

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Filière : Biologie

Spécialité: Biochimie Appliqué

Intitulé :

**Évaluation De L'activité Antioxydante Du
Miel Nature Et Des Polyphénols De La Plante
Médicinale *Inula Viscosa* L**

Présenté Par :

- RAIS Iness
- CHEKRIT Amina
- ROUABAA Achouak
- SAMAH Bouchra

Membre de Jury:

| | | |
|---------------------------|------------|--------------------------------|
| Mme. BENZAZIA Samia (MCA) | Présidente | Univ. Du 20 Août 1955 - Skikda |
| Mme. KADRI Sihem (MCA) | Promoteur | Univ. Du 20 Août 1955 - Skikda |
| Mme. MELAHI Lamia (MAA) | Examineur | Univ. Du 20 Août 1955 - Skikda |

Année universitaire 2022/2023

Remercîments

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu clément et miséricordieux
De nous avoir donné la force, la volonté et le courage de même a bien
Ce modeste travail.*

*Au terme de ce travail, nous adressons nos sincères remerciements à
Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce
Travail.*

Nous remercions particulièrement:

*Mme Khadri Sihem pour avoir dirigé ce travail et pour ses conseils
Et ses orientations tout au long de ce travail, et nous la remercions
Vivement pour sa gentillesse.*

*Nous souhaitons remercier Mme Benzazia S de nous avoir fait
L'honneur de présider le jury. Nous tenons aussi à exprimer nos
Gratitudes à l'examinatrice Mme Mellahi L, qui nous a fait l'honneur de juger notre
travail et ses remarques ne feront qu'améliorer la qualité de ce document.*

*Nous adressons de même nos remerciements à tous nos enseignants du
Département de Biologie surtout
Qui ont déployé leurs efforts pour nous faire profiter de leurs vastes
Connaissances et leurs conseils fructueux et judicieux.*

*Enfin, nous exprimons notre profonde reconnaissance à nos parents et
Nos amis qui nous ont aidés d'un sourire, d'une critique, d'un
Encouragement ou d'un service pour tous les sacrifices consentis.*

Dédicace Iness :

Je dédie ce travail :

Tout abord, je remercie Dieu tout-puissant qui m'a aidé et grâce à lui j'ai atteint ce niveau.

A mes chers parents :

Merci de m'avoir toujours soutenu durant tout le long de ma vie, pendant les bons moments et les plus difficiles, merci de m'avoir toujours encouragé et cru en moi et merci pour tout ce que vous m'avez appris et apporté.

A mes très chères sœurs : Kaoutar et Salsabile.

A mes très chers frères : Djaber, Nafaa et Haytem.

A toute ma famille, proche ou éloignée.

A mes amis qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir et qui m'ont aidé à réaliser ce travail : Amina, Bouhra et Achwak

A tous ceux qui me sont chers même qu'ils ne sont pas cités.

Iness

Dédicace Amina :

*Avant tout je remercie Dieu tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et la patience
et qui a guide mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études*

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

*A celle qui ma arrose de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible a la mère des
sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières Abla younes, ma mère, tu as toujours été
présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.*

*A mon support dans ma vie, qui a appris ma supporté et ma dirigé vers la gloire Noureddine
chekrit, mon père, Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années
de mes études*

*En ce jour mémorable, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond
estime. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse
vous combler à mon tour*

*A mon cher frère Rabah, A tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma
profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé.*

Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

*A mes sœurs Nawel et Amira vous m'avez toujours offert soutien et réconfort, j'exprime envers
vous une profonde admiration, reconnaissance et attachement inconditionnels. Merci de
m'avoir soutenue et encouragé, d'avoir crus en moi, pour votre précieux aide et votre amour
infini*

A toutes les personnes de ma grande famille

*A mes meilleurs amis, Ilham, Iness, Rym, rayen je ne peux trouver les mots justes et sincères
pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur
qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les
moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie
pleine de santé et de bonheur.*

*A mes précieuse quadrinome, Iness, Bouchera et Achouak, qui mon accompagne dans se
travaille et qui ont partages avec moi les moments difficile pour réaliser ce travaille
A tonton Abde El Wehab Boumerba pour son aide précieux, et sa patience et gentillesse*

Merci.

Amina

Dédicace Bouchra:

Je dédie Ce projet de fin d'étude

*En premier lieu à mes parents qui m'ont aidé et soutenu durant toutes ces longues années
d'étude*

A mes chères sœurs : Yasmine, Nour

A mon frère : Mouhamed

A un morceau de mon cœur et le secret de mon bonheur ma nièce Rahaf

Aux tantes et oncles

A toute la famille sans exception

A mon fiancé et sa famille

A mes amies proches

A tous ceux qui me sont chers

A tous ceux qu'on crut en mes succès

A toute la promo 2018-2023.

Surtout mes collègues, je les remercie pour tous les efforts que nous

Avons faits ensemble.

****Bichou****

Dédicace Achouak:

Je tiens de dédire ce modeste travail :

*Avant tout je remercie Dieu tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et la patience
et qui a guide mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.*

*A l'homme, qui est toujours été pour moi et sacrifie pour me voir réussir que dieu le protège
et le garde à mon père : Nour Eddine.*

A la femme qui est mon soutien dans ma vie à ma mère : Saliha.

Ames deux belles sœurs : Ikram, Alaa.

A la prunelle de mes yeux mon seul frère : Abd Errahmene.

A mes grands-mères paternel et maternel : que dieu le garde pour moi.

*A mes amoureuse INES, Bichou, Mina qui ont partages avec moi les moments difficile pour
réaliser ce travaille.*

*A mes tantes, mes oncles, mes cousines, et mes amis que j'ai connu jusqu'à maintenant
chaque une par son nom.*

A tous ceux qui m'ont aidée à réaliser ce mémoire.

Achouak

SOMMAIRE

| | |
|------------------------------|-----------|
| Résumés. | |
| Liste des figures. | |
| Liste des tableaux. | |
| Liste des abréviations. | |
| Introduction. | 01 |

Partie Théorique

Chapitre I

phytothérapie et plantes médicinales

| | | |
|--------------|---|-----------|
| I.1 | Phytothérapie. | 02 |
| I.1.1 | Définition. | 02 |
| I.2 | Plantes médicinales. | 02 |
| I.2.1 | Définition. | 02 |
| I.3 | les métabolites. | 03 |
| I.3.1 | Métabolites primaires. | 03 |
| I.3.2 | Métabolites secondaire. | 04 |
| I.4 | Polyphénols. | 04 |
| I.4.1 | Définition. | 04 |
| I.4.2 | Classification des polyphénols. | 04 |
| I.4.3 | Rôle et interet des composés phénoliques | 05 |

Chapitre II

Les radicaux libres et les antioxydants

| | | |
|---------------|--------------------------------------|-----------|
| II.1 | Radicaux libres. | 07 |
| II.1.1 | Définition. | 07 |
| II.1.2 | Production des radicaux libres. | 08 |
| II.2 | Stress oxydatif. | 08 |
| II.2.1 | Définition. | 08 |
| II.3 | Antioxydants. | 09 |
| II.3.1 | Antioxydants enzymatiques. | 09 |
| II.3.2 | Antioxydants non enzymatique. | 10 |

Chapitre III **Plante médicinale « *Inula viscosa* L »**

| | | |
|----------------|-----------------------------------|-----------|
| III.1 | Généralité. | 12 |
| III.1.1 | Description botanique. | 12 |
| III.1.2 | Répartition géographique. | 13 |
| III.2 | Classification de la plante. | 13 |
| III.2.1 | Composition chimique. | 13 |
| III.2.2 | Aspect pharmacologique. | 14 |

Partie Pratique

Chapitre IV **Matériel et méthodes**

| | | |
|---------------|--|-----------|
| IV.1 | Matériel. | 15 |
| IV.1.1 | Matériel végétal. | 15 |
| IV.1.2 | Matériel du laboratoire. | 17 |
| IV.2 | Méthodes. | 17 |
| IV.2.1 | Extraction des composés phénoliques. | 17 |
| IV.2.2 | Calcul du rendement en extraits secs. | 17 |
| IV.2.3 | Dosage des polyphénols totaux. | 18 |
| IV.2.4 | Dosage des flavonoïdes totaux. | 18 |
| IV.2.5 | Teste de l'activité anti-oxydante. | 19 |

Chapitre V **Résultats et discussion**

| | | |
|------------|---|-----------|
| V.1 | Rendement en extrait sec. | 21 |
| V.2 | Teneur en polyphénols et en flavonoïdes. | 21 |
| V.3 | Activité antioxydante. | 24 |
| | Conclusion. | 27 |
| | Reference bibliographique. | 28 |

Résumé :

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses plantes qui existent dans leurs habitats, afin de traiter toutes sortes de maladies.

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne et méditerranéenne, on s'est intéressé à l'étude du pouvoir antioxydant des polyphénols et du miel naturel d'une plante médicinale *Inula viscosa* appelée communément «magramane» ; c'est une plante vivace appartenant à la famille des Astéracées et qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen, elle est très connue pour ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des composés phénoliques de la plante a été effectuée par soxhlet a donné un rendement relativement faible en extrait brut, ce dernier dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométrique avec un taux de ($126,08 \pm 0,008 \mu\text{g EAG/mg}$ et $10,55 \pm 0,005 \mu\text{g/mg}$ respectivement).

Par ailleurs, des quantités faibles en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été enregistrées pour le miel ($9,69 \pm 0,01 \mu\text{g EAG/mg}$ et $2,4 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH révèle que : l'extrait éthanolique de notre plante est doté d'une activité inhibitrice importante ($\text{IC}_{50} = 80 \mu\text{g /ml}$) et pour le miel naturel une faible activité en se référant à l'acide ascorbique.

Mots clés: Activité antioxydante, composés phénoliques, *Inula viscosa*, plantes médicinales et test DPPH

Abstract:

Since ancient times, humanity has used various plants found in their habitats to treat and cure various diseases. As part of the valorization of medicinal plants from the Algerian and Mediterranean flora, we have focused on studying the antioxidant power of polyphenols and natural honey from a medicinal plant called *Inula viscosa*, commonly known as “magramane”. This perennial plant belongs to the Asteraceae family and is widely distributed in the Mediterranean basin, renowned for its therapeutic properties.

The extraction of phenolic compounds from the plant was performed using a Soxhlet apparatus, yielding a relatively low crude extract. However, this extract exhibited a significant content of total polyphenols and flavonoids, measured by spectrophotometric methods, with levels of $(126.08 \pm 0.008 \mu\text{g GAE/mg})$ and $(10.55 \pm 0.005 \mu\text{g/mg})$, respectively). On the other hand, the honey showed lower quantities of total polyphenols and flavonoids $(9.69 \pm 0.01 \mu\text{g GAE/mg})$ and $2.4 \pm 0.03 \mu\text{g EQ/mg}$, respectively).

The evaluation of antioxidant activity using the DPPH test revealed that the ethanolic extract of our plant exhibited significant inhibitory activity ($\text{IC}_{50} = 80 \mu\text{g/ml}$), while the natural honey displayed lower activity compared to ascorbic acid.

Keywords: Antioxidant activity, phenolic compounds, *Inula viscosa*, medicinal plants, DPPH test.

الملخص:

منذ العصور القديمة، استخدمت البشرية مجموعة متنوعة من النباتات الموجودة في بيئاتها لعلاج وشفاء مختلف الأمراض ضمن إطار تثمين النباتات الطبية من البيئة الجزائرية والبحر الأبيض المتوسط، ركزنا على دراسة القوة المضادة للأكسدة للفينولات والعسل الطبيعي من نبات طبي يسمى *Inula viscosa*، المعروف شائعاً باسم « ماغرامان » هذا النبات الدائم ينتمي إلى عائلة الأستراسيات وينتشر على نطاق واسع في حوض البحر الأبيض المتوسط ومشهور بخصائصه العلاجية.

تم إجراء استخلاص المركبات الفينولية من النبات باستخدام جهاز السوكسليت، مما أسفر عن استخلاص خام بنسبة منخفضة نسبياً. ومع ذلك، تبين أن هذا الاستخلاص يحتوي على نسبة ملحوظة من الفينولات الكلية والفلافونويدات، وتم قياسها باستخدام طرق مقياس الطيف الضوئي، بنسب تبلغ 0.008 ± 126.08 ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملغ و 10.55 ± 0.005 ميكروغرام/ملغ على التوالي. من ناحية أخرى، أظهر العسل كميات أقل من الفينولات الكلية والفلافونويدات (0.01 ± 9.69 ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملغ و 0.03 ± 2.4 ميكروغرام مكافئ الكويرسيتين/ملغ على التوالي).

كشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH أن الاستخلاص الإيثانولي لنباتنا يمتلك نشاط مثبط ملحوظ ($IC_{50} = 80$ ميكروغرام/مل)، في حين أظهر العسل الطبيعي نشاطاً أقل بالمقارنة مع حمض الأسكوربيك.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة، المركبات الفينولية، *Inula viscosa*، النباتات الطبية، اختبار DPPH.

LISTE DES FIGURES

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Figure 01 | classification générale des polyphénols. | 05 |
| Figure 02 | Origines des différent radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. | 07 |
| Figure 03 | Dismutation de l'anion superoxyde par le superoxyde dismutase. | 09 |
| Figure 04 | Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase. | 09 |
| Figure 05 | Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme oxydée. | 09 |
| Figure 06 | La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSH-réductase qui utilise du NADPH. | 10 |
| Figure 07 | <i>Inulaviscosases</i> déférentes partie. | 13 |
| Figure 08 | Préparation du matériel végétal. | 15 |
| Figure 09 | carte géographique de la région de récolte. | 16 |
| Figure 10 | mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) | 19 |
| Figure 11 | Test de Piégeage du radical libre DPPH•. | 19 |
| Figure 12 | Rendement en extrait polyphénolique brute des feuilles de la plante <i>Inulaviscosa</i> . . | 21 |
| Figure 13 | la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. | 21 |
| Figure 14 | la courbe d'étalonnage de la quercétine. | 22 |
| Figure 15 | Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d' <i>Inula viscosa</i> | 22 |
| Figure 16 | Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d' <i>Inulaviscosa</i> | 23 |
| Figure 17 | Activité antiradicalaire du miel et de l'extrait éthanolique brut de la plante <i>Inulaviscosa</i> et de l'antioxydant standard l'acide ascorbique. | 24 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Tableau 1 | Quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leurs propriétés. | 03 |
| Tableau 2 | Activités biologiques de quelques composés phénoliques. | 06 |
| Tableau 3 | Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-oxydantes. | 11 |
| Tableau 4 | Noms et localisation du quelque composant d' <i>Inulaviscosa</i> | 14 |
| Tableau 5 | Paramètres géographiques des deux régions de récolte. | 16 |
| Tableau 6 | Valeurs des EC50 de l'extrait et du miel d' <i>Inula viscosa</i> ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique) | 25 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|---------------|---------------------------------|
| UV : | Ultra-violet. |
| ERO : | Espèces réactives de l'oxygène. |
| SOD: | Le superoxydedismutase: |
| BHA: | Le butylhydroxyanisole |
| BHT: | L'hydroxytoluènebutylé. |
| Abs: | Absorbance. |
| Rdt: | Le rendement |
| DPPH : | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil |
| AH : | Antioxydant |
| EC50 : | Concentration effective à 50%. |
| I% : | Taux d'inhibition |

INTRODUCTION

Introduction

Les relations entre les plantes et l'homme existent depuis l'antiquité (Ngene, J., et al, 2015), elles ont été utilisées pour soulager les douleurs, guérir les maux et panser les blessures (Benkhniq, O., et al, 2010). En effet les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine... etc.) ont eu recours aux plantes médicinales en raison de leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles (Lahsissene, H., et al, 2009). Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Benkhniq, O., et al, 2010). Notamment l'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique qui reste très peu explorée, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémique (Louni, 1994).

Parmi les différentes plantes médicinales en Algérie, *Inula viscosa* L.; une très importante plante connue par son pouvoir thérapeutique important, sa répartition dans tous les coins du pays et son utilisation traditionnelle fréquente par les algériens. Cette espèce appelée communément « Inule visqueuse » largement utilisée en médecine traditionnelle, peu exigeante en facteurs écologiques, on peut la trouver un peu partout en Algérie, elle est très résistante aux conditions défavorables et se produit dans des environnements dégradés dont elle possède des caractéristiques qui lui permettent de devenir une adventice envahissante (Parolin et al., 2016).

Le stress oxydatif et la principale cause initiale de plusieurs maladies : cataracte sclérose latérale amyotrophie, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire vieillissement accélère, le diabète, l'inflammation gastro intestinale Georgetti, S.R., et al. (2003); Favier, A. 2003; Atawodi, S.E. (2005). La recherche d'antioxydant naturel comme source alternatives aux antioxydants de synthèse a émergé et l'exploitation des différents métabolites secondaires de la plante a été mis en évidence. Ces substances sont capables de réduire les radicaux libres comme superoxyde, peroxyde, alcoxylate et hydroxyle (Benhamou et al, 2008).

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à ce travail qui consiste à mettre en évidence l'éventuel pouvoir anti oxydant des polyphénols extraits de la plante médicinale *Inula viscosa* L. ainsi que de son miel naturel dans le but de chercher des alternatives pour le traitement de plusieurs maladies qui sont dues au stress oxydatif.

Partie Théorique

Chapitre I

Phytothérapie et plantes médicinales

I.1Phytothérapie :

I.1.1Définition :

Le terme phytothérapie provient du grec : « phyto » signifie plante et « thérapie » signifie traitement; donc c'est le traitement par les plantes (**Baba Aissa. 2000**).

La phytothérapie est le traitement par des produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout ce que contient la plante. Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite des substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode d'emploi. (**Bruneton .1999**).

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

- La phytothérapie : l'utilisation des différentes parties des plantes (racine, feuilles, fleurs ou la plante entière) sous différentes formes galéniques;
- La gemmothérapie : l'utilisation des bourgeons de la plante ;
 - L'aromathérapie : l'utilisation des huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction (**Vernex-Lozet, 2011**) ;
 - Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules ... etc. (**Strang, 2006**).

I.2Plantes médicinales :






I.2.1Définition :

Les plantes médicinales sont les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. L'expression « drogues » brutes d'origine naturelle ou biologique, est utilisée par les pharmaciens ou les pharmacologues pour désigner les plants ou les parties de plantes qui ont propriétés médicinales.

Les plantes médicinales utilisées dans divers domaines de la santé, et pour la recherche pharmaceutique, aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments

(Baba Aissa, 2000). On peut utiliser une partie ou plusieurs parties de la plante selon le but d'utilisation (feuilles, tige, racines, fleurs ou la plante entière). (Tableau 01) montre quelques plantes médicinales utilisées en Algérie.

Tableau 1 : Quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leurs propriétés (Beloued, Abdelkader, 2003)

| Plantes Médicinales | Photos | Nom commun | Partie utilisé | Propriétés thérapeutiques |
|--|---|------------------|--|---|
| Ortie (<i>Urticadioica</i>) (L) |  | Horaig | Fleurs, racines, plante entière | Anti-inflammatoire Antimicrobienne Anti-oxydante Antiallergique Antianémique Hypoglycémiant |
| Chardon – Marie (<i>Silybummarianum</i>) (L) |  | Chouk el djemel. | Les graines la racine et les parties aériennes | Antidépresseur, Antivirales, Antifongique, Anticancéreuse |
| Sauge Officinale (<i>Saliva Officinalis</i>) (L) |  | Meramiya | Les feuilles (fraîches /séchées) | Anti-inflammatoire, Antivirales, soulager les maux de ventre et les digestions difficiles |
| Capucine (<i>Tropaeolummajus</i>) (L) |  | Chabir bacha | Les feuilles les fleurs | Antidépresseur Antivirales Antifongique Anticancéreuse |
| L'inule visqueuse (<i>Inulaviscosa</i>)(L) |  | Maghraman | Les parties aériennes (feuilles et tiges) | Hypoglycémiant Analgésique Cicatrisation Vermifuge Hémostatique Antihémorragiques Antibactérienne |

I.3 Les Métabolites :

Les métabolites sont des molécules qui se forment suite à des réactions chimiques se produisant via le métabolisme de la plante dont on distingue deux classes : métabolites primaires et métabolites secondaires (Hartmann, 2007).

I.3.1 Métabolites primaires :

Un type de métabolite connu par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (Diallo D., 2000) ;

- Les glucides : une source d'énergie et de structure surtout au niveau des parois cellulaire (cellulose) ;
- Les lipides : aussi une source d'énergie et de structure présente dans les

membranes cellulaires ;

- Les acides aminés : une source primaire de construction des protéines.

I.3.2 Métabolites secondaires :

Également appelés métabolites particuliers, sont des éléments phytochimiques complexes, généralement synthétisés par des voies de biosynthèse faisant intervenir de nombreuses étapes catalysées par des enzymes spécifiques, ces éléments interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...). **ROYER, M. (2013)**

Les métabolites secondaires se caractérisent par une faible concentration dans les tissus végétaux, on les retrouve dans des compartiments particuliers à des moments précis de la vie des plantes, peuvent être utilisés pour leur classification (familles genres, espèces). **Pr. LABBANI. (2013)**

Ils sont classés en trois grands groupes : (**Hartmann. 2007**) ;

- Les alcaloïdes : souvent toxiques, correspondent à la présence d'azote dans un hétérocycle, on peut donner comme exemple la caféine, la cocaïne, la morphine, la nicotine, la quinine, la colchicine et l'atropine ;
- Les terpènes : polymères de l'isoprène (monomère de base), on peut donner comme exemple : le caoutchouc, le taxol, des glycosides cardiotoniques et des huiles essentielles ;
- Les poly phénols : on peut donner comme exemple les rutosides, les citro-flavonoïdes : les oligomères flavonoïdes, les anthocyanes les coumarines.

I.4 Polyphénols :

I.4.1 Définition :

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques de règne végétal qui appartiennent à leur métabolisme secondaire, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à six carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. Les polyphénols regroupent 8000 composés connus à ce jour. Certains auteurs classent les polyphénols en neuf familles en se basant sur le squelette carboné des molécules (C6-C1, C6-C3, C6-C4, C6-C1-C6, C6-C2-C6, C6-C3-C6) alors que d'autres utilisent seulement 4 familles (les acides hydrox benzoïques, les acides hydrox cinnamiques, les stilbènes et les flavonoïdes) (**Bouaziz, H et al 2008**).

I.4.2 Classification :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (Clifford M.N., 1999). La (figure 01) représente les différentes classes des composés phénoliques.

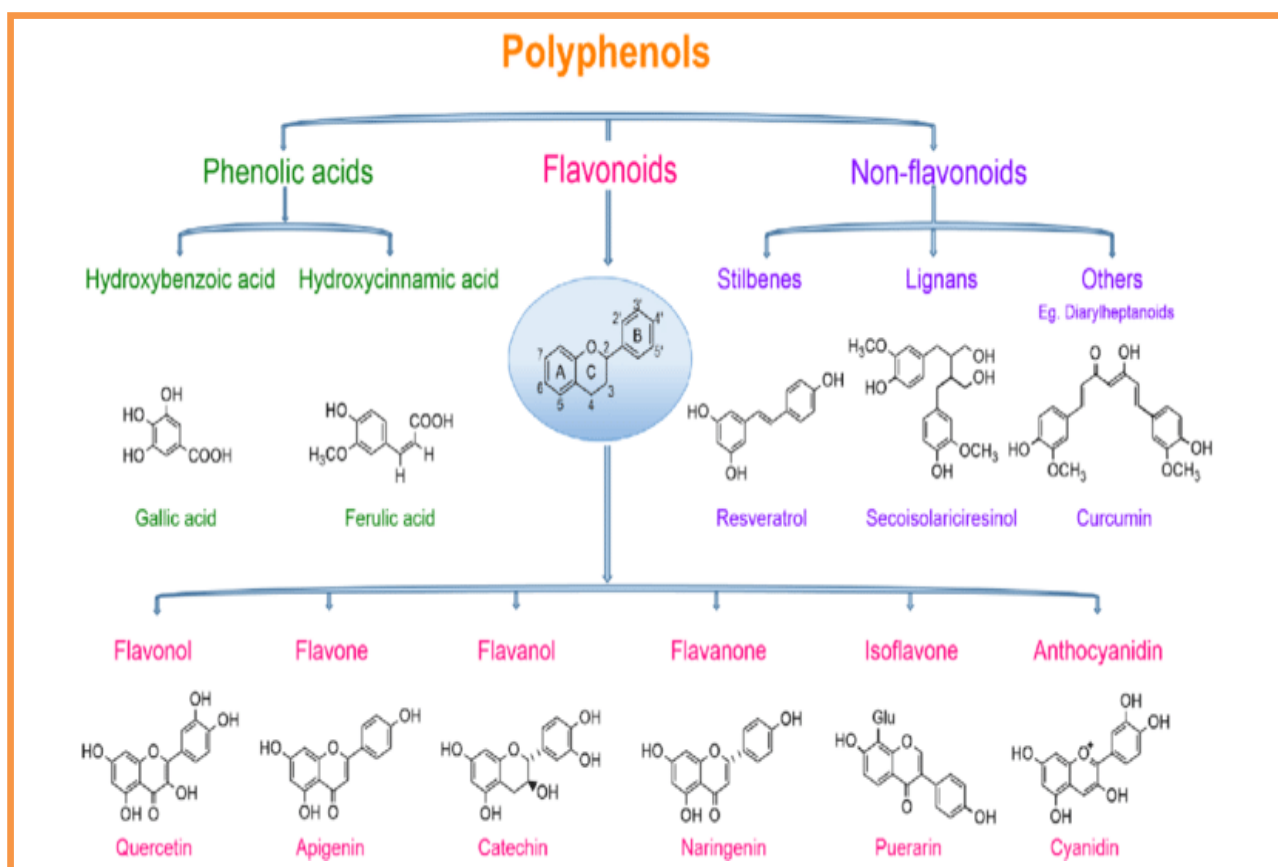


Figure 1 : Classification générale des polyphénols (Gervaise Y, 2004).

I.4.3 Rôle et intérêt des composés phénoliques :

❖ Chez les végétaux :

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des

organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini. (Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005).

❖ Chez les humains :

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice,estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères). (Fleuriet A et al. 2005).

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le (tableau 02).

Tableau 2 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (BRUNETON, 1999).

| Composés phénoliques | | Activités biologiques |
|-----------------------|---|--|
| Acides phénols | -Acide caféique -Acide salicylique | -Antibactérienne -Antifongique -Antioxydante |
| Tanins | -Tanin gallique -Proanthocyanidine | -Effet stabilisant sur le collagène -Antioxydant -Antidiarrhéique -Antiseptique -Vasoconstricteur |
| Flavonoïdes | -Lutéoline -Catéchine -Hespéridine -Quercétine -Naringénine | -Antitumorale -Anticarcinogène -Anti-inflammatoire -Antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse -Antivirale, antimicrobienne, hypotenseur -Diurétique |
| Coumarines | -Dicoumarol | -Anticoagulant, antioxydant -Protectrice vasculaire -Antioedémeuse |

Chapitre II
Radicaux libres
Et
Antioxydants

II.1 Radicaux libres :

I.1.1 Définition :

Un radical libre est un fragment obtenu par scission d'une molécule et qui possède un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui lui confère une grande réactivité chimique et une instabilité énergétique et cinétique. Les radicaux libres réagissent rapidement avec d'autres composants en donnant ou capturant leurs électrons nécessaires pour acquérir la stabilité, les composants deviennent alors eux-mêmes un radical libre. **Martinez, C. (1995) ; Kehler, P. (2008)**, dont on peut distinguer deux types

a. Les radicaux libres primaires :

Un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires ces derniers regroupent : **Favier, A. (2003)**.

- Les espèces radicalaires (radical superoxyde, radical hydroxyle et le monoxyde d'azote) ;

- Les espèces non radicalaires (oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène, peroxydinitrite). **Gardès-Albert M et al (2003)**.

b. Les radicaux libres secondaires :

Le radical libre primaire va oxyder de nombreuses molécules biologiques (lipides, glucides, protéines et acides nucléiques) ne comportant pas d'électron célibataire provoquant ainsi une réaction en chaîne au cours de laquelle apparaissent de nouveaux radicaux, dits secondaires ($R^* + R' \rightarrow R + R'^*$). **Adjélé, W., et al (2003)**

Bien que les sources suivantes : rayonnement électromagnétique, métaux de transition, fumées de combustion, produits chimiques et les poussières puissent causer la formation de radicaux libres dans l'organisme **Adjélé, Wilson., et al (2003)**

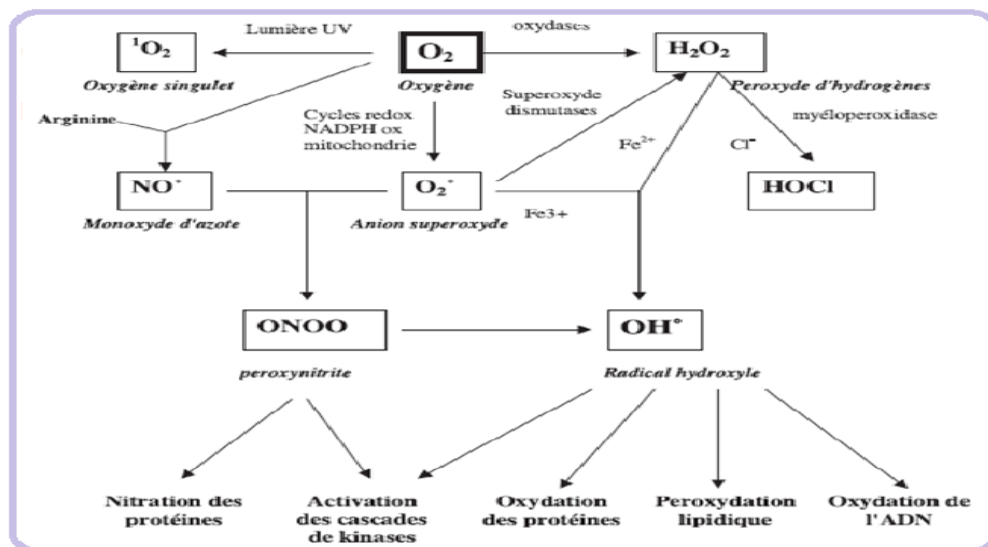


Figure 2: Origines des différents radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. (P. Wetwitayaklung, et al (2011)).

II.1.2 Production des radicaux libres :

La production des radicaux libres semble être permanente et est contrôlée par un matériel de défense cellulaire, ce qui permet aux cellules et aux tissus de conserver leur intégrité structurale et fonctionnelle. Cette production s'effectue durant les réactions oxydo-réduction, ces différentes molécules radicalaires peuvent avoir deux origines (Sanchez M, (1994)).

a) Production endogène (interne) :

Mitochondrie: la formation du radical libre est liée à l'activité physique et à l'intensité d'oxygénation. (Favier, 2003).

Cellules phagocytaires: par une enzyme membranaire spécialisée dans la fabrication du radical superoxyde. (Aruna et al., 2003 ; Mette et Berger, 2006).

Xanthine-déshydrogénase: est une enzyme ubiquitaire qui peut être modifiée en xanthine- oxydase, cette enzyme génère du superoxyde en présence d'oxygène et de xanthine ou d'hypoxanthine. (Berger, 2006 ; Kœchlin-Ramonatxo, 2006)

Les métalliques: (chrome, vanadium cuivre fer libres) génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de fenton (Favier, 2003).

b) Production exogène (externe) :

Les radicaux libres peuvent être produits par diverses sources comme les rayonnements

UV les particules inhalées, le tabac, l'ingestion de l'alcool et les médicaments (**Favier, 2003**).

II.2 Stress oxydatif :

II.2.1 Définition :

Stress oxydant est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), cela est dû à un déséquilibre lié à une surproduction d'espèce réactive ou à une diminution de la capacité anti-oxydante de l'organisme (**Defragine et al., 2007**).

Le stress oxydant est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies telles que les cancers, les pathologies oculaires, les maladies neurodégénératives, la sclérose latérale amyotrophique familiale. Il peut causer des dommages cellulaires, entraînant des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire et des troubles immunitaires mutagènes. (**Favier, 2003 ; iness**).

Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoiq, et des enzymes comme la catalase, le superoxyd

dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines (**Morel Y., et al, 1998 ; Beckman KB., et al, 1999 ; Delattre J., et al, 2005**).

II.3 Antioxydants :

L'antioxydant est une substance qui ralentit, empêche ou inhibe l'oxydation en neutralisant des radicaux libres, et bloque de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants.

L'organisme possède des systèmes de défense complexe, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques, localisés dans les compartiments intra et extracellulaire. (**Tang., et al, (2010) ; AZOUZI D., et al, (2014)**).

II.3.1 Les antioxydants enzymatiques :

Les enzymes les plus connues sont le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx), et la glutaredoxine (GRx). Présentes dans le cytoplasme (**Berger. 2006**).

Ces enzymes permettent de transformer les molécules radicalaires en substances inoffensifs, elles s'associent a des éléments appeler « cofacteurs » comme le zinc, le sélénium, le cuivre et le manganèse, qui leurs permettent d'exercer leur activité

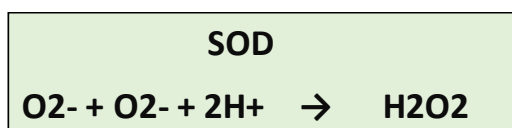


Figure 3:

Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase.(Adjélé, W., et al, 2003).

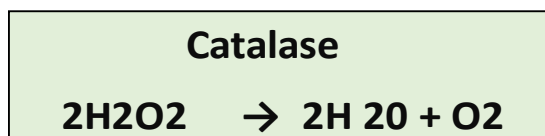


Figure 4 :

Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase.(Adjélé, W., et al, 2003).

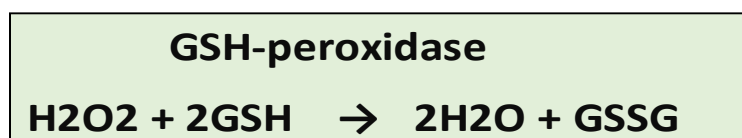


Figure 5:

Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme oxydée.(Adjélé, W., et al, 2003).

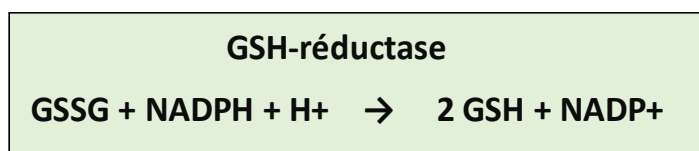


Figure 6:

La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSH-réductase qui utilise du NADPH. (Adjélé, W., et al, 2003).

II.3.2 Les antioxydants non enzymatiques :

Sont des composés naturellement apportés par l'alimentation ou différents polyphénols des agents d'origine endogène ou synthétique. . (Vamecq et al., 2012).

a. Les antioxydants endogènes :

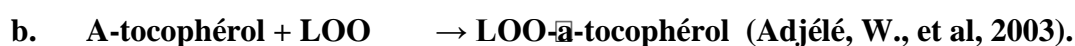
Incluent de nombreux thiols dans le majoritaire est le glutathion, Les formes oxydée et réduite de l'acide lipoïque, autre composé qui présentent des propriétés antioxydantes

in vitro en piégeant les OH^* , RO_2^* , $\text{l}'\text{HOCL}$. En se liant a des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (**Packer et al., 2001 ; Panfili et al., 2003 ; Smith et al., 2004**).

b. Les antioxydants exogènes :

Des antioxydants chimiques, comprennent majoritairement : (**Bensakhria, A 2015**)

➤ **Vitamine E** : antioxydant majeur des structures lipidiques et membranaires, elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO^*



➤ **Vitamine C** : acide ascorbique, présente dans la plupart des fruits et légumes, un agent réducteur et chélateur réagit directement sur radicaux libres et élimine H_2O_2 .

➤ **Provitamine A (caroténoïdes)** : précurseur de vitamine A elle interrompt le processus de la peroxydation lipidique par simple addition électrophile et transfert d'électron, permettent en particulier de neutraliser l'oxygène singulet

➤ **Composes phénoliques** : vitamine P (flavonoïdes), ont une faculté à « terminer

» Les chaines radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons

➤ **Les oligoéléments** : Se, Zn comme cofacteur de la GPx SOD1, SOD3, respectivement

➤ **Protéines transporteuses** : par séquestration des métaux impliquent dans la génération des E

c. Les antioxydants synthétiques :

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique, sont des antioxydants lipophiles les plus fréquemment utilisés. Employer comme conservateurs à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. (Ito et al., 1983 ; Chen et al., 1992)

Tableau 3 : Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-Oxydantes (Moon et Shibamoto, 2009).

| Nom scientifique | Nom commun | Composés actifs |
|------------------------|--------------|-------------------------------------|
| Inula viscosa | Magramane | Composés phénoliques |
| Glycyrrhizaglabra | Réglisse | Glycyrrhizine |
| Zingiber officinalis | Gingembre | 6_gingerdiols |
| Glycine max | Soja | Eugenol, maltol, alcool, benzylique |
| Rosmarinus officinalis | Romarin | Acide acrosomique |
| Zanthoxy lumpiperitum | Poivre noire | Arbutine, magnoflorine |
| Eucalyptus globulus | Eucalyptus | 1,8_cineole, benzaldéhyde |
| Syzygiumaromaticum | Giroflier | Eugenol, eugenyl acétate |
| Vitisvinifera | Raisin | Composés phénoliques |
| Solanumlycopersicum | Tomate | rutine, acide ascorbique, lycopen |

Chapitre III
Plante étudiée
Inula viscosa L

III.1 Généralités :

Inulaviscosa ou *Dittrichiaviscosa* L est une plante vivace qui appartient à la famille des Astéracées qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen, (Al-Eisawi, D. (1998) Al-Dissi et al. 2001).

Cette plante est utilisée depuis des années en médecine traditionnelle pour ses activités anti-inflammatoire, antipyrétique et antiseptiques elle est également utilisée pour le traitement du diabète et le traitement de certains troubles gastroduodénaux. **Barbetti, P et al, (1985) ; Amin, S et al., (2013).**

Son nom viendrait du grec dont *Inéo* qui veut dire je purge (allusion à une propriété thérapeutique de la plante) et *Viscosa* qui signifie visqueuse. (Fournier, 1947 in Chaou. 2017)

En Algérie (kabyle et l'est Algérien) cette plante est nommée Amagramane qui vient de magar : rencontrer, amane : eau, Inule visqueuse ; Aunée visqueuse en français et RockFlea-bane en Anglais (Halimi; 1997).

III.1.1 Description botanique :

Inula viscosa est une plante arbuste ou arbrisseau, Annuelle, Glanduleuse peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur, elle est collante et très odoriférante, toutes la plantes est couverte de pôles glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante généralement persistante, ses tiges sont dressées simple ou ramifiées, ligneuses à la base (Bartels, 1997).

Les feuilles sont très étalées, allongées et lancéolées, 3 à 7 cm de long et 6 à 12 mm de large, insérées directement sur la tige sans pétioles, verticillées par 3 et disposées sur 6 rangs, tous linéaires envalée à pointe fine et piquante, marquées de 2 sillons blanchâtres Séparées par la nervure médiane en dessous, à carène obtuse et non sillonnées en dessous (Ismail el Amine Henaoui_2015).

Elle présente des capitales à des fleurs jaunes au sommet de la tige les fleurs du centre sont tubulaires et celles du périphériques sont liguliformes (Benseguenitounsi, 2001) .

Les fruites sont secs, un peu ovoïdes (Chaou, 2017 et Garbari ,2007).

(La figure 07) représente les déférentes parties de la plante *Inulaviscosa*.



Figure 7 : Inulaviscosases différentes partie

III.1.2 Repartition géographique :

Selon QUEZEL et SANTA (1963), *Inulaviscosa* pousse abondamment dans le bassin méditerranéen (France, Espagne, Algérie, Maroc ...) en Asie (Chine , Japon , Korea), On Algérie elle évoluée dans les terrains argileux (un peu humides), rocailles, garrigues , dans les bords de cours d'eau.

III.2 Classification de la plante:

D'après FOURNIER et al., (1947) La position systématique de cette plante est comme suit :

| | |
|----------------------------|-----------------|
| Règne : | Plantae. |
| Embranchement : | Spermaphytes. |
| Sous-embranchementa | ngiospermes. |
| Classe : | Dicotylédones. |
| Sous classe : | Gamopetales. |
| Ordre : | Campunulales. |
| Famille : | Compositae. |
| Genre : | Inula. |
| Espèces : | Inulaviscosa-L. |

III.2.1 Composition chimique :

Cette plante médicinale contient des composés pharmacologiquement actifs notamment des lactones, des flavonoïdes (**Pérez Alonso, M.J., et al**), et des huiles essentielles (**AşkinÇelik, T. and Ö.S. Aslantürk**). Le tableau 3 résume la composition chimique d'*Inulaviscosa*.

Tableau 4 : Noms et localisation du quelque composant d'*Inulaviscosa*.

| Composition | Exemple | Partie | Référence |
|--------------------|--|-----------------------------------|---|
| Composé phénolique | - Orcinolférolate glucoside - Malonate d'apigénine glucoside - 7-méthyléther d'aromadendrin | Feuilles Fleure plante entière | Trimech, I., et al(2014). |
| Flavonoïdes | - Népétin, - Quercétine, - Hispiduline - Sakuranetin - 7-O-Methylaromadendrin - 3-Acetyl-7-O-methylaromadendrin | Plante entière p. aérienne | Tebbaa, M., et al(2011). |
| Sesquiterpènes | - Acide isocostique - Acide ilicique | P. aérienne | Talib, W et al.(2012). |
| Autres composés | - Alcools, - cétones - esters - acides gras - alcanes | - alcanes P | Haoui, I.E., et al. (2015). Santos, S.A., et al. (2016). |

III.2.2 Aspects pharmacologiques :

L'inule visqueuse est très utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques parmi les quel son peut citer :

- Elle agit comme un calmant de la toux. (**Bellakhdar, 1997**) ;
- Améliore l'appétit. (**Ameur et al., 2016**) ;
- Utilisée pour réduire les douleurs gastriques et intestinales et traiter les troubles gastroduodénaux. (**Al-Dissi et al., 2001 ;Chahmi et al.,2015**) ;
- Grâce à sa forte activité antioxydants. (**Celiket Aslanturk, 2010**).
- Abaisse la fièvre. (**Haoui et al., 2015**) ;
- antiseptiques, antipyrétiques anti-inflammatoires, antidiabétiques. (**Khalil et al ., 2007 ;Bakkara et al.,2008**) ;
- Utilisé comme un cataplasme pour les maux rhumatismaux (**Al-Dissi et al., 2001**) ;
- Antivirale antifongique et contre les moisissures (**Benhammou et Atik Bakkara,2005**) ;

- Anti bactériennes **RajamanickamRajkumar. (2012).**

Partie pratique

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Notre travail consiste à évaluer l'activité anti oxydante des deux produits : miel naturel et polyphénols provenant d'une même plante médicinale *Inula viscosa*, en effet, notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie de hall de technologie, Faculté des sciences, université 20 août 1955 Skikda, en 2 parties :

- ✓ Une 1^{ère} partie qui consiste en l'extraction des polyphénols à partir des feuilles sèches d'*Inula viscosa* et le dosage du polyphénol totaux et des flavonoïdes ;
- ✓ Une seconde partie a été consacrée pour tester le pouvoir antioxydant de nos échantillons ; le miel naturel et les polyphénols.

IV.1 Matériel :

IV.1.1 Matériel végétal :

Notre étude a porté sur les feuilles de la plante médicinale *Inula viscosa* qui a été récolté en 25 avril 2023 dans la région de El hadaik, Université 20 août Skikda, Une fois récoltée, la plante a été nettoyées et mise à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité à température (T°) ambiante pendant 20 jours. Après séchage, les feuilles ont été séparées des tiges et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, la poudres obtenue a été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des boites jusqu'à leur utilisation.



Figure 8 : Préparation du matériel végétal (original).

Miel naturel

Selon les informations données par l'apiculteur l'échantillon miel est récolté dans la région de Tizaghban, Ouled Attia wilaya de Skikda en 2022, il s'agit d'un miel mono floral

« *Inulaviscosa* ». Il a été conservé dans des pots hermétiques en verre à l'abri de l'humidité.

Les paramètres ainsi que la carte géographique des deux régions de récoltes sont représentés respectivement dans le (Tableau 05) et la (figure 09).

Tableau 5 : Paramètres géographiques des deux régions de récolte

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Climat-skikda.dz>).

| Echantillon | Lieu de la récolte | Coordonnées géographiques |
|---------------------|-----------------------------------|---|
| <i>Inulaviscosa</i> | Université 20 août Skikda 1955 | Altitude : 24m Latitude : 36.866667 Nord Longitude : 6.9 Est Climats : Climat méditerranéen avec été chaud |
| Miel naturel | Tizaghban, Ouled Attia, Skikda | Altitude : Nonem (0 ft) Latitude : 36°59'42'' nord Longitude : 6°20'33'' est Climats : [16.09°C 20.31°C] |

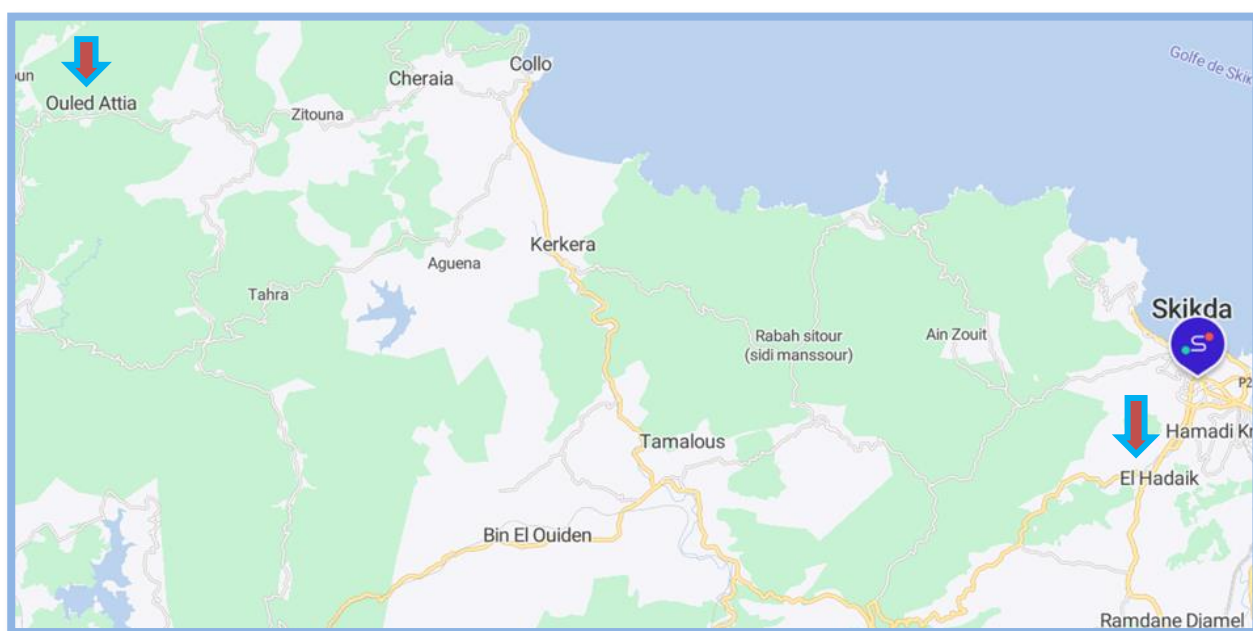


Figure 9 : Carte géographique montre les deux régions de récolte

(<https://1map.com/fr/maps/algeria/skikda-56047>)

IV.1.2 Matériel du laboratoire :

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leur utilisation

IV.2 Méthodes :

IV.2.1 Extraction des composés phénoliques à partir de l'*Inula viscosa* :

L'extraction des polyphénols à partir des feuilles sèches de notre plante a été faite par Soxhlet qui favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale, on a utilisé un solvant organique à polarité ; l'éthanol (99%) et la matière végétale (poudre) avec un rapport matériel végétal / solvant de (1/10 g/ml).

➤ Procédure :

- Placer la poudre (50g) dans le panier de l'extracteur Soxhlet ;
 - Ajouter 500mL d'éthanol dans le ballon rond de l'extracteur Soxhlet ;
 - Assembler l'extracteur Soxhlet et chauffer le solvant à une température d'ébullition (60°C) ;
 - L'éthanol évaporé sera contenu dans l'extracteur Soxhlet et se condensera sur le condenseur refroidi à l'eau froide ;
 - L'éthanol condensé gouttera sur la plante dans le panier, extrayant les composés désirés ;
 - Laisser l'extraction se poursuivre pendant plusieurs heures, jusqu'à ce que le solvant dans le ballon rond devienne clair ;
 - Retirer le panier de l'extracteur Soxhlet et récupérer l'extrait ;
 - Concentrer l'extrait en utilisant un évaporateur rotatif à 42°C pour éliminer le solvant.
- L'extrait brut récupéré a été conservé dans des boîtes de pétri jusqu'à son utilisation.

IV.2.2 Calcul du rendement en extrait sec :

Pour déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

P1: poids du ballon après évaporation.

P2: poids du ballon vide avant évaporation.

P3: poids de la matière végétale de départ en poudre.

IV.2.3 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Wong *et al.* (2006)**.

➤ Principe de la réaction :

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Robbins, 2003**).

La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Mode opératoire :

Il consiste à mélanger 200 μ l de l'échantillon (0.5 mg dilué dans 1ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé).

Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée.

Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures.

Après incubation, l'absorbance est mesuré par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de l'échantillon est réalisé comme le point 0 en mg/ml.

IV.2.4 Dosage des flavonoïdes totaux :

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par (**Djeridane *et al.*, 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ Principe de la réaction :

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Lagnika, 2005**).

➤ Mode opératoire :

Brièvement, 1 ml de chaque échantillon et du standard (0.5 mg dissous dans 1ml de Méthanol) a été ajouté à 1ml de solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Le blanc contient tout le mélange réactionnel sauf l'échantillon.

IV.2.5 Test de l'activité anti-oxydante :

La mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de l'extrait polyphénolique brut et du miel de la plante médicinale *Inula viscosa* a été réalisée par une technique chimique en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) (Zeghad, 2009).

Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine en acceptant un atome avec une transformation de sa couleur violette foncée en jaune lors de sa réduction, la décoloration sera proportionnelle au nombre de protons captés peut être suivie par une lecture d'absorbance à 517nm, elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH, et fournit un moyen pour mesurer antioxydant de l'extrait étudié. (Gulçin et al, 2010)

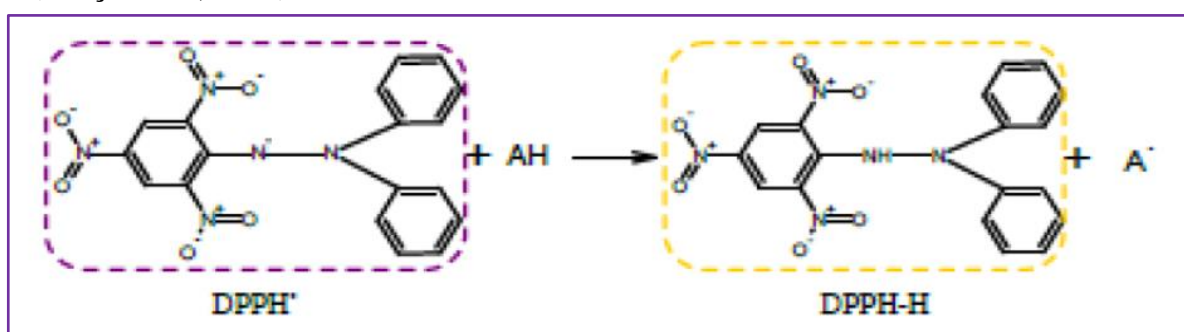


Figure 10: mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) (Michel, 2011)

➤ Mise en œuvre pratique :

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 10 mg de DPPH dans 250 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5C° et à l'obscurité). Un volume de 400µl de l'échantillon (à différentes concentrations) a été ajouté à 1600 µl de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité et incubé 30 min à l'obscurité.

Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le blanc (solution DPPH/méthanol)

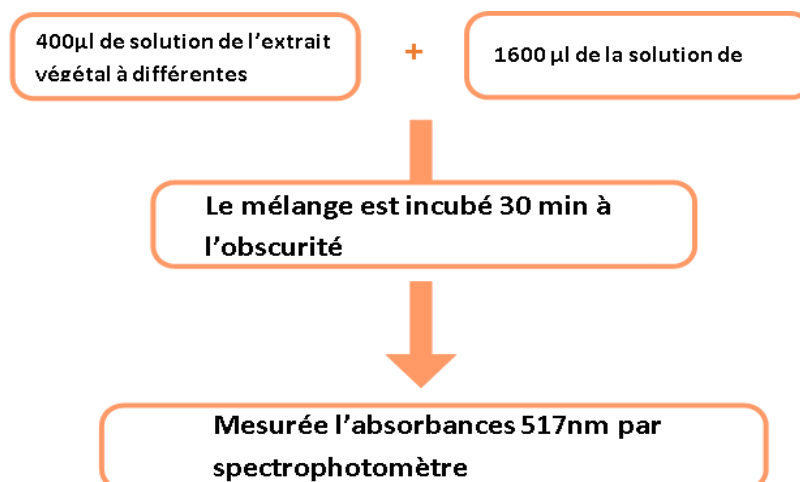


Figure 11: Test de Piégeage du radical libre DPPH•

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence. La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH• en solution dans le méthanol.

Le pourcentage d'activité antioxydante a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité antioxydante} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517nm.

Le paramètre EC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur).

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1 Rendement en extrait sec :

Après séchage des feuilles de la plante médicinale *Inula viscosa* à l'ombre et rendu en poudre, on a fait l'extraction par soxhlet dans l'éthanol (99.9%) de 50 g de la poudre qui a permis d'obtenir un résidu d'extrait brut de couleur brune foncé avec un rendement de (7,6%).

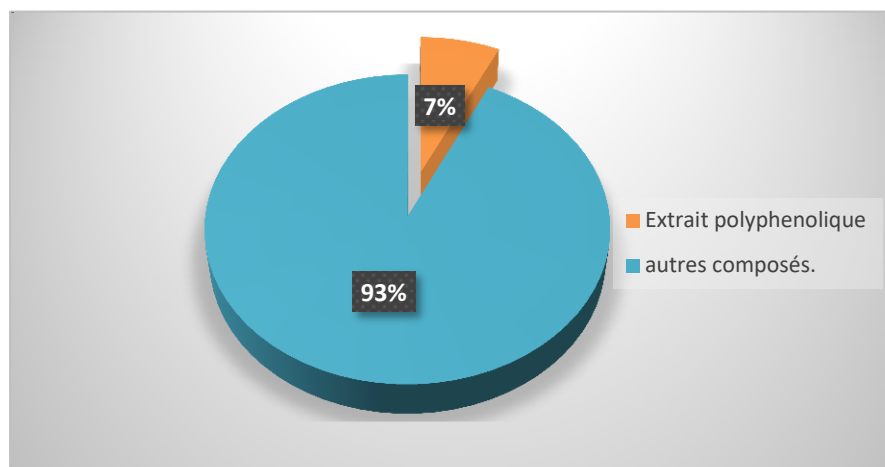


Figure 12: Rendement en extrait polyphénolique brute des feuilles de la plante *Inula viscosa*. (Originale).

L'analyse des résultats obtenus indique que la plante utilisée est de faible rendement en composés phénoliques (7,6%), il est inférieur aux rendements (23.90, 20.08 et 13.35%) trouvés par les chercheurs Marocains Chahmi *et al.* (2015), ayant travaillé sur la même espèce, originaire de trois régions marocaines. Cependant, le rendement est relatif, il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été faite. Autrement, cette différence peut être due à la nature de la matière végétale, ainsi qu'au mode de la récolte, le mode de stockage et le conditionnement (Lee *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2001).

V.2 Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes :

L'étude quantitative de l'extrait brut éthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* ainsi que de son miel au moyen des dosages spectrophotométriques permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes

✓ Polyphénols totaux :

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur totale des polyphénols a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg).

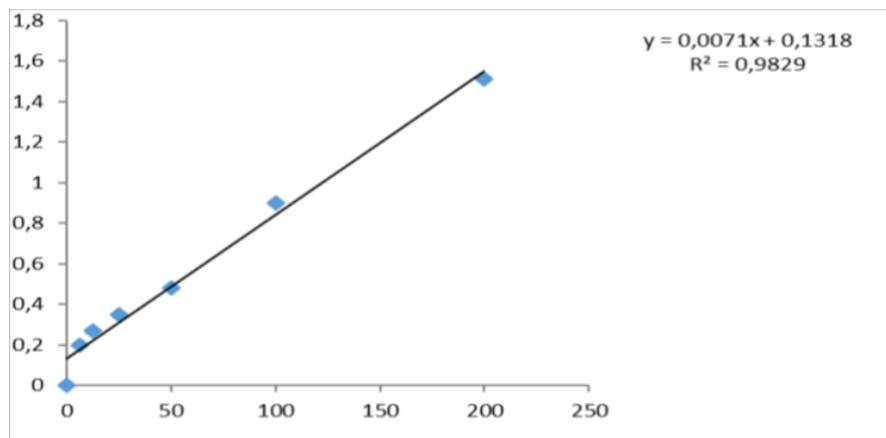


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

✓ **Flavonoïdes totaux :**

La quantité des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de quercétine et exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg).

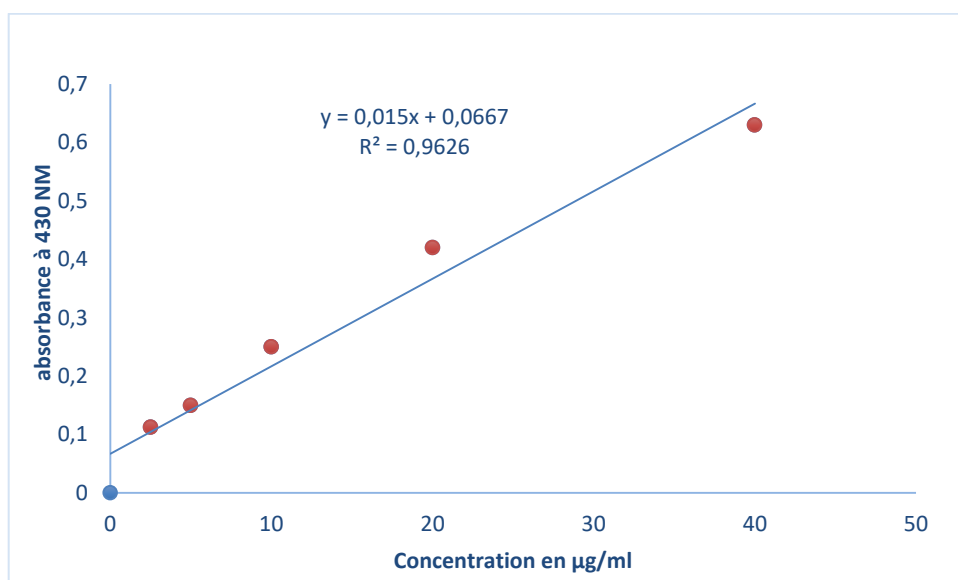


Figure 14: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats obtenus sont mentionnés dans les figures (**figure15**) et (**figure16**).

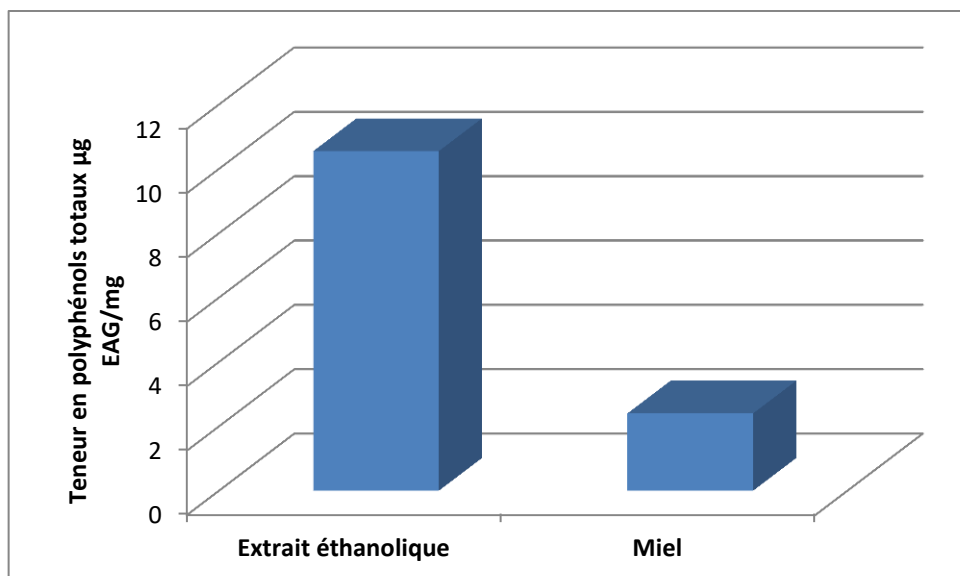


Figure15 : Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d'*Inula viscosa*

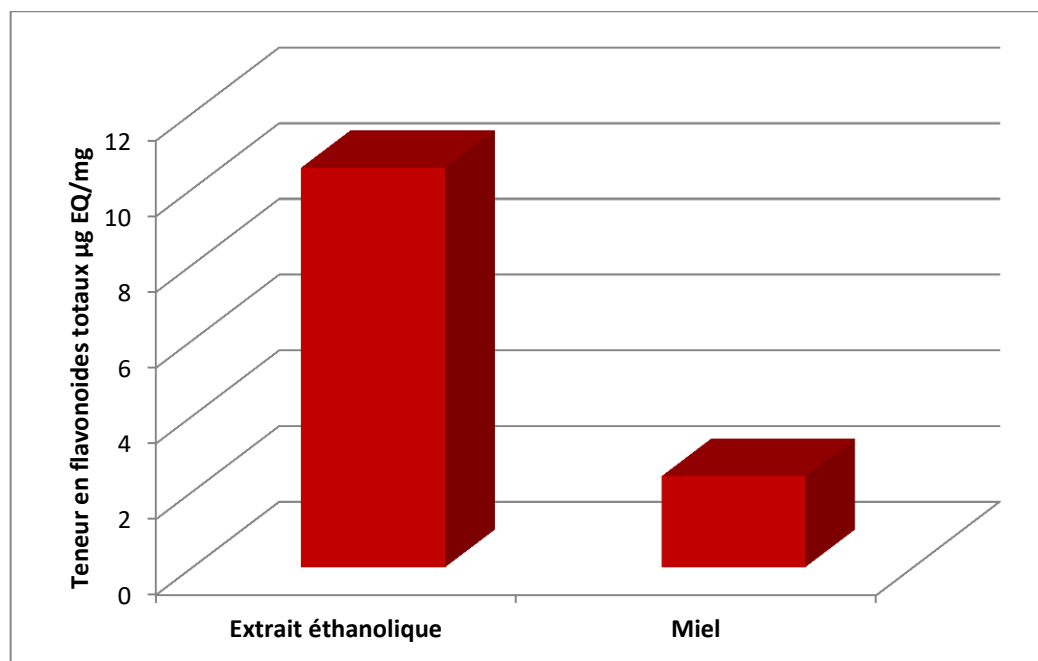


Figure16: Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d'*Inula viscosa*

D'après les résultats obtenus, on constate que la teneur en composé phénolique diffère d'un échantillon à un autre, cependant, l'extrait éthanolique a montré des teneurs plus ou moins élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes ($126,08 \pm 0,008 \mu\text{g EAG/mg}$ et $10,55 \pm 0,005 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement) par rapport à celles du miel qui sont de $9,69 \pm 0,01 \mu\text{g EAG/mg}$ et $2,4 \pm 0,03 \text{ EQ/mg}$ respectivement).

Nos résultats obtenus avec l'extrait éthanolique sont en accord avec ceux trouvés par

OULD MAMMAR et al en 2021, qui ont travaillé sur la même plante provient de la région de Tizi-Ouzou dont l'extrait aqueux obtenu par macération qui a montré une teneur en polyphénols de 120,83mg EAG/g.

Néanmoins, les teneurs en polyphénols enregistrées pour notre plante restent relativement inférieure aux résultats trouvés par **ABERKANE.K., et al. (2019)** sur l'extrait hydro-éthanolique obtenue par Soxhlet et macération de la plante *Inula viscosa* provient de la région de Tiks-Ighiden (Chorfa Bouira), qui ont enregistré des teneurs en polyphénols de 184,874 mg EAG/g et 156,030 mg EAG/g respectivement, et aussi par rapport aux résultats trouvés par **Chahmi (2015)** dont il a enregistré une teneur de 274.39 mg EAG/g en TTP et 39,902 mg EQ/g en flavonoïdes sur le même extrait éthanolique de la même plante médicinales.

Les variations des teneurs en poly phénols et en flavonoïdes de cette plante rapportés dans la littérature, peuvent s'expliquer par différents paramètres, comme la partie étudiée, le stade physiologique, la saison, le stress, la composition des milieux la méthode d'extraction ...etc. **DERRICHE et al. (2015)**

V.3 Activité anti-oxydante :

L'efficacité du miel et de l'extrait éthanolique brut de notre plante *Inula viscosa* et de l'acide ascorbique à piéger le radical DPPH•, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de chaque échantillon, est illustrée dans la (**figure17**)

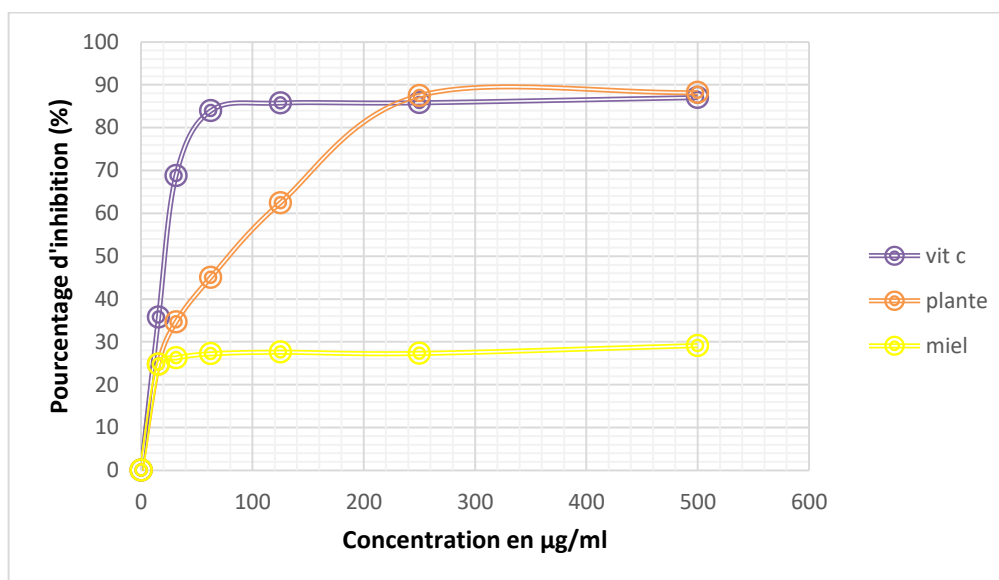


Figure 17: *Activité antiradicalaire du miel et de l'extrait méthanolique brute des feuille de la plante Inula viscosa et l'antioxydant standard acide ascorbique (chaque valeur représente la moyenne de deux essais).*

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité antiradicalaire révèlent que l'activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH de nos échantillons et aussi du standard, augmente progressivement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement presque totale du DPPH présent dans le milieu, en effet, l'extrait brut de la plante testée présente une importante capacité antiradicalaire meilleure que ceux des standards et du miel dont ce dernier présente la plus faible activité vis-à-vis du radical DPPH.

Notre extrait a montré un effet maximal de 90% envers le radical DPPH à une concentration de 500 µg/ml, suivi de l'acide ascorbique utilisé comme un antioxydant standard avec un effet maximal de 87% à la même concentration et en fin arrive le miel par un effet maximal faible de presque 30% (500 µg/ml).

Un autre paramètre est introduit pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire; la concentration effective à 50% (EC50 aussi appelée IC 50) qui a été déterminée pour chaque échantillon, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH•.

Les valeurs EC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires où l'abscisse est

Tableau 6: Valeurs des EC50 de l'extrait et du miel d'*Inula viscosa* ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

| <i>Antioxydant</i> | <i>Valeur d'IC50 (mg/ml)</i> |
|---------------------------------|------------------------------|
| Extrait éthanolique brut | 80±0,26 (µg/ml) |
| Miel naturel | — |
| Acide ascorbique | 20±0,09 (µg/ml) |

La valeur d'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition (I%) d'un composé. En effet, plus elle est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable.

L'extrait polyphénolique et l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence ont montré une activité antiradicalaire très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par leur valeur d'IC50 les plus basses obtenues expérimentalement qui sont respectivement de 80±0,26 (µg/ml) et 20±0,09 (µg/ml). Par ailleurs, l'absence d'une valeur d'IC50 pour le miel étudié indique clairement sa très faible capacité antioxydante.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage de DPPH effectuée par **MESSAOUDI. S., et al, (2015), sur** l'extrait éthanolique de la même plante de la région de El-Harrach a montré une inhibition de $IC_{50} = 17,67 \pm 2,08 \mu\text{g/ml}$ qui est meilleur par rapport à nos résultats.

Le pouvoir anti oxydant d'un agent est en relation directe avec la nature chimique et la teneur en polyphénols, il varie en fonction de la teneur en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbiques caroténoïdes, les sucres, acides aminés...etc.), en effet, les flavonoïdes ont toujours un énorme potentiel antioxydant en piégeant ou en décomposant diverses molécules impliquées dans la production des radicaux libres (oxygène, ions métalliques, peroxydes) et en complexant les métaux pro-oxydants **Suznjevic et al. (2011)**.

CONCLUSION

Les plantes médicinales sont des sources de principes actifs connus par leur propriété thérapeutique.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques du miel naturel et de l'extrait éthanolique des feuilles d'*Inula viscosa*, une plante médicinale méditerranéenne connue sous le nom de «mégamane», largement utilisée en médecine traditionnelle par diverses civilisations.

Cette étude est envisagée selon deux axes. Le premier est basé sur une extraction éthanolique par Soxhlet ainsi qu'une étude quantitative par des méthodes spectrophotométriques concernant les composés phénoliques, le second, sur l'évaluation de l'activité antioxydante de ces derniers par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH.

Les résultats ont prouvé que l'extrait contient une teneur en polyphénols et en flavonoïdes élevée ainsi qu'une activité antioxydante importante comparée à l'acide ascorbique, contrairement au miel qui présente une faible activité, de ce fait, une teneur en polyphénols et en flavonoïdes peut être importante.

L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de conclure que la plante *Inula viscosa* est une source potentielle des polyphénols et flavonoïdes possédant des propriétés antioxydantes d'origine naturelle qui justifient son utilisation traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections liées au stress oxydatif.

Ce travail mérite d'être complété, à l'avenir, on propose les perspectives suivantes:

- Utiliser d'autres solvants organiques pour optimiser le rendement d'extraction, le fractionnement et la purification des composés phénoliques ;
- Identifier les composés phénoliques par des techniques spectrométriques et chromatographiques : RMN, Spectrométrie de masse, HPLC, ...
- Évaluer d'autres activités biologiques d'*Inula viscosa* (antimicrobienne, anti-inflammatoire..).
- Évaluer l'activité antioxydante par différentes méthodes : ORAC (Oxygen Radical Absorbance), TRAP (Total-Radical trapping Antioxidant Parameter assay), CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity).
- Étudier *in vivo* de l'effet antioxydant d'*Inula viscosa*.

Références bibliographiques

ABERKANE.K., BOURENANE.R. (2019). Etude de l'effet de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER, option: Biochimie Appliquée. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA. p 30.

Adjélé, W., Salamatian. L. (2002-2003). Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre exemple : lacan,B.D.(2001) oxydants / antioxydants : un equilibre important .Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines DESS IST. Pp: 1-5.

Al Dissi, N., Salhab. K., Al-Hajj. H. (2001). Effect of *Inula viscosa* extracts on abortion and implantation in rats, Journal of Ethnopharmacology. 77(1). P (117-121).

Al Dissi, N. ;Salhab ,K.et Al-Hajj, H.(2001). Effect of *Inula viscosa* extracts on abortion and implantation in rats. Journal of Ethnopharmacology, 77 (1).p (117-121).

Al-Eisawi, D. (1998). Field guide to wild flowers in Jordan and neighbouring countries. Jordan Foundation Press, Amman, Jordan, 296 p.

Ameur, N. ; Ammara, N. et Hammache, Y.(2016). Etude des propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles d'Artemisia herba alba et de Rosmarinusofficinalis. Mémoire de Master en Analyse et Contrôle de la Qualité des Denrées Alimentaires. Université de Bordj Bou Arreridj., p (7-9).

Amin. S., Kaloo. Z., Singh. S., Altaf, T. (2013). Medicinal importance of Genus Inula-a review. International Journal of Current Research and Review, 05 (02):20- 26.

Ammar.E., Najjaa. H. (2009). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Allium roseum L. "Lazoul," A Wild Edible endemic species in north Africa; International journal of food properties vol 14 No 2.P 371-380.

Aruna P., Fred R. and Eugene M., (2003). Antioxidant Activity. Food chemistry, 44:701-705.

Aşkin Çelik, T., Aslantürk. Ö.S. (2010). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of Inula viscosa leaf extracts with Allium test. Journal of BioMed Research.

Atawodi. S.E. (2005). Antioxydant potential of African medicinal plants. African jornal Of biotechnology. 4(2) : 128-133.

AZOUZI. D., LAKSACI. L. (2014). Effet d'un traitement thermique sur les polyphénols du millet et leur pouvoir antioxydant. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en chimie de l'environnement. Université d'Adrar, p10.

Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie Moderne Rouiba, 46.

Bakkara. F., Benhammou. N., Panovska, T. (2008).Biological in activites of the essential oil and ethanolic extract of inulaviscosa from the tlemcen region of algeria advances in food sciences , 29 (3),.(3-139).

Barbetti, P., Chiappini. I., Fardella. G., Menghini. A. (1985). A new eudesmane acid from *Dittrichia Inula viscosa*. *PlantaMedica*, 51(5): 471.

Bartels. A. (1997).Guide des pentes du bassin méditerranéen .Ed Eugenulmer, paris ,172p.

Beckman. KB., Ames. BN. (1999). Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutat Res*; 424 : 51-8.

Beldjilali. F., Madouni. N. (2015). Evaluation de quelques activités biologiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Memoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplome de Master 2, option phytothérapie et Santé.université de Blida 1.

Bellakhdar, J. (1997). La Pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Saint –Etienne, Ed. Ibis Press., p (196-197).

Beloud. A. (2003). Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, p. 144-145.

Benamara. M. N., Mesroua. O. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante de quelques échantillons de miel algériens, Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme MASTER2, option Sciences Alimentaires, Université A.MIRA-Bejaia. P 16-19.

Benhammou, N., AtikBekkara. F.(2005). Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inulaviscosa*. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen., p (19).

Benhammou. N., AtikBekkara. F. (2005). Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inulaviscosa*. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen., p (19).

Benhamou, N., Bekkar, FA.,Panovska,TK.(2005). Les activités antioxydantes et antimicrobiennes du lentisque et atlantica pistacia extraits. *Afr. J pharm pharacol*, vol 2 :22-28.

Benkhiguel. O., et al. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Botanica Barcinonensia, 53: p. 191-216.

Benkhiguel. O., et al. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Botanica Barcinonensia, 53: p. 191-216. 3.

Bensakhria. A. (2015). Stress oxydatif : Toxicologie générale.

Benseguenitounsi. L. (2001), Etude in vitro de l'effet antibactérienne et antifongique de : *Inulaviscosa* –*lawsoniainermis* – *asphodelusmicrocarpus* – *aloevera* – *juniperusoxycerdus*. Mémoire de master en médecine vétérinaire université de Constantine, P(11).

Berger.M. (2006). Manipulation nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances nutritionnel manipulation of stress : Review of the évidence nutrition clinique et métabolisme, 20 :48-53.

Bessas. A. (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Thèse de fin d'étude d'ingénieria d'état en biologie, option controle de qualité et analyses. Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbes.

Bouaziz, H., Fki. Jemaih., AyadiM., Sayadi. S. (2008). Effect Of Storage On Refined AndHusk Olive Oils Composition: Stabilization By Addition Of Natural antioxidant from chemlali Olive Leaves.Food Chemistry.108:253-262.

Bruneton .J. (1999). Pharmacognosie, Photochimie -Plantes médicinales. 3 émeéd, Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp 484-540,555-558.

Can. Z., Yaldiz. O., Sahim. H., Turumtay. E.A., Silici. S., Kolayli. S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physic-chemical Properties, antiorycht capacities and phenolic profiles. Foud Chemistry, 180: 133-141.

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

Chaou. S. (2017). caractérisriquephytochimique de la partie àrienne de la plante médicinale *Inulaviscosa L.* (Asteraceae) de la région de djinnet (boumerdès) .mémoire de master en boichimie appliquée. Université de boumerdès, P (3-6).

- Chen. A., Pearson. M., Gray J. I. (1992).** Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, 43, 177-183.
- Clifford. M. (1999).** Appendix 1.A Nomenclature For Phenols With Special Reference To Teawashington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida.41 (5): 393-397.
- Defraigne. J.O., Degrune. F., Malherbe. C., Paquot. N., Pincemail. J., Voussure. S. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21: 66-75.
- Delattre. J., Théron. P., Bonnefont-Rousselot. D., (2005).** Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier, 281-309.
- 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, 148-17.
- Djeridane. M., Yousfi. M., Nadjema. B., Boutassouna. D., Stocher P., Vidal. N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. P97.
- Favier. A. (2003).** Le stress oxydant intérêt conception et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 7:108-115.
- Fournier. P. (1947).** Livre des plantes médicinales et vénéreuses de France, édition. LECHEVALIER :176-178.
- Garbari. F., pagni. A. (2007).** Glandular hairs of the ovary, a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy *Ann, Bot, Fennici* 44, P (1-7) .
- Gardès-Albert. M.B.R.D., Abedinzadeh, Z., Jore D, (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique*. 330 : 91-96.DEFR
- Gardès-Albert M., B.R.D., Abedinzadeh , Z., Jore. D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique*. 330 : 91-96.
- Georgetti. S.R., Casagrande. R., Di Mambro. V.M., Azolini ana ECS., Fonseca Maria J.V. (2003).** Evaluation of the antioxydant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharma. Sci.* 5(2) :5p.

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

Haoui. I., Derriche, R., MadaniL., Oukai. Z. (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* L. Aiton. *Arabian Journal of chemistry*, 21 (4), p (587-590).

Haoui. I.E., et al. (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*. 8(4): p. 587-590.

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

Ismail., hennaoui.A. (2015). le guide de la flore de Tlemcen.

Ito. N., Fukushima. S., Hagiwara. A., Shibata. M., Ogiso. T. (1983). Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 70, 343-352.

Kehrer. p. (2008). radicaux libres en tant que médiateur des blessures et des maladies tissulaires. *Examens critiques en toxicologie*, 23 : 21-48.

Khalil. E.A., AfifiF.U., Al-Hussaini. M. (2007). Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice *Musmusculus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 129.p (104-112).

Lahsissene. H., Kahouadji. A., Hseini. S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la region de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*.

Louni, D., 1994. Les forets algériennes. *Forets méditerranéenne*, 15(1), p (59-63).

Martinez. C. (1995). Oxygen free radicals and human disease *biochimie*, 77 : 147- 161.

Mensor. L.I., Menezes. F.S., Leitao. G.G., Reis. A.S., dos Santos. T., Coube. C.S., Leitao. S.G. (2001). Screening of Brazillian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical me hod. *Phytother. Res*, 15, 127-130

MESSAOUDI. S., LAHOUAZI. N. (2015). ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS ET DES HUILES ESSENTIELLES DE L'INULE VISQUEUSE, projet de fin d'étude d'ingéniorat , option Génie chimique. Ecole nationale polytechnique d'Alger.

Moon Joon-Kwan., Takayuki Shibamoto. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *University of California, Davis, California* 95616 .57 (5), pp 1655–1666.

- Morel. Y., Barouki. R., (1998).** Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci (Paris)* ; 14 : 713-21.
- Ngene. J., et al. (2015).** Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88(1): p. 8194–8210.
- P. Wetwitayaklung,T. Phaechamud2. (2011).** Antioxidant activities and phenolic content of Solamun and Capsicum sp. *RJPBCS*, 2(146) :146-154.
- Packer. L., Kraemer. K., Rimbach. G. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 17(10): 888-895.
- Panfil. G., Fratianni. A. Irano. M. (2003).** Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(14): 3940-3944.
- Pérez Alonso. M. et al. (1996),** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inulaviscosa* (L.) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(6): p. 349-351.
- Pérez-Alonso. M.J. et al ; (1996).** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 1996. 11(6): p. 349-351.
- Pr. LABBANI. (2021-2022).** Métabolisme secondaire. Cours L3, option Biochimie végétale. BPV-FSNV/UFMC.
- Rajamanickam Rajkumar .(2012) .**Topics on cervical cancer with an Advocacy for prevention.
- Robbins. S,P., Judje. T.(2003).** Essentialsof Organization alBehavior (VOL.7). Prentice Hall, Upper Saddle River.
- ROYER. M. (2013).** Etude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs. Thèse de doctorat, option Sciences Agronomiques. Université. Lorraine.
- Sanchez. M. (1994).** Implications des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anticancéreux. Thèse de fin d'étude pour l'obtenir le grade de docteur en pharmacie, option science technologie médecine, université Joseph Fourier-Grenoble 1.

- Santos. S.A., et al, (2016).** Changes in volatile compounds of *Dittrichia viscosa* caused by the attack of the gall-forming dipteran *Myopites stylatus*. *Industrial Crops and Products*. 87: p. 71-77.
- Smith. A. R., Shenvi. S. V., Widlansky. M.J., Suh, H., Hagen. T. M. (2004).** Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 11(9): 1135-1146.
- Strang. C. (2006).** Larousse médical. Ed Larousse.
- Suznjevic. D. Z., Pastor. F.T., Gorjanovic, S. Z. (2011).** Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85:1398–1403.
- Talib. W.H., M.H.A., Zarga., A.M. (2012).** Mahasneh, Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules*, 17(3): p. 3291-3303.
- Tang. S.Y., Halliwell. B. (2010).** Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies?. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(1): 1-5.
- Tebbaa, M. et al, (2011).** Short and efficient hemisynthesis of α -eudesmol and cryptomeridiol. *Tetrahedron letters*. 52(29): p. 3769-3771.
- Trimech. I. et al, (2014).** Evaluation of Anti-oxidant and Acetylcholinesterase Activity and Identification of Polyphenolics of the Invasive Weed *Dittrichia viscosa*. *Phytochemical analysis*. 25(5): p. 421-428.
- Vamecq. J., Vallée. L., Storme. L., Gelé. P., Bordet.R. (2012).** Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue* volume 18 n°1.
- Vernex-Lozet. C. (2011)** Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon.
- Vongsak. B., Bongsak. B., Sithisarn. P., Mangmool., Thongpraditchote. S., Wongkrajan. (2013).** Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringaoleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44: p. 566-571.

Zeghad. (2009) ; Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister Université de Constantine. p 17-19-41-69.

<https://mapcarta.com/fr/W253733052>

<https://tcktcktck.org/algeria/skikda/ouled-attia>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Climat-skikda.dz>

Références Électroniques