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

Université Dr Yahia FARES de Médéa
Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire
En vue de l'obtention de diplôme de Master

Filière : sciences Biologiques
Spécialité : Biologie et pathologie cellulaire

Thème

Contribution à l'étude de pouvoir biologique et chimique de la plante *Inula viscosa*L. poussant en Algérie

Présentée par :
Khaoula OULD BOUCHIBA
Amina BABI

Soutenue le:07/09/2020

Membres du Jury:

Président:	**Mr Billal KIRDI**	MAA	Université de Médéa
Examinatrice :	**Mme Karima CHAOUATI**	MAA	Université de Médéa
Promotrice :	**Dr. Amel BOUZIDI**	MAB	Université de Médéa

Année universitaire: 2019/2020

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir données la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail

Nous exprimons nos profonds remerciements :

A notre promotrice Madame Amel BOUZIDI pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer, pour son soutien, son attention, ses bons conseils et pour ses qualités humaines, pour tout cela nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude. Et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce Master

Nous remercions les membres de jury, Mme **Karima CHAOUATI**et Mr **Billal KIRDI**, d'avoir accepté juger notre travail.

À nos enseignants de notre spécialité durant tout la période universitaire

À tous les ingénieurs de laboratoire de la Faculté des Sciences

À tous les Responsables Administratifs et Scientifiques de la Faculté des Sciences

À nos ami(e)s pour leurs soutiens tout au long de l'élaboration de ce mémoire

Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à nous apporter de l'aide

Dédicace

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Je dédie ce travail :

À mes chers parents, pour leur amour, leur encouragement, leur soutien et leurs sacrifices

À mes chers frères Redhouan et son épouse, et Lotfi

À ma belle-sœur Wissem et son époux

À mes neveux et nièces

À toute ma famille et mes proches surtouts Ami Saleh (Rabi ychafih)

À ma binôme Amina et sa maman

A tous mes collègues et mes amies, surtout Kenza, Radhia et Bochra

À tous ceux que j'aime

Khaoula

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

À mes chers parents et je leur dis merci pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises. Ce travail est le fruit de votre soutien et de votre amour. Je prie toujours Dieu de vous garder près de nous
(Rabi Yahfadkom lina)

À mes frères : kheireddine, Walid et Abdou

À mes sœurs : Manel, Nawel et son époux sans oublier leur enfant Youcef

À mes grandes mères et mon grand père

À tous mes proches et ma famille surtout mes oncles Zaoui et Kamel

À mes amies: Bouchra, Kenza, Hassiba, Nessrine, ma binôme Khaoula et sa famille

À Khaled, je n'oublierai jamais les beaux souvenirs avec toi (ils resteront gravés dans ma mémoire)

Amina

Liste des abréviations

ABTS : Acide2,2'-azinobis

(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN: Acide désoxyribonucléique

$AlCl_3$: Trichlorure d'aluminium

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adénosine triphosphate

BuOH : Butanol

CAET : CapacitéAntioxydanteenEquivalent deTrolox

$CHCl_3$: Chloroforme

CMB : Concentration Minimal Bactéricide

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DO : Densité Optique

DPPH : 2,2-diphenyl-1-1picrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique

ERN : Espèce réactif de l'azote

ERO : Espèce réactif de l'oxygène

ES : Extrait sec

fe : feuille

g : gramme

GPx: Glutathion peroxydase

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

$H_3PMO_{12}O_{40}$: Acide phosphomolybdique

$H_3PW_{12}O_{40}$: Acide phosphotungstique

I: *Inula*

IC : Concentration d'Inhibition

$K_2S_2O_8$: Persulfate de potassium

LC-MS : Liquide Chromatography-Mass Spectrophotometry

mg : milligramme

min : minute

ml : millilitre

MS : Matière sèche

Na_2CO_3: Bicarbonate de sodium

nm : nanomètre

$NO^{\bullet}$: Monoxyde d'azote

$O_2^{\bullet}$: Anion superoxyde

OH : Radical hydroxyle

$ONOO^{-}$: Peroxynitrite

ONOOH: Nitroperoxyde

SOD: Superoxyde dismutase

tg : tige

TTF: teneur total en flavonoïde

UV : Ultra violet

λ : Longueur d'onde

µl : microlitre

%I : Pourcentage d'Inhibition

°C : Degrés Celsius

Lexique

Allopathie : est un concept utilisé par les tenants des médecines non-conventionnelles pour désigner la médecine conventionnelle fondée sur les faits.

Anticarcinogène : est une substance qui neutralise les effets d'un agent cancérigène ou inhibe le développement du cancer.

Anticholinestérase : est un inhibiteur d'un enzyme cholinestérase responsable de la dégradation de l'acétylcholine.

Antipyrétique : est un principe actif utilisé pour lutter contre les états fiévreux et certain syndromes inflammatoire aigus.

Antiseptique : est un désinfectant à usage corporel ; c'est une substance qui tue ou prévient la croissance des micro-organismes sur une surface externe du corps.

Apoptose : correspond à un suicide cellulaire ou mort cellulaire programmée.

Athérosclérose : est une maladie dans laquelle les artères de gros et moyen calibre sont plus ou moins obstruées par des plaques qui contiennent du cholestérol, des lipides, et des débris.

Diététique : est l'étude de l'hygiène et des régimes alimentaires fondée sur l'étude de la valeur nutritive des aliments.

Eucaryote : est un organisme vivant constitué de cellules possédant des compartiments, en particulier un noyau.

Muréine : est un type de peptidoglycane entre dans la constitution de la paroi des eubactéries.

Paludisme : ou la malaria ; est une maladie infectieuse due à un parasite du genre Plasmodium, propagée par la piqure de certaines espèces de moustiques, infeste les globules rouges.

Peroxyde : est un composé chimique contenant un groupe fonctionnel de formule générale R-O-O-R'.

Phylogénétique : une classification phylogénétique suppose que l'on regroupe les être vivants en fonction de leurs liens de parenté**.**

Polyphénols : constitue une famille de molécules organiques présente dans le règne végétal.

Psoriasis : est une maladie inflammatoire affectant la peau et d'autres organes.

Spermatophyte : est une plante se reproduisant par l'intermédiaire de fleurs et de graines.

Tyrosinase : est une oxydase qui est l'enzyme limitant la vitesse pour contrôler la production de mélanine.

Vermifuge : un remède ou traitement médicamenteux qui tue les vers intestinaux.

Listes des figures

1	Structure de base des flavonoïdes	4
2	La structure des classes majeures des flavonoïdes	5
3	Structure de base des tanins	6
4	Structure de base des coumarines	6
5	Structure de base des alcaloïdes	6
6	Aspect morphologique de la plante Inula viscosa(L.)	11
7	Répartition géographique de l'Inula viscosa(L.)dans le monde	13
8	Répartition géographique de l'Inula viscosa(L.)en Algérie	13
9	Enveloppe de bactéries Gram +	18
10	Enveloppe de bactéries Gram-	18
11	Cibles d'action des antibiotiques	20
12	Les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	21
13	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydants	25
14	Conservation de la plante après broyage	28
15	Situation géographique du site de collecte d'Inula viscosa(L.)	28
16	Les étapes de préparation de l'extrait aqueux de feuilles ou de tiges de l'espèce Inula viscosa(L.)	29
17	Préparation de l'extrait aqueux de feuilles de l'Inula viscosa(L.)	29
18	Préparation d'extraits depolarités différentes de feuillesde l'Inula viscosa(L.)	31
19	Détermination de la CMI	34
20	Détermination de la CMB	35
21	Réaction de réduction du radical DPPH	36
22	Oxydation dusel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) en cation radical$ABTS^{+\bullet}$ par le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$)	3

Liste des tableaux

1	**Taxonomie de la plante Inula viscosa(L.)**	**12**
2	**L'usage traditionnel de la plante Inula viscosa(L.)dans différentes régions**	**14**
3	**Travaux de recherche réalisés sur l'espèce Inula viscosa(L.)**	**15**
4	**Exemple d'espèces radicalaires**	**23**

Tabledes matières

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Lexique

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

الملخص

Résumé

Abstract

Introduction **1**

CHAPITRE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES PLANTES EN MEDECINE **3**

I.1. Plantes médicinales **3**

I.2. Métabolites des plantes **3**

I.2.1. Les métabolites primaires **3**

I.2.2. Les métabolites secondaires **4**

I.2.2.1. Les flavonoïdes **4**

I.2.2.2. Les tanins **5**

I.2.2.3. Les coumarines **5**

I.2.2.4. Les alcaloïdes **6**

I.2.2.5. Les terpènes **7**

I.2.2.6. Les huiles essentielles **7**

I.2.2.7. Les saponines **8**

I.3. Phytothérapie **8**

I.3.1. La phytothérapie traditionnelle **8**

I.3.2. La phytothérapie clinique **8**

II. ETUDE BOTANIQUE

II.1. Description botanique et géographique de la famille des composées **9**

II.2. Le genre Inula **9**

II.3. Inula viscosa (L.) **9**

II.3.1. Etymologie de l’espèce Inula viscosa (L.) **9**

II.3.2. Autres appellations **10**

II.3.3. Description botanique **10**

II.3.4. Organographie 10
II.3.4.1. Partie aérienne 10
II.3.4.2. Partie souterraine 11
II.3.5. Classification botanique 11
II.3.6. Distribution géographique de l'Inula viscosa (L.) 12
III. ETUDE ETHNOPHARMACOLOGIQUE 14
IV.TRAVEAUX ANTERIEURS 15
V. ETUDES BIOLOGIQUES 17
V.1. Activité antibactérienne 17
V.1.1. Généralité sur les bactéries 17
V.1.1.1. Définition 17
V.1.1.2. Type de bactéries 17
V.1.1.2.1. Bactéries Gram + 17
V.1.1.2.2. Bactéries Gram-- 18
V.1.2. Antibiotiques 19
V.1.2.1. Les antibiotiques naturels et synthétiques 19
V.1.2.2. Mode d'action des antibiotiques 19
V.2.2.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques 20
V.2. Activité antioxydante 22
V.2.1. Radicaux libres 22
V.2.1.1. Définition 22
V.2.1.2. Caractéristique des radicaux libres 22
V.2.1.3. Différents types de radicaux libres 23
V.2.2. Le système antioxydant 24
V.2.2.1. Antioxydants Endogènes 24
V.2.2.2. Antioxydants Exogènes 24
CHAPITRE II:MATEIEL ET METHODES
I. Objectif 26
II. Matériel 26
III. Méthodes 27
III.1. Récolte et préparation de la matière végétale 27
III.1.1. Récolte 27
III.1.2. Lieu de récolte 28
III.2. Etudes chimiques 28
III.2.1. Préparation d'extraits de polarités différentes d'Inula viscosa (L.) 28
III.2.1.1. Préparation par macération d'extrait aqueux 28

III.2.1.2. Préparation par extraction liquide-liquide d'extraits de différentes polarités 30
III.2.1.3. Calcul du rendement des extraits 31
III.2.2. Test phytochimique (screening phytochimiqe) 31
III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux 32
III.2.2.2. Dosages des flavonoïdes 32
III.2.2.3. Dosage des tanins 33
III.3. Etudes biologiques 33
III.3.1. Activité antibactérienne 33
III.3.1.1. Méthode de microdilution 33
III.3.1.2. Préparation de l'inoculum 33
III.3.1.3. Détermination de CMI 34
III.3.1.4. Détermination de CMB 35
III.3.2. Activité antioxydante 35
III.3.2.1. Etudes d'activités antioxydants impliquant le radical DPPH 35
III.3.2.2. Etudes d'activités antioxydants impliquant le cation radical ABTS+• 37
Conclusion 39
Perspectives 40
Références bibliographiques 41

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, puis comme médicaments et remèdes afin de traiter différentes maladies. Aujourd'hui, une majorité de la population mondiale et particulièrement dans les pays en voie de développement se soigne avec des remèdes traditionnelles à base de plantes **(GUEYE, 2007)**

L'histoire des plantes aromatiques etmédicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire **(BOUZOUITA, 2005)**.

Malgré les efforts des chimistes dans la synthèse de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes **(NEWMAN et *al*., 2000)**.

En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb, le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu.La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité Méditerranéenne, Saharienne et Paléo-Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15 % d'espèces sont endémiques **(OZENDA, 1977)**. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

Dans le cadre de la valorisation de la flore du Médéa, la présente étude est une contribution aux études chimiques et biologiques de la plante *Inula viscosa*(L.)qui appartient à la famille des *Astéracées*. C'est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen et largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des différentes maladies.

La crise sanitaire mondiale qui a été causée par le Covid-19, était un obstacle devant la réalisation de la partie pratique de ce mémoire de Master, pour ce fait, notre travail ne renferme que deux parties :

Une synthèse bibliographiquecomportant les études ethnopharmacologiques, botaniques et l'exploitation des travaux antérieurs qui nous ont permis de choisir la plante*Inula viscosa*(L.) objet de la présente recherche.

Au cours de la deuxième partie, nous avons précisé le matériel et les méthodes que nous avons utilisés pour la réalisation de nos études chimiques et qui ont été prévus pour nos études biologiques,antibactériennes et antioxydantes,de l'espèce objet de cette recherche.

CHAPITRE I:
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.LES PLANTES EN MEDECINE

I.1. Plantes médicinales

Depuis longtemps, les plantes réputées médicinales avaient un rôle important dans la médecine traditionnelle. Elles sont une source naturelle et moins couteuse de la thérapie, soit sous forme de préparation traditionnelle ou sous forme de principe actif.

Les plantes médicinalessont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux.

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont l'un de ses organes possède des vertus curatives lorsqu' il est utilisé à un certaine dosage et d'une manière précise**.**

Elles sont connues pour produire certaines molécules bioactives qui possèdent différentes propriétés cosmétiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires ouindustrielles **(EL OUARIACI et al., 2014)**.

I.2. Métabolites des plantes

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et le maintien de l'équilibre de l'écosystème. Elles renferment une part importante de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques et biochimiques ayant lieu dans l'organisme.

Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux, nous distinguons deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires **(HARTMANN, 2007)**.

I.2.1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont nécessaires et vitaux à la survie de la cellule ou de l'organisme **(DIALLO, 2000)**.

Nous pouvons citer :

- Les glucides : source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose)
- Les lipides : source d'énergiedans les membranes cellulaires
- Les amino-acides : source primaire de synthèse des protéines

I.2.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques synthétisés par les plantes. Ils assurent des fonctions non essentielles et jouent un rôle de défense contre les agressions extérieures. Ils constituent un groupe de produits naturels qui sont de plus en plus exploités pour leurs diverses propriétésantioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticarcinogènes oumutagènes (**EPIFANO et al., 2007)**.

Les produits du métabolisme secondaire sont émis en très faible quantité, ils sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies) **(HARTMAN, 2007)**. Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure.

Ils sont présents dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les terpènes, les huiles essentielles et les saponines,

I.2.2.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols**(SEYOUM et al., 2006)**. Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques**(LESERF et RAGOT, 2012)**.

Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Figure 1) **(YAO et al., 2004).**

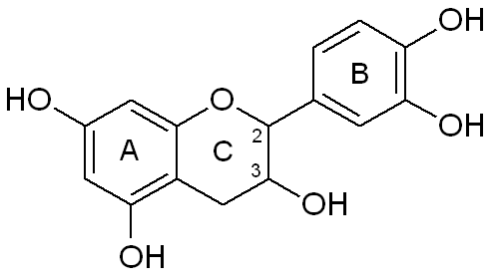
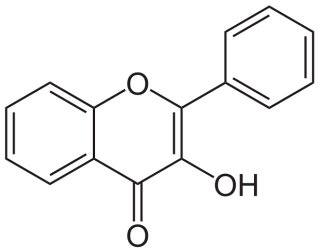


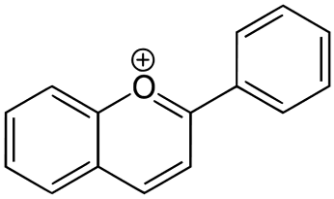
Figure 1: Structure de base des flavonoïdes (@[1])

A l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**GHASTEM etal., 2001)**. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en une quinzaine

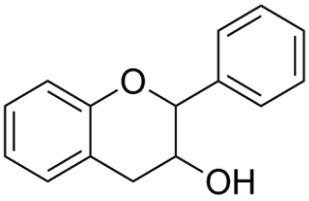
de familles de composés, dont nous pouvons citerles flavonols (kaempférol), les anthocyanes (cyanidine), les flavanols (catéchine) et les flavanones (naringénine)(Figure 2 (A, B, C et D)).



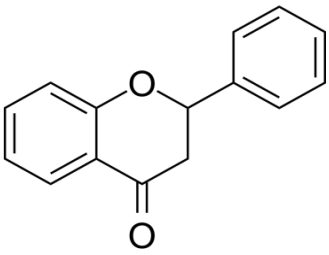
A. Flavonol



B. Anthocyane



C. Flavanol



D. Flavanone

Figure 2 (A, B, C et D): Les structures de quelques classes de flavonoïdes(@[2],@[3],@[4],@[5])

I.2.2.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires **(KECHKA, 2008)**, hydrosolubles ayant unpoids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da**(KAMARA et al., 2006)**. Ils peuvent exister dans divers organes : écorce, feuilles, fruits, racines et graines **(KHANBABAE et REE, 2001)**.

Ils sont utilisés pour tanner les peaux **(PARIS et HURRABIELLE, 1998)**et pour stopper les hémorragies et lutter contre les infections **(SMYTHIES, 1998)** à côté de plusieurs autresactivités biologiques**(CHUNG et al., 2010)**.

Les tanins sont divisés en 2 groupes **(BRUNETON, 1997)** :

- **Les tanins hydrolysables** : constitués par unemolécule glucidique sur laquelle est fixée l'acide gallique ou l'un de ses dérivés (acide éllagique, acide m-digallique).
- **Les tanins condensés ou proanthocyanidols** : résultant de la polymérisation de molécules de flavanes (flavane ol-3, flavane ol-4, flavane diol–3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques ».

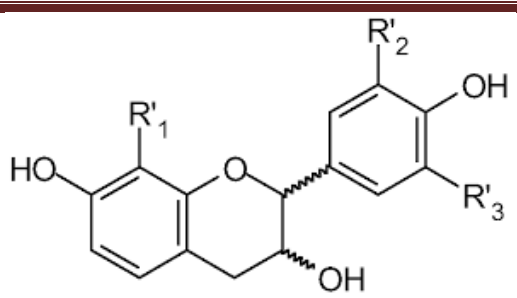


Figure 3 : Structure de base des tanins(@[6])

I.2.2.3.Les coumarines

Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes **(MADHAVID et al,1996)**.

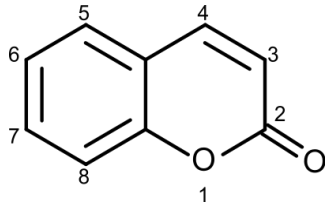


Figure 4 : Structure de base des coumarines (@[7])

I.2.2.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques hétérocycliques, azotées de faibles poidsmoléculaires et à propriétés basiques ou amers. Bien que beaucoup d'entre eux sont toxiques(strychnine ou aconitine)**(DELLILE, 2007)**, certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (morphine, codéine).

Comme un grand nombre de produits naturels, la quasi-totalité des noms communs d'alcaloïdes portent une terminaison en «-ine», telles que la nicotine, la caféine, l'atropine, l'ibogaïne ou la morphine **(PARIS et HURABIELLE, 1981)**.

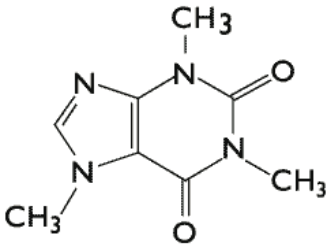


Figure 5:Structurede base des alcaloïdes (@[8])

I.2.2.5. Les terpènes

Les terpènes (= Terpénoïdes) sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaine ouverte, leur formule brute est (C5HX) n avec une ou plusieurs fonctions chimique (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes C_5H_8**(CHARPENTIER etal., 2008)**.

Dans les huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils. C'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, on peut distinguer :

- n = 2 : les monoterpènes (C10)
- n = 3 : les sesquiterpènes (C15)
- n = 4 : les diterpènes (C20)
- n = 5 : les sesterpènes (C25)
- n = 6 : les triterpènes (C30)
- n = 9 : les tétraterpènes (C40)**(BRUNETON, 1999)**

Parmi les terpènes les plus importants on trouve: l'α-pinène, le ß-pinène, le δ-3-carène, le limonène, le carotène…

On appelle un terpène contenant de l'oxygène un terpènoïde. Les terpénoïdes ont été trouvés pour être utile dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies comme le cancer, ils ont des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires, antiviraux, anti-allergénique, antispasmodique, anti-hyperglycémique, antiinflammatoires et immunomodulatrices **(SHAH et al., 2009)**. En autre, les terpènes peuvent être utilisés comme substances insecticides et protectrices dans le stockage des produits agricoles **(THEIS et LERDAU, 2003)**, et aussi dans le secteur de la nutrition humaine (saveur, conservateur) et l'industrie de parfum **(UPTON, 2006)**.

I.2.2.6. Les huiles essentielles

I.2.2.6.1. Définition

Les huiles essentielles sont synthétisées par des plantes aromatiques, elles sont des mélanges naturels complexes des métabolites secondaires volatiles **(KALEMBA, 2003)**, sous forme liquide, incolores ou jaune pâle, odorantes et non grasses,**(CHARPENTIER et al., 2008)**.

I.2.2.6.2. Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux supérieurs **(BRUNETON, 1999)**, elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les

écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les graines **(SANGWAN et al., 2001)**.

I.2.2.6.3.Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différentes. Ces composés sont des molécules volatiles appartiennent principalement à deux grandes familles de composées chimiques : les composés terpénique et les composés aromatique **(SELL, 2006)**.

I.2.2.7. Les saponines

Mots latin «sapon», l'herbe à savon **(ALLION A, 2004)**, Ils produisent de la mousse quand on les plonge dans L'eau. Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes médicinales. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpènoides. Ils jouent un rôle dedéfense du végétale contre les pathogènes microbiens. De plus, ils sont de puissants hémolysants, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro -alimentaire **(BRUNETON, 1999)**.

I.3. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapia qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

Aussi,La Phytothérapie peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe**(WICHTL et al., 2003)**.

On distingue deux types de phytothérapies :

I.3.1. La phytothérapie traditionnelle

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elle concerne notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques **(CHABRIER, 2010)**.

I.3.2. La phytothérapie clinique

La phytothérapie clinique n'est pas une médecine par les plantes. C'est une application thérapeutique qui repose sur une approche globale de l'homme. C'est une médecine de

terraindans laquelle lemalade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet **(MOREAU, 2003)**.

II. ETUDE BOTANIQUE

II.1. Description botanique et géographique de la famille des composées

La famille des composées (Astéracées) est l'une des plus grandes familles du règne végétal. Elle comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces **(GAUSSEN et LEROY, 1982)**. En Algérie, il existe 109 genres et 408 espèces **(QUEZEL et SANANTA ,1963)**.

Les composées sont des herbes, des arbustes ou des sous-arbrisseaux, vivaces ou non, parfois des épiphytes ou herbes de plantes aquatiques. Nous trouvons généralement les différentes espèces de cette famille dans les régions tempérées et froides du globe **(PARIS et MOYSE, 1971)**.

II.2. Le genre Inula

Le genreInula comprend environ 100 espèces **(ALI et al., 1992)**. Ce sont des plantes herbacées vivaces, à feuilles alternes. Capitules jaunes, contenant à la fois des fleurs tubuleuses et des fleurs ligulées, bractées en plusieurs séries. Fleures périphériques pastillées, à ligules tridentées. Anthères sagittées à la base.

II.3. Inula viscosa(L.)

II.3.1. Etymologie de l'espèce Inula viscosa (L.)

L'inule visqueuse est l'un des rares représentants du genre Inula **(CHIARLO, 1968)** :

- Inula : viendrait du grec : Inéo qui signifié je purge (Allusion à une propriété thérapeutique de la plante) **(FAURON et al., 1983)**.

- Viscosa : veut dire visqueuse **(FOURNIER, 1947)**.

II.3.2. Autres appellations

Nom scientifique	Inula viscosa (L.)
Nom arabe	El tibek, el tyoun, el rassen el dabik, Amagramane,magramane ou Mersit **(QUEZEL et SANTA, 1963)**
Nom français	Inule visqueuse, Aunée visqueuse
Nom anglais	Rock Flea-bane**(HALIMI, 1997)** ou Woody Fleabane **(BRULLO et DE MARCO, 2000)**
Au Maroc	Trehla **(ZEGGWAGH et al., 2006)** ou Bageraman **(CHAHMI, 2015)**
En Espagne	Jolivarda, joliverda, xoliverda, oliverda**(FRESQUET et al., 1993)**

II.3.3. Description botanique

Inula viscosa(L.)appelée aussi Dittrichia viscosa rattachée au genre Dittrichia, car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui la caractérise des autres espèces du genre Inula**(CICARELLI et al., 2007)**.

Cette plante est très mellifère (**FRANCO etal., 2008 ; WARLOP, 2006)**. C'est un arbuste vivace (**QUEZEL et SANTA, 1963 ; BEZANGER et al., 1986)**, atteint de 50cm à 1m de hauteur (**QUEZEL et SANTA, 1963)**, quifleurit de la fin de l'été à l'automne**(FOURNIER, 1947 ; AIT YOUCEF, 2006 ; WARLOP et al., 2009)**, sa croissance est rapide. La plante couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante **(REEB, 2010)**.

II.3.4. Organographie

II.3.4.1. Partie aérienne

- **Feuilles :**entières ou dentées, sinuées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires. La base du limbe des feuilles de la tige semble l'entourer partiellement. Leur marge est lisse avec un sommet aigu.

- **Tiges :**assez ramifiées et pourvues d'un feuillage dense. Avec l'âge, elles deviennent ligneuses et foncées à la base.

- **Fleurs :**rayonnantes, regroupées en capitules d'environ 10-20 mm de diamètre, entourées par un involucre de bractées, qui peuvent être en partie membraneuses et ciliées. Chez Inula viscosa(L.)la floraison commence à partir du mois de Septembre.

Les inflorescences sont de longues grappes et présente de nombreux capitules à fleurs jaunes au sommet de la tige. L'ovaire se trouve sous les pièces florales.

Les capitules sont groupés eux-mêmes pannicules assez dense : ils sont portés par des ramifications nombreuses de la tige principale, l'ensemble ayant une forme grossièrement pyramidale **(BAYDAR, 1998)**.

- **Fruits :**sont des akènes (fruits secs) velus de un à 2 mm de long, un peu ovoïdes, sont surmontés par une petite aigrette jaunâtre de soies denticulées. (Baydar, 1998). Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule **(QUEZEL et SANTA, 1963)**.



Figure 6 (a-d) : Eléments de la partie aérienne de la plante Inula viscosa (L.)**Feuilles (a) (photo originale), fleurs (b) (@[9]), tige (c) (photo originale)et fruits (d) (@[10])**

II.3.4.2. Partie souterraine

L'inule visqueuse est une plante à racine pivotante, ligneuse à sa base toute glanduleuse visqueuse, pouvant atteindre 30 cm de long.

II.3.5. Classification botanique

La systématique d'Inula viscosa(L.)est présentée dans le tableau 1 **(FOURNIER, 1947)** :

Tableau 1 : Taxonomie de la plante Inula viscosa(L.)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Astéridées
Ordre	Astérales
Famille	**Astéracées**
Genre	Inula
Espèce	**Inula viscosa**(L.)
Nom vernaculaire	Magramane ou mersitt **(ZEGUERROU et al, 2013)**

II.3.6. Distribution géographique de l'Inula viscosa(L.)

1- Dans le monde :

Elle est commune dans les pays de Maghreb : Algérie, Maroc, Tunisie et Egypte**(REEB,2010)**. Elle est présente dans certains pays d'Europe comme l'Espagne, la France et l'Italie **(AL-DISSI et al., 2001)**. Elle se trouve aussi dans les pays d'Asie tels que la Chine, la Turquie, le Japon, La Corée.



Figure 7 : Répartition géographique de l'Inula viscosa(L.)dans le monde

2- En Algérie :

Inula viscosa(L.)est largement répandue dans le Nord d'Algérie **(QUEZEL et SANTA 1962)**,on peut la trouver un peu partout en Algérie notammentOran, Constantine, Alger, Boumerdès, Tlemcen, Annaba, Biskra, Tipaza, Kabyle et Médéa.

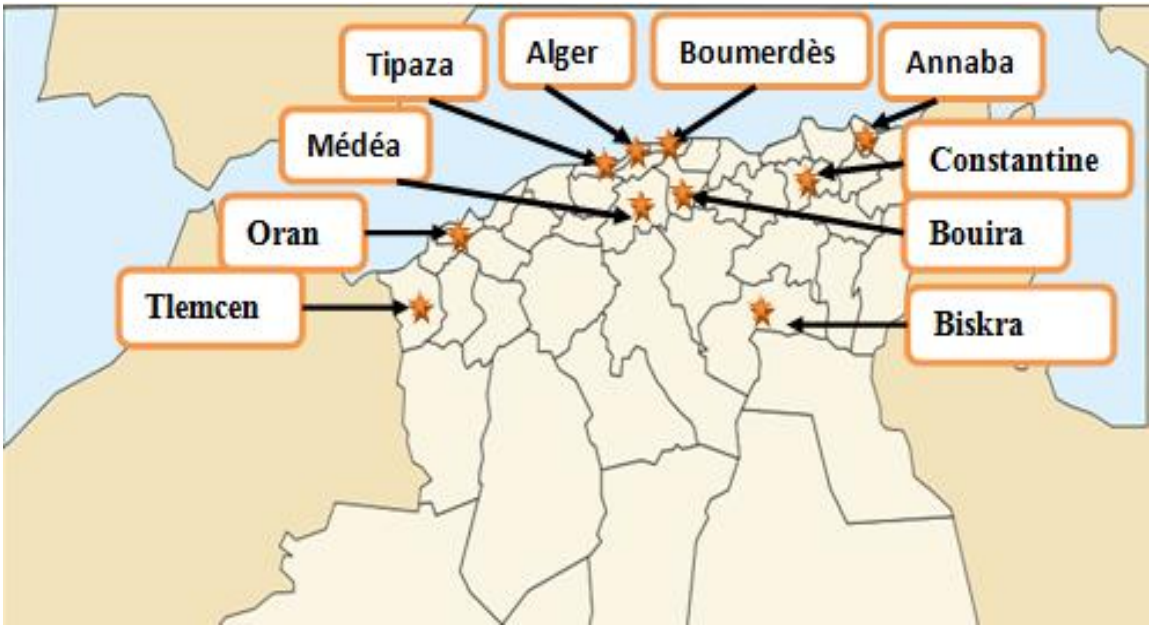


Figure 8 : Répartition géographique de l'Inula viscosa(L.)en Algérie

III. ETUDE ETHNOPHARMACOLOGIQUE

La plante Inula viscosa(L.)considérée comme la reine des plantes médicinales. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour soulager ou traiter divers maux. Son utilisation a été signalée dans quelques pays et dans le tableau 1 nous citons des exemples de son utilisation.

Tableau2:L'usage traditionnel de la plante Inula viscosa(L.)dans quelques régions

Région	Partie utilisée	Utilisation traditionnelle	Référence
Algérie	Feuilles	Céphalées, les douleursrhumatismales, cicatrisation, vermifuge, antihémorragiques, hypoglycémiants, contre les infections des voies urinaires.	**BABA AISSA, 2000**
	Feuilles, tiges et fleures	Analgésique, antiseptique,diurétique, hémostatique, pour traiter les bronchites, le diabète et les blessures	**HAOUI et al., 2015**
Maroc	Feuilles	Contre le rhumatisme, la tuberculose et la bronchite	**HMAMOUCHI et al., 2001**
	Feuilles et fleurs	Pour traiter le diabète	**EDDOUKS et al., 2007**
	Feuilles et racines	Pour traiter l'hypertension	**TAHRAOUI et al., 2007**
Palestine	Feuilles	Pour la relaxation des muscles et pour traiter l'infertilité	**KAILEH et al., 2007**
Jordon	Feuilles, tiges et fleures	Pour traiter les infections respiratoires, troubles intestinales, hémorroïdes, diabète et blessures	**ABUHAMDAH et al., 2013**
Espagne	Feuilles	Pour traiter les troubles gastroduodénales	**LASTRA et al., 1993**
	Feuilles	Anti-inflammatoire, antiseptique, antilytique rénal, diurétique, hypotensifs, analgésique, antirhumatismal	**FRESQUET et al., 1993**
Italie	Racines	Pour traiter l'irritation de la peau d'origine allergique	**PASSALAC et al., 2007**
	Feuilles, tiges et fleures	Antihémorragique et contre le psoriasis	**MUSTHABA et al., 2014**

IV.TRAVEAUX ANTERIEURS

L'espèce Inula viscosa (L.)a été étudiée dans plusieurs régions par certains chercheurs. Dans le tableau 3 nous citons quelques travaux de recherche réalisés sur cette plante.

Tableau 3: Travaux de recherche réalisés sur l'espèce Inula viscosa(L.)

Région	Partie utilisée	Etude	Référence
Algérie	Feuilles	Compositions en huiles essentielles dont les composés majoritaires sont les **sesquiterpènes (92,7%)**et l'**acide isocostique (70,8%)**	**HAOUI et al., 2015**
		Etude de la composition chimique par LC-MS	**KHEYAR et al., 2018**
	Feuilles et fleurs	Activité antibactérienne des huiles essentielles	**KHEYAR et al., 2014**
		Activités antifongique et antioxydante	**BEN HAMMU et al., 2008**
		Activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique	**OUAHCHIA et al., 2019**
Tunisie	Feuilles	Compositions en huiles essentielles	**AISSA et al., 2019**
		Composition en lipides et acides gras	**MAHMOUDI et al., 2016**
	Feuilles, fleurs et tiges	Compositions en huiles essentielles	**GHARRED et al., 2019**
Maroc	Feuilles	Activité antihypertenseur	**KATTOUF et al., 2009 ; HAKKOU et al., 2017**
	Feuilles, fleurs, racines et tiges	Activité cytotoxique	**MESSAOUDI et al., 2016**
		Activité antioxydante	**CHAHMI et al., 2015**
	Feuilles, fleurs	Activités hypoglycémianteet hypolipidémiante	**ZEGGWAGH et**

	et tiges		**al., 2006**
Jordon	Feuilles	Activité antibactérienne	**ABUHAMDAH et al., 2013**
		Activité anti-implantation	**AL-DISSI et al., 2001**
Syrie	Feuilles	Activité nématricide	**AL-NASER et al., 2001**
Palestine	Feuilles	Activité anti-malaria	**AKKAWI et al., 2014**
	Feuilles, fleurs, racines et tiges	Activités antioxydante et antibactérienne	**SALIM et al., 2017**
Turquie	Feuilles	Activités cytotoxique et génotoxique	**ÇELIK et ASLANTURK, 2010**
	Feuilles et fleurs	Activités antiproliférative, antioxydante et antibactérienne	**OZKAN et al., 2019**
Espagne	Feuilles, fleurs et tiges	Activités anti-inflammatoire et antioxydante	**SCHINELLA et al., 2002**
Portugal	Feuilles, fleurs et tiges	Activité antimicrobienne des huiles essentielles	**SILVA et al., 2005**
Italie	Feuilles et fleurs	Activité antifongique des huiles essentielles	**CAFARCHIA et al., 2002**

V. ETUDES BIOLOGIQUES

V.1. Activité antibactérienne

V.1.1. Généralité sur les bactéries

V.1.1.1. Définition

Les bactéries sont des microorganismes vivants, au même titre que les virus et les champignons. Elles jouent un rôle très important dans l'environnement. Certains sont pathogènes pour l'homme (tuberculose, fièvre typhoïde…), les animaux (brucellose mammites …) et les plantes (gales, flétrissement…) **(KAMBOUCH, 2009)**, Certaines d'autres ont un effet bénéfique sur l'organisme humain etutilisées dans l'alimentation ou dans certains médicaments pour rééquilibrer le microbiote **(GOULET, 2009)**.

V.1.1.2.Type de bactéries

Les bactéries constituent le groupe le plus important et le plus diversifié des protistes procaryotes. Ces micro-organismes sont classés en fonction de leurs morphologies en bactéries à forme sphérique (coque), allongée, en bâtonnet (bacilles) ou spiralée. Elles sont caractérisées par l'existence d'une paroi rigide parfois doublée d'une capsule, en se basant sur la différence de la structure et de la composition chimique de cette paroi cellulaire mise en évidence grâce à la coloration de Gram.Ainsi, les bactéries peuvent être divisées en deux groupes : bactéries Gram+ et bactéries Gram- **(FREDRICKSO, 2004)**.

D'autres critères peuvent intervenir au classement de ces micro-organismes tels que leur mobilité, leur capacité à sporuler ou leur température de croissance. Les infections bactériennes peuvent être traitées grâce aux antibiotiques, qui le plus souvent, inhibent l'une de leur fonction vitale **(ISHIGE, 2005)**.

V.1.1.2.1. Bactéries Gram +

La paroi est principalement constituée d'uneseule couche homogène de la muréine (peptidoglycane) de 20 à 80 nmd'épaisseur (Figure 9).

Le peptidoglycane est formé de chaines polysaccharidiques linéaires dont l'unité de base est une alternance régulière de deux sucres aminés la N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide Nacétylmuramique (NAM)**(HANCOCK, 1997)**.Des chaînes tétrapeptidiques sont greffées au niveau des groupes carboxyles (COOH) de NAM **(PRESCOTT et al, 2003)**. Ce peptidoglycane assure la rigidité de la cellule et représente 30 à 50 % du poids sec de la paroi cellulaire. A cette muréine sont associés, en quantité moindre, d'autres polymères dispersés en

particulier des acides téichoïques, téichuroniques et lipotéichoïques et des protéines de surface **(PRESCOTTE et al., 2003 ; HENRI , 1995)**.

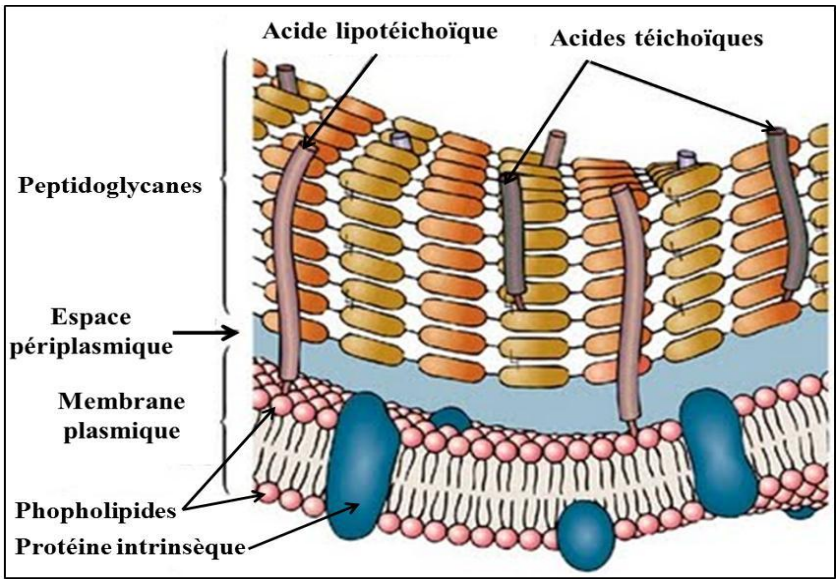


Figure 9 : Enveloppe de bactéries Gram +(@[11])

V.1.1.2.2. Bactéries Gram^{-}

La paroi des bactéries à Gram- est plus mince que celle des bactéries à Gram **+.** Elle est constituée d'une couche fine de peptidoglycane recouverte d'une membrane externe dans laquelle peut s'insérer des protéines, des lipoprotéines et des lipopolysaccharides (LPS) **(HANCOCK, 1997 ; PRESCOTT et al., 2003) (**Figure 10).

La partie polysaccharidique des LPS, extrêmement hydrophile, est orientée vers l'extérieur des cellules. Il est à noter que certaines bactéries à Gram– peuvent s'avérer être très hydrophobes, caractère relié à la présence de protéines de surface.

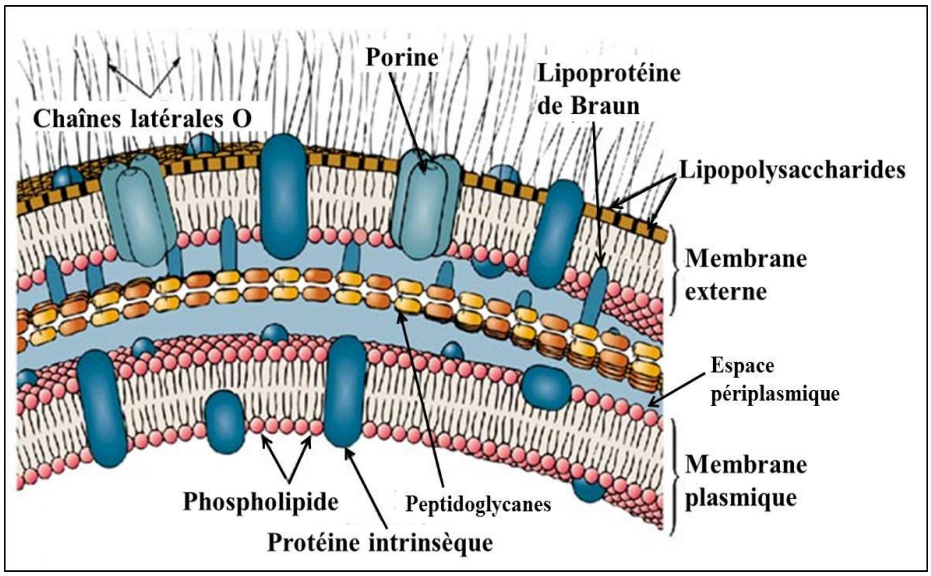


Figure10: Enveloppe de bactéries Gram-(@[11])

V.1.2. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques ou des produits microbiens, élaborés par un microorganisme ou produit par synthèse qui même à très faibles concentrations, capables d'inhiber la croissance de certains micro-organismes ou de les tuer **(PRESCOTT et al., 1995)**. Ils sont soit bactériostatiques limitant la prolifération bactérienne, qui restent insuffisants en cas d'infection sévère ou d'immunodépression, soit bactéricides permettant la lyse des bactéries (qui sont nécessaires en cas d'infections sévères telles que la méningite ou la septicémie ou le cas de patients immunodéprimés)**(POPOFF et CARLIER,2001)**.

Les antibiotiques efficaces contre de nombreuses espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif sont dits à «large spectre»; ceux qui sont actifs uniquement sur un petit nombre d'espèces sont dits à «spectre étroit» **(ALLEN, 2006)**.

La spécificité d'action des antibiotiques repose sur les différences métaboliques et structurales qui existent entre les cellules procaryotes et eucaryotes **(KHEYAR, 2009)**, d'où ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes.

V.1.2.1. Les antibiotiques naturels et synthétiques

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi-synthétique **(SINGH et BARETT, 2006)**. Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de microorganismes. Les antibiotiques semi-synthétiques sont obtenus par modification chimique, en laboratoire, d'une molécule de base de substances produites par des micro-organismes.

V.1.2.2.Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés selon leur mécanisme d'action sur la cellule bactérienne en cinq classes d'antibiotique (Figure 11)**(PIBIRI, 2006)**:

- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne
- Antibiotiques inhibant la synthèse de la membrane cytoplasmique
- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique
- Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques et de la synthèse de l'ADN
- Antibiotiques agissant par inhibition compétitive

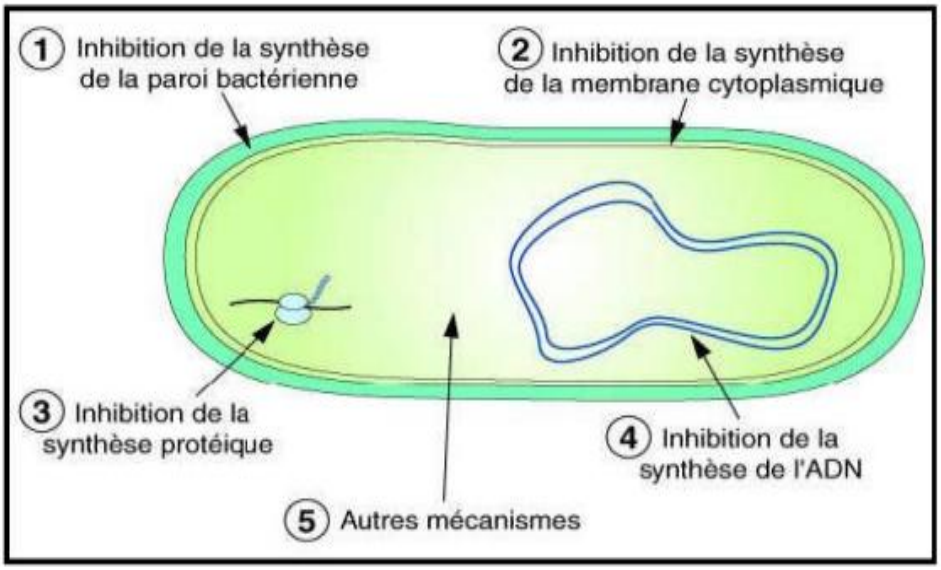


Figure 11: Cibles d'action des antibiotiques **(PIBIRI, 2006)**

V.2.2.3.Résistance bactérienne aux antibiotiques

Durant les 20 dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des antibiotiques a fortement diminué. Les bactéries en sont devenues de plus en plus résistantes **(ISERIN, 2001 ; MATYAR, 2008)**. L'usage généralisé des antibiotiques et la prescription à grande échelle parfois inappropriée de ces agents ont entraîné la forte adaptabilité des souches bactériennes et la sélection des souches multi-résistantes **(HAMILTON et MILLER, 2004)**.

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées**(BOERLIN et WHITE, 2006)**.

Parmi 2 millions de personnes qui acquièrent des infections bactériennes aux hôpitaux Américains chaque année, 70% de cas impliquant maintenant des souches qui sont résistants à au moins un antibiotique **(CUSHINE et LAMB, 2005)**.

Les microorganismes possèdent des mécanismes évolués qui leur permettent d'échapper à l'action des antimicrobiens. Quelques mécanismes de résistances de bactéries ont été décrits dans la figure 12 **(OPAL et al., 2000 ; ALLEN et al., 2006)** :

- L'inhibition enzymatique
- L'imperméabilité de la membrane
- Les pompes d'efflue
- L'altération de ribosome-cible
- L'altération de la précurseur-cible de la paroi cellulaire
- L'altération des enzymes-cible

➢ La surproduction d'enzymes-cible

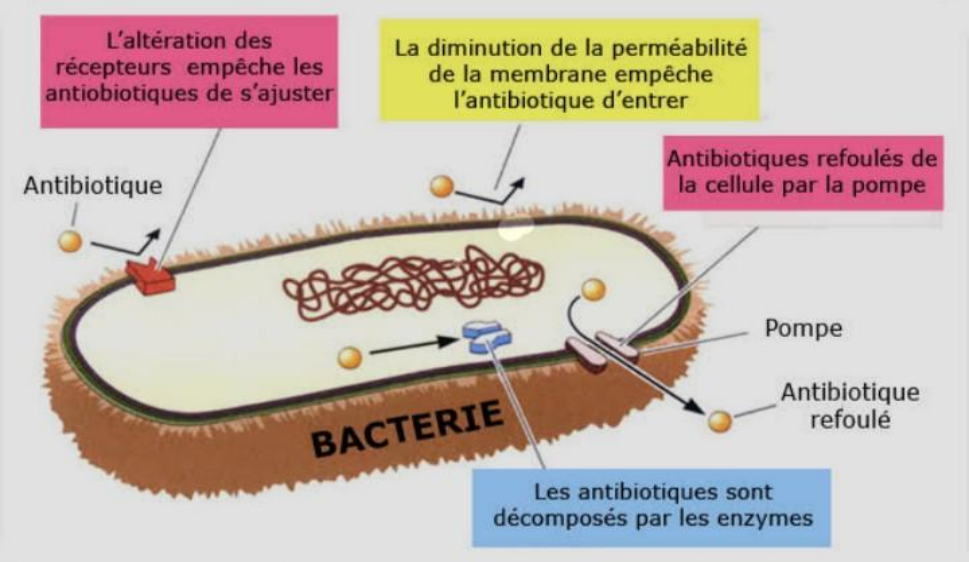


Figure 12 : Quelques mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (@[12])

V.2.2.3.1. Résistance naturelle ou résistance intrinsèque:C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne, faitdonc partie du patrimoine génétiquenormal du germe**(YALA et al., 2001)**.

La résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'ungène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce **(FAURE, 2009)**.

L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inapproprié l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs, qui conditionnent la résistance naturelle**(NORMAK et NORMAK, 2002)**.

V.2.2.3.2. Résistance acquise :la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre. C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre labactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit parmutation au niveau du chromosome qui est un phénomènerare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs oude transposons **(YALA et al., 2001)**.

- **Plasmides :** L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation.
- **Transposons :** Ce sont desfragments d'ADN "sauteurs" qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides, en allant de l'un à l'autre.

V.2.2.3.3. La multi résistance

il s'agit d'une multi résistance pour «une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombred'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique» ou pour «une bactérie sensible à moins de trois familles d'antibiotiques». Ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problèmede ressource thérapeutique**(FAJARDOet al., 2009)**.

V.2. Activité antioxydante

L'oxygène est une molécule indispensable à la vie. Comme source d'énergie, les organismes dits aérobies utilisent des réactions d'oxydoréduction reposant sur des interactions entre donneurs d'électrons (réducteurs) et des accepteurs d'électrons (oxydants)pour fournir de l'énergie. L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est importante puisqu'elle est associée avec la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique. Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelles **(KOPPENOL, 2001)**.

V.2.1. Radicaux libres

V.2.1.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité, donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable: il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Système redox) **(HALLIWELL, 1996)**.

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ionique) et peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN)**(GUEYE, 2007)**.

V.2.1.2. Caractéristique des radicaux libres

Le rôle des espèces oxygénées activées (EOA) est très complexe, elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, les EOA sont générées en faible quantité et jouent, par exemple, un rôle de

messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription.

Le stress oxydant est observé lorsque la production d'espèces oxygénées réactives dépasse les capacités de défense des tissus. Formés en trop grande quantité, les EOA deviennent pathologiques en interagissant avec toute une série de substrats biologiques importants. Des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, une oxydation du glucose, des cassures au niveau de l'ADN avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaître avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule **(PINCEMAIL, 2002)**. Ce qui est impliquédans le développement de plus d'une centaine depathologies**(GUTTERIDGE, 1996)**.Parmi ces pathologies, le paludisme, les syndromes d'immunodéficience acquise, les maladies cardiaques, les accidents vasculaires cérébraux, l'athérosclérose, le diabète et le cancer **(ALHO et LEINONEN, 1999)**.

V.2.1.3. Différents types de radicaux libres

- **Les radicaux libres primaires :** ils dérivent directement de l'O_2par une réaction de réduction **(GUEYE, 2007; MONGENS, 2013)**.
- **Les radicaux libres secondaires :**ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires **(GUEYE, 2007 ; MONGENS, 2013)**.
- **Les espèces actives de l'oxygène:**ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres **(GUEYE, 2007)** .

Tableau 4: Exemple d'espèces radicalaires **(BOUMAZA, 2009)**

Radicaux libres primaires et secondaires	**Les espèces actives de l'oxygène**
Radical peroxyle: $RO_2^{\bullet}$	Oxygène singulet: $^1O_2$
Radical superoxyde: $O_2^{\bullet}$	Peroxyde d'hydrogène: H_2O_2
Radical hydroxyle: $OH^{\bullet}$	Nitroperoxyde: ONOOH
Radical perhydroxyle: $HO_2^{\bullet}$	Peroxynitrite: $ONOO^{-}$
Radical alkoxyle: $RO^{\bullet}$	
Hydroperoxyde organique: ROOH	
Monoxyde d'azote : $NO^{\bullet}$	

V.2.2. Le système antioxydant

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO et d'ERN **(GUEYE, 2007)**.

Un antioxydant a été défini comme étant toute substance présente à faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe l'oxydation de ce substrat de façon significative **(HALLIWELL, 1995)**. Les antioxydants peuvent neutraliser les radicaux libres et augmenter la durée de vie en retardant le processus de peroxydation lipidique, qu'elle est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutiques au cours de traitement et de stockage **(HALLIWELL, 1997)**. On distingue deux types d'antioxydants: endogènes et exogènes.

V.2.2.1. Antioxydants Endogènes

Pour protéger ses tissus contre les agressions radicalaires, l'organisme humain possède des systèmes de défenses enzymatiques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes anti-oxydantes **(HALENG et al., 2007)**.

V.2.2.2. Antioxydants Exogènes

Apportés par l'alimentation dans les fruits et les légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque.

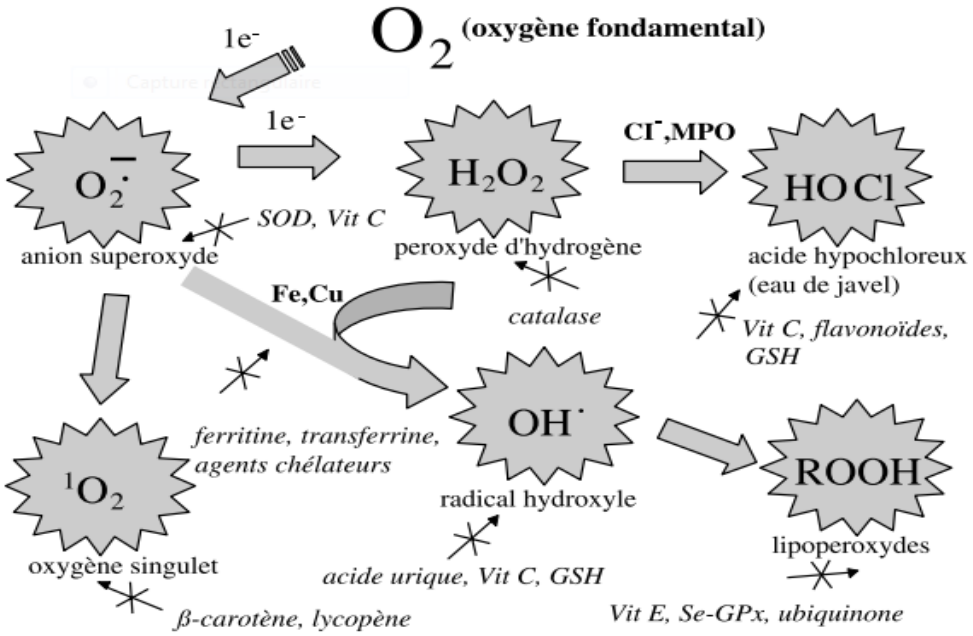


Figure 13: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydants **(HALENG et al., 2007)**

CHAPITRE II:
MATERIEL & METHODES

I. Objectif

Le travail expérimental ayant pour objet la préparation d'extraits de différentes polarités de la plante médicinale **Inula viscosa(**L.), et leurs valorisationpar les activités antibactériennes et antioxydantes.

Les études chimiques de la partie expérimentale ont été réalisées au niveau du laboratoire de la Faculté desSciencesde l'Université Yahia Farès de Médéa.

II. Matériels

II.1. Matérielset appareillages

Autoclave, Balance,broyeur électrique, étuve, agitateur, agitateur à vortex, réfrigérateur, béchers, balance, évaporateur rotatif, spectrophotomètre, les cuves de mesures (1cm), spatule, , papier aluminium, papier filtre, entonnoir, passoire, plaques ELISA à 96 puits et à fonds ronds, boites de Pétri (Φ = 9 cm), micropipette (Eppendorf), tubes à essai, tubes à hémolyse, anses stériles, cuve en quartz, flacons, ampoule à brome 500ml, écouvillon, bec bunsen, gans stériles, fioles jaugées, erlenmeyer de 100ml.

II.2. Matériels chimiques

Eau distillé, Chloroforme ($CHCl_3$), Butanol (BuOH), Diméthylsulfoxyle (DMSO), eau physiologique stérile (9% NaCl), $AlCl_3$, le réactif Folin Ciocalteu, DPPH, ABTS, méthanol, éthanol, acide gallique, vitamine C, quercétine, $K_2S_2O_8$, bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), vanilline, HCl.

II.3. Souches bactériennes pathogènes : quatre souches de bactérie de référence ont été choisies:

- ✓ Bactéries à gramme négatif (G-): Escherichia coli (ATCC 25922);Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27950)
- ✓ Bactéries à gramme positifs (G+) : Staphylococcus aureus (ATCC 25923);Enterococcus faecalis (ATCC 2921)

II.4. Milieux de culture

II.4.1.Bouillon nutritif: Le bouillon nutritif nous permet de préparer un milieu liquide pour la culture bactérienne. Il est formé d'un mélange de 1g/l d'extrait de viande du bœuf, 2g/l d'extrait de levure, 5 g/l de chlorure de sodium (NaCl) et 15 g/l de peptone. Il est préparé à

une concentration de 8 g/l dans de l'eau distillée. Il est réparti dans des tubes à raison de 5ml/tube, stérilisé par autoclavage pendant 45min à 120°C puis réparti dans des tubes stériles.

II.4.2. Gélose nutritif : 8 g de bouillon nutritif sont dissous dans un litre d'eau distillée avec 5 g de NaCl et 15 g d'agar, ensuite ce milieu est stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 30 min.

II.4.3. Mueller Hinton : le milieu Mueller Hinton est formé d'un mélange de 15 g d'agar, 17,5 g de caséine hydrolysée, 4 g d'infusion de viande de bétail et 15 g d'amidon. 35 g de ce milieu (M H) sont dissous à chaud, dans un litre d'eau distillée.

Le ph final étant de 7,4 + 0,2, puis stérilisés par autoclavage pendant une heure à 120 °C, enfin répartis dans des boites de pétrie à raison de 15 ml chacune.

II.4.4. Eau physiologique : le NaCl est dissous dans l'eau distillée à une concentration de 9 g/l; ensuite ce milieu est stérilisé par autoclavage pendant 45mn à 120 °C. Le milieu est réparti dans des tubes à essai stériles à raison d'environ 10 ml/tube.

II.5. Matériel biologique : Les feuilles et les tiges de la plante Inula Viscosa

III. Méthode

III.1. Récolte et préparation de la matière végétale

III.1.1. Récolte

La récolte de la plante Inula viscosa(L.) a été effectuée au mois de février 2020 qui correspond au stade feuillaison de la plante. La récolte s'est faite par échantillonnage au hasard sur le terrain.Les feuilles et les tiges de cette plante ont été séparées et séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 20 jours.

Après séchage, les feuilles et les tiges sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre fine que nous avons obtenu a été conservée dans des flacons en verre jusqu'au moment de leur utilisation.



Figure 14: Conservation de la plante après broyage (Photo originale)

III.1.2. Lieu de récolte

La récolte de la plante étudiée a été effectuée dans la région de Médéa, au nivaux du pôle.



Figure 15: Situation géographique du site de collecte d'Inula viscosa**(**L.)(@[13])

III.2. Etudes chimiques

III.2.1. Préparation d'extraits de polarités différentes d'Inula viscosa(L.)

III.2.1.1. Préparation par macération d'extrait aqueux

Préparation des extraits aqueux selon la méthode de **(GHEDADBA et al., 2014)** avec quelques modifications.Une macération aqueuse a été effectuée pour :

- 160 g de poudre des feuilles de la plante dans 1800 ml d'eau distillée
- 90 g de poudre des tiges dans 1300 ml d'eau distillé

✓ Chaque mélange préparé est par la suite soumis sous agitation à température ambiante pendant 24h

- ✓ Les extraits aqueux sont filtrés puis centrifugés (pour sédimenter la poudre en suspension)
- ✓ Après centrifugation, le culot a été jeté et l'extrait aqueux (1) de volume 700 ml est filtré plusieurs fois à l'aide d'un papier filtre
- ✓ 350 ml de l'extrait aqueux (2) obtenu est évaporée puis séchée à l'étuve à 45°C pour donner l'extrait aqueux sec des feuilles (Ef) et des tiges (Et)

Lesfigures 16 et 17 résument les étapes de préparation de l'extrait aqueux desfeuilles ou des tiges de l'espèce.



a. Macération et agitation



b. Filtration



c. Evaporation

Figure 16: Les étapes de préparation de l'extrait aqueux des feuilles et des tiges de l'espèce Inula viscosa **(**L.)(Photos originales)

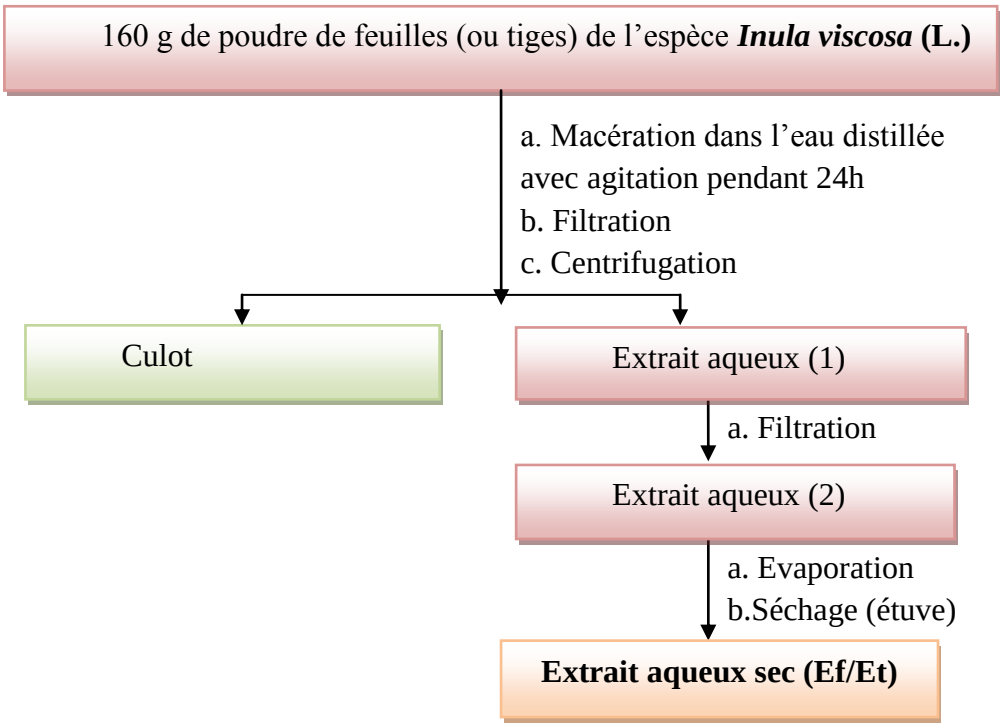


Figure 17: Préparation de l'extrait aqueux de feuilles et de tiges d'Inula viscosa**(**L.)

III.2.1.2.Préparation par extraction liquide-liquide d'extraits de différentes polarités

Pour la préparation d'extraits de polarités différentes des feuilles et des tiges de la plante Inula viscosa**(**L.), nous avons procédé au protocole suivant (figure 18) :

1) Préparation des extraits chloroformiques de feuilles et de tiges

- ✓ 350 ml de l'extrait aqueux (2) ont été mélangés avec 135 ml de chloroforme (non miscible à l'eau)
- ✓ Après une agitation rigoureuse, le mélange est laissé se décanter
- ✓ Deux phases sont séparées par la différence de polarité :
  - une phase aqueuse : extrait aqueux épuisé (1) (plus dense située en dessous)
  - une phase organique : extrait chloroformique (moins dense située en dessus)
- ✓ Les extraits chloroformiques obtenus, des feuilles et des tiges,sont par la suite évaporés puis séchés à l'étuve à 45°C
- ✓ Après séchage, nous avons obtenu les extraits chloroformiques secs des feuilles (Ef1) et des tiges (Et1)

2) Préparation des extraits butanoliques des feuilles et des tiges

- ✓ L'extrait aqueux épuisé (1) se mélange avec 90 ml de butanol
- ✓ Après agitation rigoureuse, le mélange est laissé se décanter
- ✓ Par différence, nous avons obtenu deux phases :
  - extrait aqueux épuisé (2)
  - extrait aqueux butanolique
- ✓ Les extraitsbutanoliques obtenus, des feuilles et des tiges, sont évaporés puis séchés à l'étuve à 45°C
- ✓ Après séchage nous avons obtenu les extraits butanoliques secs des feuilles (Ef2) et des tiges (Et2)

La figure 18 résume les étapes de préparation d'extraits chloroformiques et butanoliques des feuilles ou des tiges d'Inula viscosa.

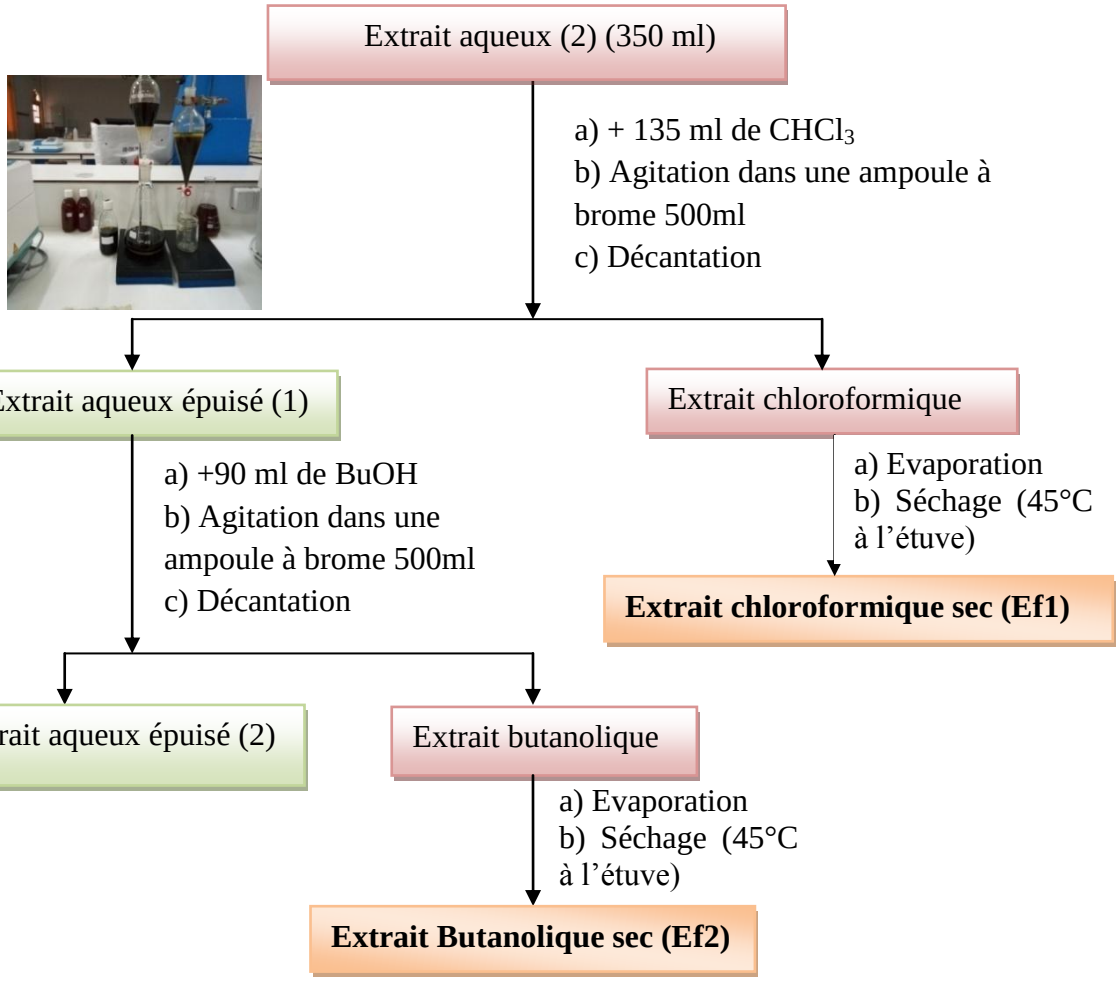


Figure 18: Préparation d'extraitsdepolarités différentes de feuilles ou de tiges d'Inulaviscosa

III.2.1.3. Calcul du rendement des extraits

On a dét1erminé le rendement (Rd) des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$Rd\ (\%) = M/M' \times 100$$

- Rd (%) : Rendement exprimé en %
- M : Masse en grammes de l'extrait sec résultats
- M': Masse de la matière végétale à traiter

III.2.2. Test phytochimique (screening phytochimiqe)

Les tests phytochimique ont été envisagés d'être réalisés sur les extraits aqueux, chloroformiqueset botaniques, dans le but de connaitre la composition chimique en métabolites secondaires des feuilles et des tiges de l'espèceInula viscosa.

III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles et des tiges de la plante Inulaviscosa, est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu **(GEORGE et al., 2005)**.

Le réactif Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En milieu alcalin et en présence de polyphénols, le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit en oxyde de tungstène **(**W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) donnant une coloration bleue. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la teneur en composés polyphénoliques oxydés.

Protocol expérimental

Pour réaliser le dosagedes polyphénols totaux, 200 µl de chaque extrait dilué dans le méthanol, est ajouté au 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4 min d'incubation à température ambiante, 0,8 ml de bicarbonate de sodium Na_2CO_3 (7.5%) dilué dans l'eau distillée, sont additionnés au mélange. Les polyphénols totaux étaient déterminés après 2 h d'incubation à la température ambiante. La lecteur de la densité optique se fait à 760 nm (spectrophotomètre UV/visible) **(GEORGE et al., 2005)**.

La teneur en polyphénols total a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisé comme standard. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g de matière sèche (mgEAG / g MS).

III.2.2.2. Dosages des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. En effet, le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles OH des phénols **(BOUCHOUKA, 2016).**

Protocol expérimental

Le dosage est décrit par Bahorun et al (1996). Un volume de 1 ml de chaque extrait et de standard (dissout dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d'$AlCl_3$ (2 % dissoutdans le méthanol).Ensuite, la solution est bien homogénéisée et l'absorbance a été mesurée à λ max =430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible après 10 min d'incubation. La teneur total en flavonoïdes(TTF) était exprimé en mg d'équivalent quercétine par 100 g de matière sèche (mg QE / 100 g de MS).

III.2.2.3. Dosage des tanins

Les tanins condensés sont dosés selon la méthode colorimétrique de Folin Denis, décrite par Julkunen-Titto(1985). En présence d'acide sulfurique concentré, les tannins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique, quantifiables par spectrophotométrie UV-visible**(SCHOFIELD et al., 2001).**

Protocol expérimental

La teneur en tannins condensés est déterminée par la méthode de Julkunen-Titto (1985). Ainsi, 50 µl de l'échantillon à tester sont mis dans un tube à essai auxquels nous ajoutons 1,5 ml de vanilline 4% et 750 µl de HCl concentré. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 min et les valeurs des densités optiques (DO) sont mesurées à 500 nm. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de catéchine par gramme d'échantillon sec (mg EC/g MS).

III.3.Etudes biologiques

III.3.1. Activité antibactérienne

III.3.1.1. Méthode de microdilution

La méthode d'évaluation d'activités antibactériennes en milieu liquide (méthode de microdilution)(NCCLS, 2000), permet de déterminer les CMI et les CMB des échantillons naturels étudiés **(MAY et al., 2000 ; HAMMER et al., 1999 ; DELQUIS et al., 2002).**

III.3.1.2. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées sur la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine 4 à 5 colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 5 ml de bouillon liquide nutritif. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland à l'aide d'un densitomètre (Bio-Mérieux). 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 **(DAOUADJI, 2010)**.

Les échantillons à tester sont ajoutés aux suspensions bactériennes dans des plaques de micro-titration stérilisées à 96 puits. Les plaques préparées sont incubées à 37 °C pendant 24 h.

III.3.1.3. Détermination de CMI

Une CMI est la concentration minimale inhibitrice et qui est la plus faible concentration d'un échantillon donné pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudié après un temps d'incubation de 18 à 24 heures. Elle mesure un effet bactériostatique.

En milieu liquide, la croissance bactérienne se visualise par un trouble ou un culot bactérien.

Après 24 heures d'incubation à 37°C et mise en contact de la suspension bactérienne avec de concentrations croissantes d'échantillons, la CMI correspond à la concentration d l'échantillon testé du premier puits ne présentant ni trouble ni culot bactérien (Figure 19).

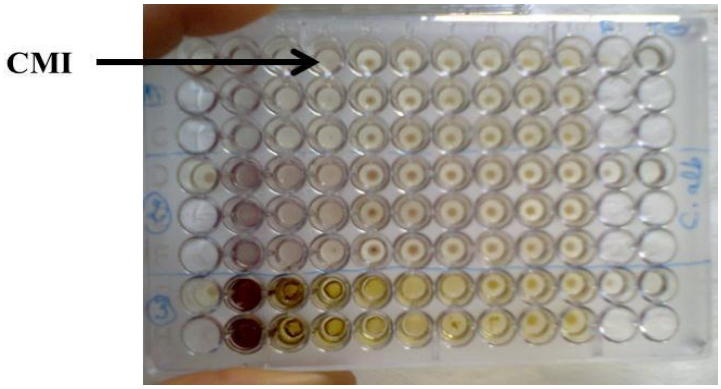


Figure 19:Détermination de la CMI**(BOUZIDI, 2017)**

Les concentrations initiales des échantillons à étudier, préparés par dissolution dans l diméthyle sulfoxyde (DMSO) à 10%, étaient de 10 mg/ml pour les extraits bruts et 5mg/ml pour les fractions des extraits. Le DMSO est utilisé pour diluer et solubiliser les échantillons testé dans les bouillons de culture, en sachant qu'à 10 % le DMSO n'est pas antibactérien.

Ci-après les étapes du protocole que nous avons suivies :

1°- Les puits de **la colonne 1** constituent un **témoin positif (T+)**. Chaque puits contient 50 µl de l'inoculum bactérien **(ajusté à 5.10^6germes/ml)** et 100 µl de milieu de culture.

2°- Les puits de **la colonne 12** correspondent au **témoin négatif (T-).** Contenant chacun 100 µl de DMSO 10% et 50 µld'inoculum bactérien.

3°- Dans les puits de **la colonne 2**nous mettons 200 µl de l'échantillon à tester (10 ou 5 mg/ml).

4°- Nous déposons dans les puits de **la $3^{ème}$**colonne et jusqu'aux celles de la **$11^{ème}$ colonne** 100 µl de DMSO 10%

5°- Ensuite une série de dilutions de moitié est réalisée à partir des puits de la **$3^{ème}$ colonne** en prenant 100 µl de la solution des puits de la **colonne 2** et nous les plaçons dans ceux de la

colonne 3. Nous continuons ainsi avec les puits de la **colonne 3** jusqu'à ceux de la **colonne 11**.

6°- La série de dilutions étant faite, nous plaçons dans **les puits 2** jusqu'à **11** 50 µl de la suspension bactérienne testée.

7°- Incubation des plaques ELISA à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

A la fin de l'incubation, nous observons, à l'œil nu, l'état du premier puits similaire à celui du témoin (état limpide). Sa concentration correspond à la valeur de la CMI de l'échantillon étudié vis-à-vis de la bactérie testée.

III.3.1.4. Détermination de CMB

C'est la plus faible concentration d'échantillon antibactérien qui tue 99,99 % d'une population bactérienne après incubation durant 18 à 24 heures à 37°C.

Les résultats de CMI trouvés servent pour la détermination de la CMB comme suit:

a) Prélèvement, à l'anse stérile, d'environ 10 µl à partir du puits qui correspondant à la CMI et des puits ayant des concentrations plus élevées que la CMI.
b) Ensemencement de la quantité prélevée en strie de 5 cmà la surface d'un milieu gélosé Mueller Hinton (MH) contenu dans des boites de pétri.
c) Incubation des boîtes ensemencées dans l'étuve à 37 ° C pendant 24 h.
d) La concentration de l'échantillon qui illustre un développement bactérien de 1% correspond à la CMB.

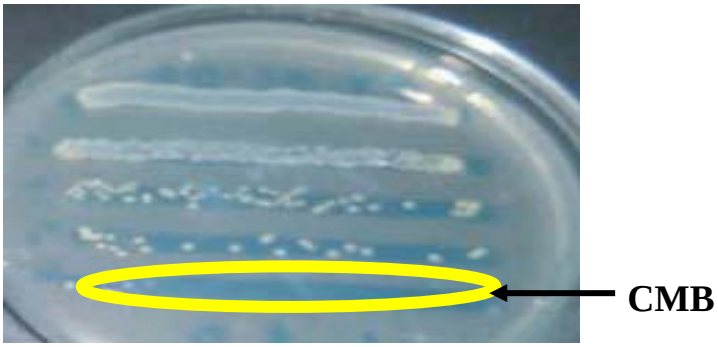


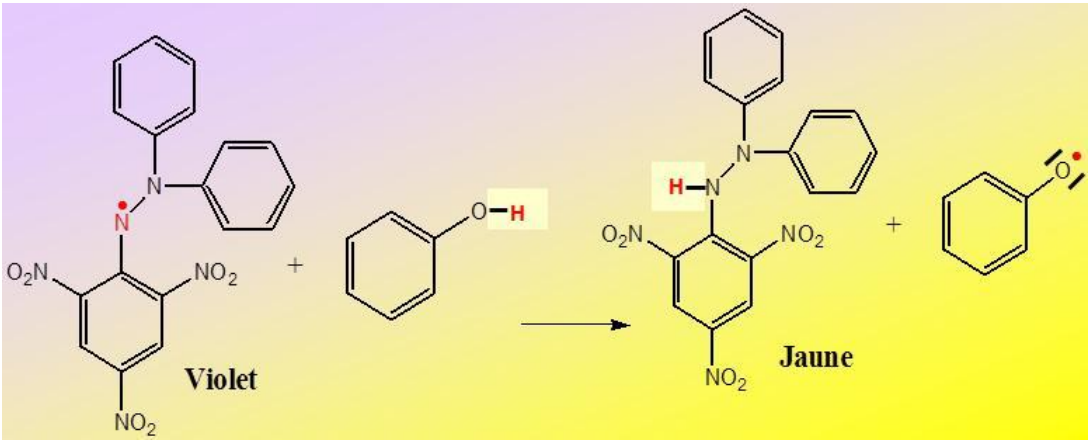
Figure 20:Détermination d'une CMB**(BOUZIDI, 2017)**

III.3.2. Activité antioxydante

III.3.2.1. Etudes d'activités antioxydants impliquant le radical DPPH

La méthode d'évaluation de l'activité antioxydant impliquant le DPPHintroduite par **BRAND-WILLIAMS et al (1995)**.est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle) en présence d'un

antioxydant donneur d'un radical hydrogène ($H^{\bullet}$), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire (DPPH-H) (figure 21) Ce radical, stable à la température ambiante, possède une intense coloration violette qui vire au jaune après sa réduction par une substance antiradicalaire. La diminution de l'intensité de la coloration est mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre UV-Visiblepermettant d'évaluer le pouvoir antiradicalaire de l'échantillon étudié.



DPPH + PhOH **DPPHH + PhO$^{\bullet}$**

Figure 21 :Réaction de réduction du radical DPPH

Protocol expérimental

Nous avons suivi la méthode de **BRAND-WILLIAMS et al (1995)**. Une série d'extraits a été préparée à différentes concentrations (1,2 ; 1,8 ; 2,4 ; 3 mg/ml). 25 µl de chaque échantillon ont été rajoutés à 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH (60 µM). Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc (1 ml d'éthanol absolu) à 515 nm. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$\% I = (1 - I (\text{échantillon}) / I (\text{DPPH})) \times 100$$

% I: Pourcentage d'inhibition du DPPH par un échantillon donné

I (échantillon): Absorbance de l'échantillon après 30 min

I (DPPH): Absorbance d'une solution de même volume de DPPH et d'éthanol après 30 min

Le pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon testé peut être aussi évalué par la détermination de la Concentration Effective (CE_{50}) d'un échantillon testé qui est la concentration pour laquelle l'extrait inhibe 50% des radicaux libres.

Les résultats sont comparés à ceux de la vitamine C (produit de référence standard).

- **Calcul de la concentration d'inhibition IC**

La concentration inhibitrice de 50 % peut être définie comme la quantité de produits nécessaire pour faire diminuer la coloration de réactif (DPPH) de moitié 50% (Sakande, 2004). IC_{50} de l'activité du DPPH a été calculée graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés **(FABRI et al., 2009)**.

III.3.2.2. Etudes d'activités antioxydants impliquant le cation radical $ABTS^{+\bullet}$

C'est une méthode spectrophotométrique permettant l'évaluation du pouvoir d'un échantillon à inhiber des cations radicaux libres tel que l'$ABTS^{+\bullet}$ obtenu après l'oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium $K_2S_2O_8$**(MILLER et al., 1993)** (figure 22).

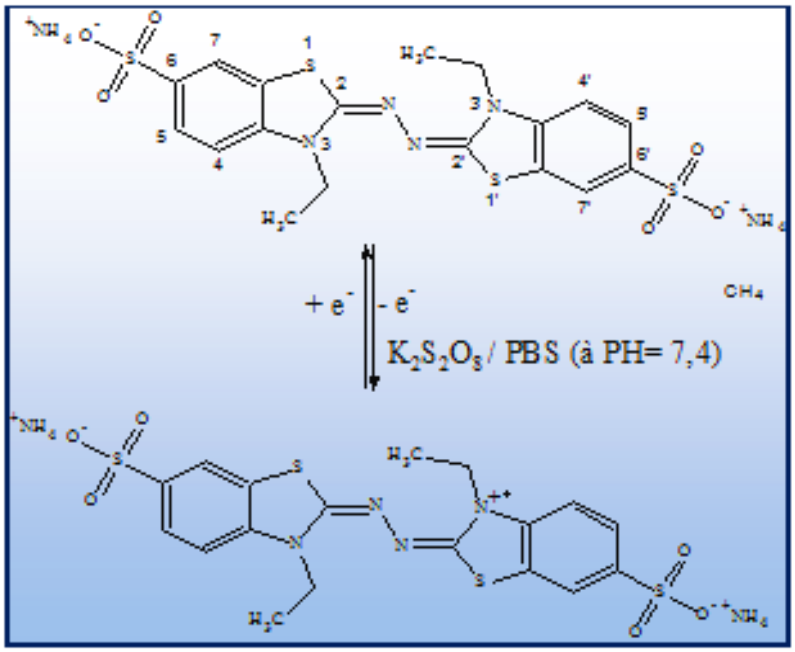


Figure 22: Oxydation dusel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)en cation radicalABTS$^{+\bullet}$ par le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$)

Le principe de cette méthode est basé sur la décoloration d'une solution de cations radicaux $ABTS^{+\bullet}$ de couleur bleue intense. En présence d'un échantillon donné, le virage de la couleur du bleu foncé à une solution incolore ou bleue moins intense signifie la réduction complète ou partielle des cations radicaux $ABTS^{+\bullet}$ par l'échantillon testé.

L'activité antioxydante d'un échantillon donné sera comparée à celle du Trolox (antioxydant de référence). Cette activité sera exprimée en valeur de **CAET** (**C**apacité **A**ntioxydanteen **E**quivalent de **T**rolox). Elle exprime la concentration de Trolox qui a la

même capacité antioxydant qu'une concentration de 1mMd'un échantillon testé**(VAN DEN BERG et al., 1999).**

Les valeurs de **CAET** sont obtenues à partir des pourcentages d'inhibition vis-à-vis des cations radicaux $ABTS^{+\bullet}$ à une concentration de 1 mg/ml et après 15 minutes de réaction selon la formule suivante :

$$\textbf{CAET (mM)} = \frac{\frac{I}{I°}(Extrait)}{\frac{I}{I°}(Trolox)} \text{ x } f\ C(Trolox)$$

Avec

I : Absorbance au temps (t)

I° : Absorbance au temps (t= 0 s)

C (Trolox) : Concentration molaire du Trolox

f : facteur de dilution des extraits

Protocol expérimental

L'étude de l'activité antioxydant de nos échantillons vis-à-vis du cation radical $ABTS^{+\cdot}$a été réalisée selon la méthode de **CAI et al (2004)**. Une solution mère d'$ABTS^{+\cdot}$ (7 mmol/l) a été diluée par l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0,7 ± 0,02 à 743 nm, à chaque 25 µl d'extrait à tester nous ajoutons 975 µl de la solution d'ABTS·+. Après 6 min nous notons l'absorbance obtenue à 734 nm.

Le pourcentage d'inhibition du cation radical $ABTS^{+\cdot}$a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$\textbf{\% I} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

Avec

$\mathbf{A_0}$: l'absorbance de contrôle,

$\mathbf{A_1}$: l'absorbance de l'échantillon après 6 min de contact avec le cation radical $ABTS^{+\cdot}$,

Les% I : sont exprimés en mmol d'équivalents de Trolox/g MS.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Conclusion

Les **études ethnopharmacologiques**, **botaniques** et **l'exploitation de travaux antérieurs** nous ont permis de choisir l'espèce ***Inula viscosa*(L.)**visant sa**valorisation**par des **études chimiques** et **biologiques**.

Les **études chimiques** qu'on a faites nous ont permis de préparer des **extraits de polarités différentes** de cette espèce.

La crise sanitaire mondiale qui a été causée par le Covid-19, était un obstacle devant la réalisation de la partie pratique, notamment, l'étude des **activités antibactériennes** et **antioxydantes**des extraits préparés.

Nous souhaitons poursuivre nos études chimiques et biologiques dans le but de valoriser ***Inula viscosa*(L.)**. Les travaux de recherche que nous souhaitons réaliser sont donnés en perspective.

Perspectives

1°) Nous essaierons de faire les activités biologiques de la plante ***Inula viscosa*(L.)**et de poursuivre nos études chimiques, chromatographiques et structurales relatives à cette plante dans le but d'isoler et d'identifier plus de substances naturelles pures qu'on souhaiterait nouvelles en Chimie et Biologiquement Actives.

2°) Nous tenterons de diversifier nos essais biologiques et pharmacologiques afin de découvrir des extraits biologiquement actifs susceptibles d'être une source de substances à valeurs ajoutées dans le domaine Industriel.

3°) Les résultats biologiques encourageants, incitent à chercher le ou les principes actifs des extraits responsables de ces activités, de les isoler, les purifier, les identifier puis les tester séparément ou en mélange pour confirmer leurs activités biologiques et tenter la compréhension de la relation **Structures Chimiques-Activités Biologiques**.

4°) L'ouverture de Fenêtres d'Applications Industrielles pourra nous aider à valoriser les résultats de nos recherches ce qui constitue une valorisation du Patrimoine Naturel de l'Algérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abuhamdah S, Abuhamdah R, Al-Olimat S et Chazot P. 2013. Phytochemical Investigations and Antibacterial Activity of Selected Medicinal Plants from Jordan.European Journal of Medicinal Plants, 3(3):394-404.

Aissa I, Vijaykumar D, Nimbarte, Bergaoui A Z, Znati M, Flamini G, Ascrizzi R et Ben Jannet H.2019. Isocostic Acid, a Promising Bioactive Agent from the Essential Oil of *Inula viscosa* (L.): Insights from Drug Likeness Properties, Molecular Docking and SAR Analysis. Chem. Biodiversity, 16(4): e1800648.

Ait Youcef M. 2006. Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press, Paris. 349p.

Akkawi M, Abbasi I, Jaber S, Aburemeleh Q, Naseredin A et Lutgen, P.2014. Investigation of traditional Palestinian medicinal plant *Inula viscosa* as potential anti-malarial agent. British Journal of Pharmacology and Toxicology. 5(5):156–162.

Al-Dissi N M, Salhab A S et Al-hajj H A. 2001. Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. J Ethnopharmaol, 77(1):117-121.

Alho H et Leinonen J. 1999. Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods. Method Enzymol, 299(1999):3-15.

Ali S I, Qaiser M et Abid R. 1992. Flora of Pakistan- Asteraceae. University of Karachi, Karachi Printing Press, 210: 71.

Allen U, Dobson R S, Embree J , Langley J, Moore D, Pekeles G, Samson L E, Harsany R, MacDonald N, Halperin S, Naus M, Pichering L. 2006. Les produits antimicrobiens à domicile: le problème de l'antibiorésistance. Paediatre child health, 11(3):177-182.

Allion A. 2004. Environnement des bactéries et sensibilités aux biocides. Thèse de doctorat en science alimentaires. Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, 22-28p.

Al-naser Z A, Hassan A et Al –asaas K. 2015. Effect of some plant extracts on larval mortality against the stem nematode (Ditylenchusdipsaci) and compared with synthetic pesticides.International Journal of ChemTech Research, 7(4):1943-1950.

Amel Bouzidi.2017. Contribution à l'étude Biologique et Chimique des espèces Limoniastrum guyonianum Durieu ex Boiss. et Limoniastrum monopetalum (L.) Boiss. Poussant en TUNISIE. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques et Biotechnologie. Monastir, Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, 249p.

Baba Aissa.2000. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et de Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et Occident, Ed. Edas, 178p.

Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin J C, Pinkas M, Luycky M et Gazin M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittelforschung, 46(11):1086-1089.

Barrero A F, Herrador M M, Arteaga P et Catalán J V. 2008.*Dittrichia viscose* L. Greuter: Phytochemistry and Biological Activity, 3(11):1799 –1804.

Baydar H et Fehmi G. 1998. « Antalya Dogal Florasında Bal Arısı (Apis mellifera)' nın Polen Toplama Aktivitesi, Polen Tercihi ve Farklı Polen Tiplerinin Morfolojik ve Kalite Özellikleri», Tr. J. of Agriculture and Forestry, 475-482p.

Baytop T. 1984. Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Anal Press, Istambul. 167p.

Benayache S, Benayache F, Dendoughi H et Jay M. 1991. Les flavonoïdes d*'Inula viscosa* L. plantes médicinale et phytothérapie, 25(4):170-176.

Benhammou N, Bekkara F A et Panovska T K. 2008. Biological activities of the essontial oil and ethanolic extract of *Inula viscosa* from the Tlemcen region of Algeria.Progrès en science alimentaire, 30(3):132–139.

Bezanger - Beau Quesne L et Pinkas M. 1986. Les plantes dans la thérapeutique moderne 2ème édition MALOINE –Paris, Pp 68-262-268.

Boerlin P et White D G. 2006. Antimicrobial resistance and its epidemiology. In Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), Antimicrobial Therapy in Veterinary Medecine, 4th Edition. Blackwell publishing : Ames. p 27-43.

Bouchouka E. 2016. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydants et antibactérienne de quelques plantes sahariennes in chimie. Université de Badji Mokhtar de Annaba, 114p.

Boumaza A. 2009. Effet de l'extratméthanolique de *Zygophyllum cornutumcoss* contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Magister en biologie cellulaire et moléculaire Option: Toxicologie cellulaire et moléculaire. Université Constantine, 18-25p.

Bouzouita N, Kachouri F, Ben Hamdi M, Chaabouni M M, Ben Aissa R, Zgoulli S, Thonart P, Carlier A, Marlier M. et Lognay G C.2005. Composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*, J. Essent. Oil Res, 17:584-585.

Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. 1995. Use of free radical method toevaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 28(1), 25–30**.**

Brullo S et De MarcoG. 2000. Taxonomical revision of the genus Dittrichia (Asteraceae). Portugaliae Acta Biologica, 19(1):341-354.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales, 3éme édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1120p.

Bruneton J. 1997. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. Impr. CEE, 314-334.

Cafarchia C, De Laurentis N, Milillo M A, Losacco V et PucciniV. 2002. Fungistatic activity of a sesquiterpene lactone (tomentosin) isolated from fresh *Inula viscosa (Asteraceae)* flowers from the Pulgia region. Parasitologia, 43(3):117-121.

Cai Y Z , Luo Q, Sun M et Corke H. 2004. Antioxydant activity and phenolic compounds of 112 traditionnel Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci, 74(17):2157-2184.

Çelik T A et Aslantürk O S. 2010. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with Allium test. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010(2010)189252.

Chabrier J Y. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, thèse de doctorat, Université Henri poincare-Nancy 1. 22p.

Chahmi N, Anissi J, Jennan S, Abdellah F, Sendide K et El Hassouni M. 2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. Asian Pac J Trop Biomed, 5(3):228-233.

Charpentier B, Hamon-Loreleac F, Halay A, Huard A et Ridoux L. 2008. Guide du préparateur en pharmacie, 3éme édition, Elsevier Masson, 1358,2008.1012 p.

Chiarlo Sui B.1968. Constituenti dell' *Inula viscosa*.Ait. Contenuto in azuleni dell'olio essenziale . Boll. Chim. Farm, 107(6):370 – 382.

Chung, Chenni M. 2010. Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: *Bryonia dioïca*. Thèse de Magister. Université d'Oranes- Senia. Oran. Algérie, 138p.

Ciccarelli D, Garbari F et Pagni A.2007. Glandular hairs of the ovary: a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy. Bot. Fennici, 44(1):1-7.

Daoudji. 2010. Etude des huiles essentielles da la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusions, Mémoire de Master. Université de Canstantine 1 :61p.

Delaquis P J, Stanich K, Girard B, Mazza G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food and Microbiology, 74(1-2):101–109.

Delille L. 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, p122.

Diallo D. 2000. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), Diospyros. Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176p.

Eddouks M, Ouahidi, M L, Farid O, Moufid A, Khalidi A et Lemhadri A. 2007. The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco [L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc]. Phytotherapie, 5:194–203.

El Ouariachi.2014. Arabian Journal of Chemical and Environmental Research. 1(1):33–40.

Epifano F, Genovese S, Menghini L et Curini M.2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plants metabolites. Phytochemistr, 68(7):939-953.

Fabri R L, Nogueira M S, Braga F G, Coimbra E S et Scio E. 2009.*Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects. Bioresource Technology, 100(1):428-433.

Fajardo A, Linares J F, Martínez J L. 2009. Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. Clin Microbiol Infect, 15(Suppl 1):14-16.

Fauron F, Moati R et Donadien Y.1983. Guide pratique de phytothérapie. Éd. maloïne, p811.

Fournier P. 1947. Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France .Ed. Le chevalier. Tome1, p176-178.

Franco-Mican S X, Castro J et Campos M. 2008. Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne, et ses méthodes de propagation. Le Nouvel Olivier, n°66, nov-déc. 2008.

Fredrickson J, Zachara J et Balkwill D. 2004. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state. Applied and Environmental Microbiology, 70 (7):4230-4241.

Fresquet J L, Aguirre C, Baguena M J, Lopez M L et Tronchoni. 1993. Plantes médicinales d'usage populaire dans la région de la Ribera Alta (Valencia, Espagne). Actes du 2e Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 1 le Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg. P207-214.

Gaussen H, Deuroy J F, Ozenda P. 1982. Précis de botanique II « les végétaux supérieurs ». Ed : Masson. pp215-408.

Georgé S, Baret P, Alter P et Amiot M J. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. Journal of agricultural and food chemistry, 53(5):1370-1373.

Gharred N, Dbeibia A, Falconieri D, Hammami S,Alessandra Piras A et Dridi-Dhaouadi S. 2019. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from flowers, leaves and aerial parts of Tunisian Dittrichia viscosa.Journal of Essential Oil Research, 31(6):1-8.

Ghedadba N, Bousselsela H, Hambaba L, Benbia S et Mouloud Y. 2014. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare L*. Phytothérapie 12: 15-24.

Ghestem A, Seguine E, Paris M et Orecchioni A. 2001. Le préparateur en pharmacie dossier. 2ème Ed. Tec et Doc. Paris. p275.

Goulet O. 2009. La flore intestinale : un monde vivant à préserver. Journal de pédiatrie et de puriculture, 22(3):p102-106.

Gueye P M.2007. Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. Thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur, Strasbourg 1.

Gutteridge J M C. 1993. Free radicals in diseases processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun, 19(3):141–158.

Hakkou Z, Maciuk A, Leblais V, Bouanani N E, Mekhfi H, Bnouham M, Aziz M, Ziyyat A R, Rauf A, Ben Hadda T, Shaheen U, Patel S, Fischmeister R et Legssyer A. 2017. Antihypertensive and vasodilator effects of methanolic extract of *Inula viscosa*: Biological evaluation and POM analysis of cynarin, chlorogenic acid as potential hypertensive. Biomedicine & Pharmacotherapy, 93:62–69.

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C et Chapelle J P. 2007. Le stress oxydant.Rev Med Liege, 62(10):628-638.

Halimi A.1997. Les plantes médicinales en Algérie. P 158-159.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. Nutrition Reviews 55(1 Pt 2):S44-S52.

Halliwll B.1995. Antioxidant characterization; methodology and mechanism. Biochem Pharmacol, 49(10):1341-1348.

Hammer K A, Carson C F et Riley T V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86(6):985-990.

Hancock R E W. 1997. The bacterial outer membrane as a drug barrier. Trends Microbiol, 5(1):37–42.

Haoui I E, Derriche R, Madani L et Oukali Z. 2015. Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa*(L.) Aiton. Arabian Journal of Chemistry. 8(4):587–590.

Harbone J, et WilliamsC. Advances in flavonoid research since **1992.** Phytochemistry 2000, 55(6):481-504.

Hartmann T. 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. Phytochemistry, 68(22-24):2831–2846.

Hatim S, Waleed H, Rimawi et Arwa Mjahed. 2017. Analysis of Extracts From Palestinian *Inula viscosa* for Their Phenolic, Flavonoid and Lipid Contents, Antioxidant and Antibacterial Activity. Journal of Chemistry and Biochemistry, 5(1):12-23.

Henri L. 1995. Morphologie - Structure. In Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Paris, pp. 47-104.

Hmamouchi M.2001. Les plantes médicinales et aromatiques Marocaines. 2ème ed. Impri Fédala (Mohammadia). p108-109.

Iserin P, Masson M et Restellini J-P. 2001. Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition). P128.

Ishige T, Honda K et Shimizu S. 2005. Whole organism biocatalysis. Current Opinion in Chemical Biology. 9(2):174–180.

Julkunen-Titto R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 33(2):213–217.

Kaileh M, Berghe W V, Boone E, Essawi T et Haegeman G. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. Journal of Ethnopharmacology, 113(3):510–516.

Kalemba D et Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicianl Chemistry 10: 813-829.

Kambouche N. 2009. Screening phytochimique, extraction et évaluation des effets antioxydants antidiabitiques des saponines, alcaloides et huiles essentielles de trois agro ressources algériennes, Thèse de doctorat. 53p.

Kamra D, Agarwal N et Chaudhary L.2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series, 1293:156–163.

KarumiI Y, Onyeyili P A et Ogugbuaja V O. 2004. Identification of active principals of M.*balsamina* (Balsam apple) leaf extract. J Med Sci. 4, 179-182.

Kattouff J, Belmoukhtar M, Harnafi H, Mekhfi H, Ziyyat A, Aziz M, Bnouham M et Legssyer A. 2009. Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. Phytothérapie, 7(6):309–312.

Kechkar M.2008. Extraction de la Silymarine et létude de son activité antimicrobienne, mémoire de magister en microbiologie appliqué, Université Mentouri Constantine. 30-36p.

Khanbabae K et Ree T. 2001. Tannins: Classification and Definition. Journal of Royal Society of Chemistry [en ligne]. 18(6):641-649.

Kheyar K N, da Silva A B, Serra A T, Bedjou F et Bronze M R. 2018. Characterization by liquid chromatography-massspectrometry and antioxidant activity of an ethanolic extract of *Inula viscosa* leaves.Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 156: 297-306.

Kheyar N, Meridja D et Belhamel K. 2014. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentiels d*'Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algérien journal of natural products, 2(1):18-26.

Kheyar N. 2009. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa* L, *Salvia officinalis* L, et *Laurus nobilis* L. Mémoire Pour l'Obtention du Diplôme de Magister En biologie Option: Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives. Université A. Mira de Bejaia. 21p.

Koppenol W H. 2001. The Haber-Weiss cycle, 70 years later. Redox Rep, 6,4(2001):229–234.

Lastra C, Lopez A et Motiva V.1993. Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. Planta Medica, 59(6):497-501.

Leserf et Ragot. 2012. Etude phytochimique et bibliographique de la plante *Satureja calaminitha.* Mémoire de Master. Université de Constantine 1. p13-28.

Madhavid, Siddhuraju P et Becker K.1996. Food antioxidants. Ed: CRC PRESS. p361-460.

Mahmoudi H, Hosni K, Zaouali W, Amri I, Zargouni H, Ben Hamida N, Kaddour R, Hamrouni L, Ben Nasri M et Ouerghi Z. 2016. Comprehensive phytochimical analysis,antioxydant and antifongal activities of *Inula viscosa* Aiton leaves. Journal of Food Safety, 36(1):77–88.

May J, Chan C H, King A, Williams L et French G L. 2000. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. Journal of Antimicrobial Chemother, 45(5):639–643.

Messaoudi M, Chahmi N, El Mzibri M, Gmouh S, Amzazi S, Benbacer L et El Hassouni M. 2016. Cytotoxic Effect and Chemical Composition of *Inula viscosa* from Three Different Regions of Morocco. European Journal of Medicinal Plants, 16(4):1-9.

Miller N J, Rice-Evans C A, Davies M J, Gopinathan V et Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clinical Science, 84(4):407–412.

Mongens M. 2013. Origines et conséquences du stress oxydant. Thèse de doctorat vétérinaire de l'école nationale vétérinaire d'Alfort.

Moreau B. 2003. Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

Musthaba S M, Athar M T, Kamal Y T, Baboota S, Ali J et Ahmad S. 2011. Fast analysis and validation of rutin in anti-psoriatic ayurvedic formulation by HPLC. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 34(6):446–455.

NCCLS, 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—Fifth edition. NCCLS document M7-A5. [ISBN 1-56238-394-9] NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne. 1987-1898.

Newman D J, Cragg G M et Snader K M.2000. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. J. Nat. Prod, 66(7):1022-1037.

Normak H B et Normak S. 2002. Evolution and spread of antibiotic resistance. J. Intern. Med, 252 (2):91-106.

Opal S M, Mayer K H et Medeiros A A. 2000. Mecanisms of bacterial antibiotic resistance. 5eme éd . New York, 2213-2243.

Ouahchia C, Hamaidi-Chergui F, Cherif H S, Hemma R, Negab I, Azine K, Saidi f. 2019. Teneur en phénols totaux, activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique de certains extraits d*'Inula viscosa*(L.) d'Algérie. Phytothérapie. 1-11p.

Ozenda P.1977. Flore et végétation du Sahara, Ed. CNRS, Paris, France, p250-259.

Ozkan E, Karakas F P, Yildirim A B, Tas I, Eker I, Yavuze M Z et TurkerA U.2019. Promising medicinal plant *Inula viscosa* L. Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. Progress in Nutrition, 21(3):652-661.

Paris M et Hurabielle. 1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome 1. Ed Masson. Paris, 102-103-104-107.

Passalacqua N G, Guarrera P M et De Fine G. 2007. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). Fitoterapia, 78(1):52–68.

Pibiri M C. 2006. Assainissement Microbiologique de l'air et des Systèmes de Ventilation au moyen d'huile essentielles. Thèse pour l'obtention de grade de docteur en science.Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.

Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K et Defraigne J O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme, 16(4):233–239.

Popoff M R et Carlier J P. 2001. Botulisme, épidémiologie, approches thérapeutiques et préventives, utilisation thérapeutique des neurotoxines = Botulism, epidemiology, treatment and prevention, neurotoxins as therapeutic agents. Antibiotiques, 3(3):149-162.

Prescott L M, Harley J et Klein D A. 2003. Microbiologie. 2ème Edition Française. Edition de Boeck Université. pp.43-58.

Prescott L M, Harley J P et Klein D A. 1995. Microbiologie. De Boeck ed. p 1014.

Quezel P et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Vol 1-2, Ed. CNRS, Paris France, (**1962-1963**).

Reeb C. 2010. Plantes mellifères, l'inule visqueuse, Abeilles et Fleurs.Université Paris VI : 19-20.review. Animal Food and Technology, 91(720):21-40.

Rhimi W, Ben Salem I, Immediato D, Saidi, Boulila A et Cafarchia C. 2017. Chemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activities of Crude Dittrichia viscosa (L.) Greuter Leaf Extracts. Molecules, 22(7):942.

Sangwan N S, Farooqi A H, Shabih F et Sangwan R S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34, pp 3-21.

Schinella G R, Tournier H A, Prieto J M, Mordujovich de Buschiazzo P et Rios J L.2002. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. Life Sciences, 70(9):1023-1033.

Schofield P, Mbugua D-M, Pell A N. 2001. Analyses of condensed tannins: a review. Animal Food and Technology. 91(1-2):21-40.

Sell S.2006. The Chemistry of Fragrance. From perfumer to Consumer. 2ème ,édition, The Royal Society of Chemistry. Cambridge. p329.

Seyoum A, Asres K, Elfiky F K. 2006. Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry, 67(18):2058–2070.

Shah BA, Qazi GN et Taneja SC. 2009. Boswellic acids: a group of medicinally important compounds. Nat Prod Rep., 26: 72-89.

Silva D E, Denham L, Faleiro G, Miguel C, Cavaleiro et L Salgueiro. 2005. Antimicrobial activity of the essential oils of Dittrichia viscosa subsp. viscosa on Helicobacter pylori. VI

World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare. WOCMAPII. Acta Horticulturae. 6(680):147–151.

Singh S B et Barrett J F. 2006. Empirical antibacterial drug discovery foundation in natural products. Biochem. Pharmacol, 71(7):1006-1015.

Tahraoui A, El-Hilaly J, Israili Z H et Lyoussi B.2007. Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). Journal of Ethnopharmacology, 110(1):105–117.

Theis N et Lerdau M. (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. Int J PlantSci., 164: S93-S103.

Tim Cushnie T P et Lamb J A.2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents, 26(5):343-56.

Upton A. 2006. Les produits antimicrobiennes à domicile .Le problème de l'antibiorésistance. Enoncé de la SCP, 11(3): 177-181.

Van den Berg R, Haenen Guido R M M, Van den Berg H et Bas A.1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for 199evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chemistry, 66(4):511-517.

Warlop F, Spagnol E, Conand C, Lecomte J, Gimilio R et Delvare G. 2009. Pourquoi et comment propager l'inule visqueuse dans les oliveraies. GRAB, Maison de la Bio, Agro parc, Avigon. 4p.

Warlop F. 2006. Limitation des ravageurs de l'olivier par le recours à la lutte biologique par conservation. Cahiers Agriculture, 15(5):449-455.

Wichtl M et Anton R.1997. Plantes thérapeutiques –Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.

Yala D, Merad A S, Mohamedi D, Ouar Korich M N. 2001. Resistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb, 91:5-12.

Yao L H, Jiang Y M, Shi J, Tomas-Barberan F A, Datta N, Singanusong R et Chen S S.2004. Flavonoids in Food and their health benefits. Plant.Food.Human.Nutrition, 59(3):113-22.

Zeggwagh N A, Ouhidi M L, Lemhadri A et Eddouks M. 2006. Stady of hypoglycaemic and hypolipidimic effects of *Inula viscosa* L. Aqueous extract in normal and diabetic rats.Journal of Ethnopharmacology, 108(2):223-227.

Zeguerrou R, Guesmia H et Lahmadi S. 2013. Recueil des plantes médicinales dans la région des Ziban. Edition Dar El Houda, Algérie. ISBN : 978-993.

Liens internet

(@[1]) Figure en lien :http://www.google.com/search?q=structure+de+flavonoides

(@[2]) Figure en lien : https://www.google.com/search?q=structure+de+flavonol&tbm=isch&ved=2ahUKEwi7le6LtJ_qAhVI_4UKHfq_Cy4Q2-cCegQIABAC&oq

(@[3]) Figure en lien :https://www.google.com/search?q=structure+de+anthocyanes&tbm=isch&ved=2ahUKEwjlwIfvpZ_qAhWH5RoKHcbKBKUQ2-cCegQIABAC&oq

(@[4]) Figure en lien :https://www.google.com/search?q=structure+de+flavanol

(@[5]) Figure en lien :https://www.google.com/search?q=structure+de+flavanone&tbm=isch&ved=2ahUKEwjn2JuYpZ_qAhVFlBoKHaj8BTIQ2-cCegQIABAC&oq

(@[6]) Figure en lien : http://www.google.com/search?q=la+structure+de+tanines

(@[7]) Figure en lien : http://www.google.com/search?q=l+structure+des+coumarines

(@[8]) Figure en lien : http://www.google.com/search?la+structure+de+alcaloides

(@[9]) Figure en lien :http://monerbier.canalblog.com/archives/2016/10/16/34398919.html

(@ [10]) Figure en lien :http://www.google.com/search?q=les+fruits+de+inula+viscosa&tbm=isch&ved=2ahUKEwic_Y6x-KHqAhUQNxoKHfv_DEgQ2-cCegQIABAC&oq

(@ [11]) Figure en lien :http://tpe-obesite-microbiote.over-blog.com/article-firmicutes-et-bacteroidetes-45635359.html

(@ [12]) Figure en lien : http://www.google.com/search?biw=320&bih=460&+bm=isch&sxsrf=ALeKk02wA8goW6zLhnNsF6NBdm4N9UQ%3A1592737854297&sa=1&q=r%C3%A9sistance+bact%C3%A9rienne+au+qntibiotique&oq

(@ [13]) **Figure en lien : http://www.google.com/search?la+carte+geographique+de+m%C3%A9d%C3%A9a&q**