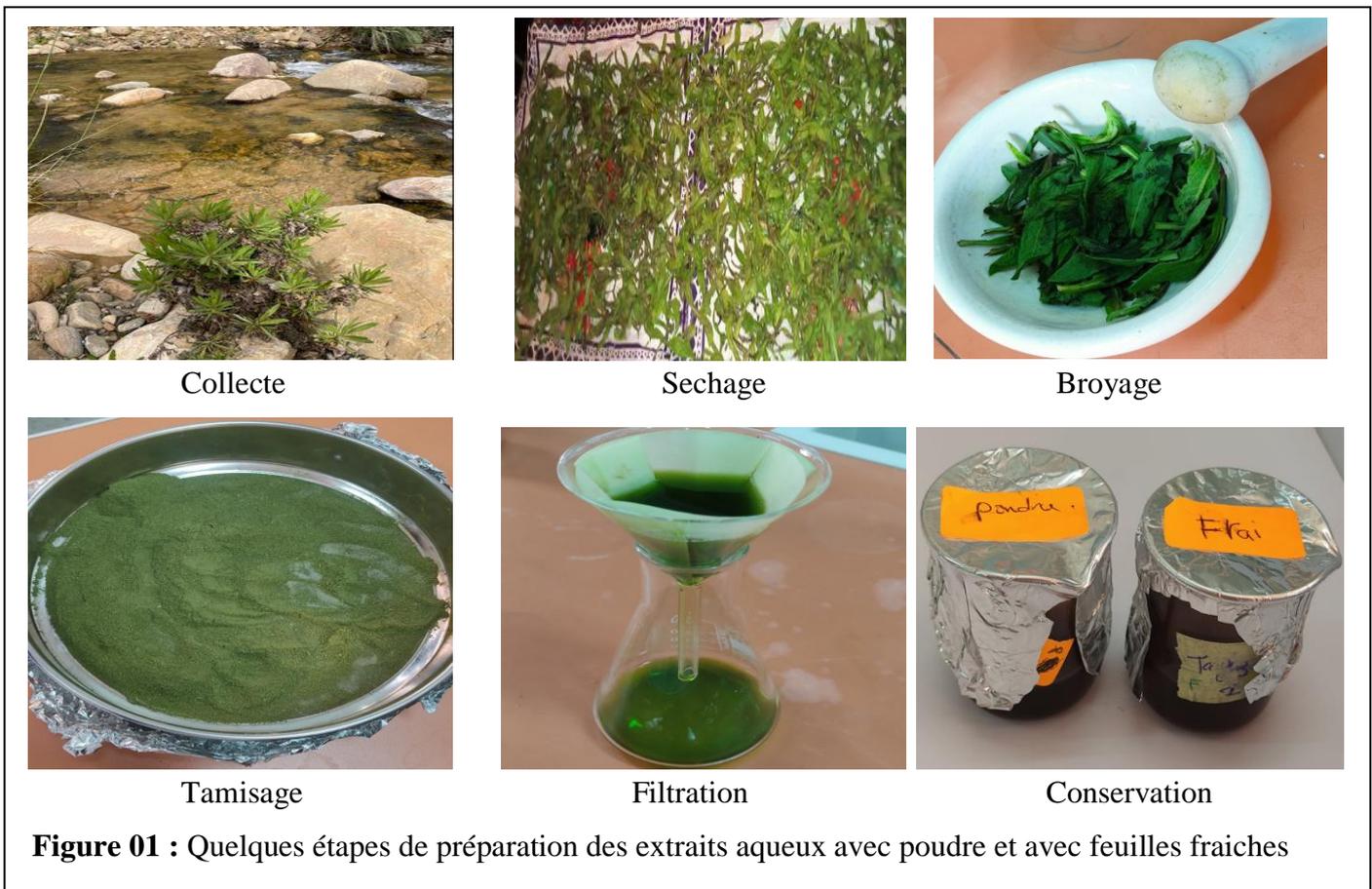




Figure 02 : La teneur en eau

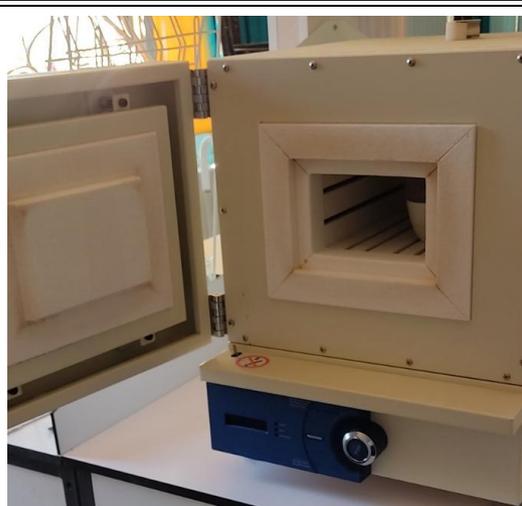


Figure 03 : détermination de La teneur en cendre

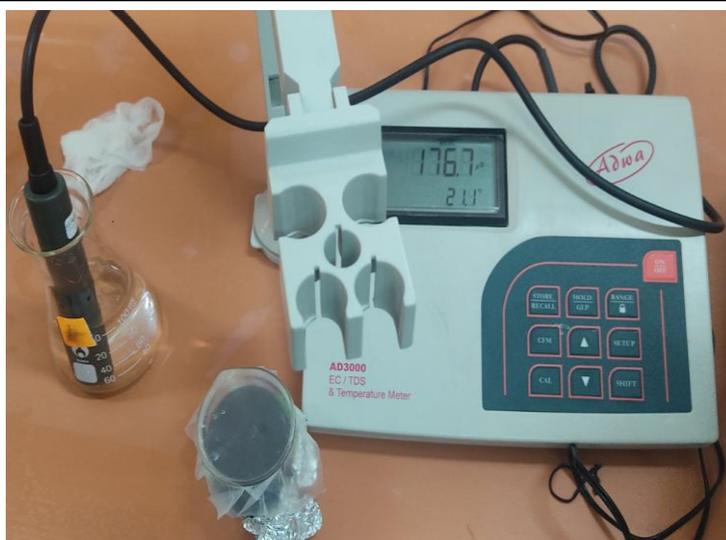


Figure 04 : Mesure de la conductivité



Figure 05 : Acidité titrable

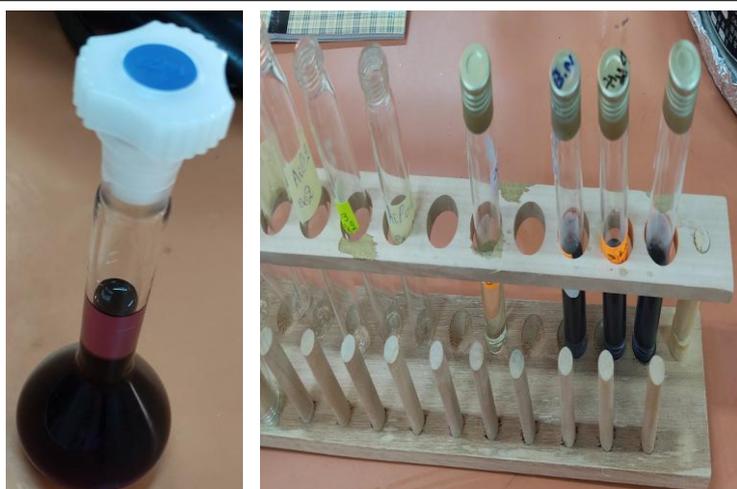


Figure 06 : Dosage des DPPH

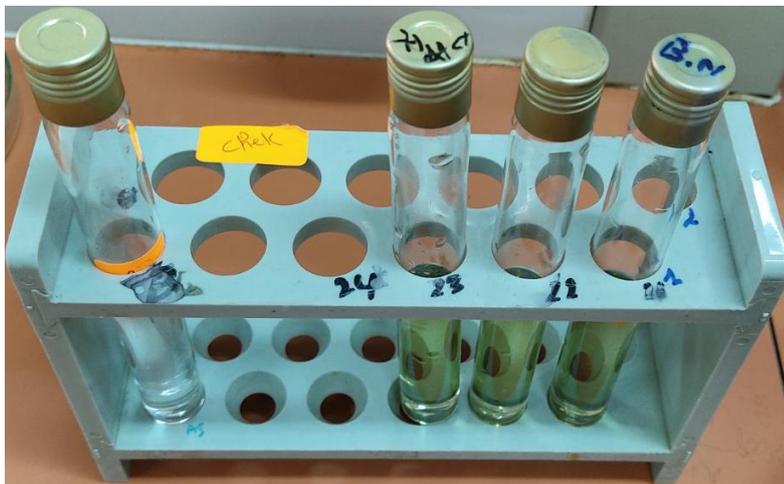


Figure 07 : Dosage des polyphénols



Figure 08 : test anti inflammatoire



Figure 09 : Les testes de sensibilisation

Annexe n° 06 : Préparation du milieu de culture

Préparation du milieu de culture :

25g du milieu Muller-Hinton déshydraté ont été pesé, mélangé dans 1 litre d'eau distillée stérile jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Par la suite, le milieu a été stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. En fin, les boites de pétri ont été coulé, et laissée solidifié près au bec benzène. Après la solidification nous avonsensemencé la bactérie en question.

Résumé

Cette recherche porte sur la quantification des composants phytochimiques et l'évaluation des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes des feuilles de la plante *Inula viscosa* (fraîches et sèches).

Les polyphénols totaux et les flavonoïdes quantifiés dans les extraits éthanoliques démontrent l'abondance de ces deux métabolites dans l'espèce. Des tests d'activité de piégeage du DPPH sont utilisés pour mesurer l'activité anti-radicalaire, et un extrait éthanolique de *I. viscosa* présente une activité de piégeage des radicaux DPPH (EC50 = 1,70 mg/ml). La plante a une forte action anti-inflammatoire telle que mesurée par le test de suppression de la dénaturation des protéines (BSA) et le test de stabilité de la membrane (MGRH). L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux a été évaluée sur des souches bactériennes responsables de diverses pathologies chez l'homme (*Salmonelle*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline « SARM », *Enterobacter*, *staphylococcus*, *Klebsiella*) et les résultats pour ces souches sont défavorables, de fait que la méthodologie et les techniques d'extraction utilisées doivent être cruciales pour produire un extrait très actif et les doses utilisées ainsi, ouvrant la porte à d'autres recherches à différentes doses.

Mots clés : *Inula viscosa*, activité anti inflammatoire, polyphénols, antioxydant, extrait éthanolique.

Abstract

This research focuses on the quantification of phytochemicals and the evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of the leaves of the plant *Inula viscosa* (fresh and dry).

The total polyphenols and the flavonoids quantified in the ethanolic extracts demonstrate the abundance of these two metabolites in the species. DPPH scavenging activity assays are used to measure free radical scavenging activity, and an ethanolic extract of *I. viscosa* exhibits DPPH radical scavenging activity (EC50 = 1.70 mg/ml). The plant has a strong anti-inflammatory action as measured by protein denaturation suppression test (BSA) and membrane stability test (HRBC). The antibacterial activity of the aqueous extract was evaluated on bacterial strains responsible for various pathologies in humans (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin "MRSA", *Enterobacter*, *staphylococcus*, *Klebsiella*) and the results for these strains are unfavorable, in that the methodology and extraction techniques used must be crucial to produce a highly potent extract and the doses used as well, opening the door to further research at different doses.

Keywords: *Inula viscosa*, anti-inflammatory activity, polyphenols, antioxidant, ethanolic extract.

ملخص :

يركز هذا البحث على كمية المواد الكيميائية النباتية وتقييم الأنشطة المضادة للأوكسدة ، لالتهابات و للبكتيريا لأوراق نبات *Inula viscosa* (طازجة ومجففة).

يظهر تقدير كمية متعدد الفينولات ومركب الفلافونويد في المستخلصات وفرة المركبين المذكورين . تم استخدام اختبار تثبيط الجذور الحرة (DPPH) لقياس نشاط مضادات الجذور الحرة ، ويظهر المستخلص الإيثانولي من *I. viscosa* نشاط تثبيط الجذور الحرة لـ DPPH (التركيز الفعال 50 = 1.70 مجم / مل). إن للنبات المذكور تأثير قوي مضاد للالتهابات كما تم قياسه بواسطة اختبار قمع تخرب البروتين (BSA) واختبار الثبات الغشائي (MGRH). كما تم تقييم نشاط مضادة البكتيريا لمستخلص مائي على سلالات بكتيرية مسؤولة عن أمراض مختلفة عند البشر (السالمونيلا ، المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين "MRSA" ، البكتيريا المعوية ، المكورات العنقودية ، الكليبيسيلا) ونتائج هذه السلالات غير مواتية لكون تقنيات الاستخراج المستخدمة حاسمة لإنتاج خلاصة قوية وكذلك الجرعات المستخدمة ، مما يفتح الباب لمزيد من البحث بجرعات مختلفة.

الكلمات المفتاحية : *Inula viscosa* ، نشاط ضد إلتهابي ، متعدد الفينول ، مضاد الأوكسدة ، مستخلص مائي