

République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche
scientifique

Université Constantine 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de mestre

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : biologie animale

Spécialité : Toxicologie et santé



**Thème : Evaluation de l'activité antioxydante et
anti inflammatoire de la plante médicinale
algérienne *Inula .viscosa***

Présenté et soutenu par :

Deghdak Hala

Le : 23/06/2014

Zaiter Rahma

Jury dévaluation :

- ✓ **PRESIDENT DU JURY** : Menade .A Professeur à L'UMCI
 - ✓ **Rapporteur** : Ihoual safia Maitre Assistante à L'UMCI
 - ✓ **Examineurs** : Amrani Amel Maitre conférence à L'UMCI
- Bouldjaje Radouane Maitre Assistant à L'UMCI**

Année universitaire

2013/2014

Remerciements

Nos vifs remerciements :

A notre encadreur Melle Ihoual.S Maître assistante a Université Mentouri Constantine à la faculté des sciences de la natur qui a dirigé

Nos travaux.

Et pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury

De cette thèse,

Monsieur MENADE. A, maître de conférences à l'Université Mentouri de Constantine,

A nos enseignants de notre spécialité toxicologie et santé

Monsieur LALAOUI .K, professeur à l'UniversitéMentouri de Constantine,

Monsieur Bouldjaje .R, maîtreassistant à l'Université Mentouri de Constantine,

Mme Amrani .A, maître assistante à l'Université Mentouri

De Constantine,

Mes remerciements s'adressent aussi à tout le presonnel du département de Biologie animale de l'Université de mentouri

Constantine,

A toutes perssones qui a participé de prés ou de loin,directement ou

Indirectement à la réalisation de ce travail.

ZaiterRahma

Deghdak Hala

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste de figure

Liste de tableau

Introduction générale

Chapitre I : revue bibliographique

I-Radicaux libres et stress oxydatif	(1)
I-1-Radicaux libres	(1)
I-2-Principale sources des ROS	(2)
I-2-1-Sources exogènes des ROS.....	(2)
I-2-2-Sources endogènes des ROS.....	(2)
I-3-Nature des radicaux libres	(4)
I-3-1-Espèces réactives dérivées de l'oxygène(ERO)	(4)
II-Stess oxydatif	(5)
II-1-Stress oxydant et ces conséquences biologiques	(6)
II-1-1-Les lipides	(7)
a-L'initiation	(8)
b-La propagation.....	(8)
c-La terminaison.....	(8)
II-1-2-Les proteines.....	(8)
II-1-3-Les acides nucléique	(8)
II-1-4-Systèmes de defenses antioxydants.....	(9)
a-Antioxydantsendogènes.....	(10)
b-Antioxydants d'origine végétale.....	(11)
b-1-Tocophérols	(11)
b-2-Caroténoïdes.....	(11)
III-Les composés phénoliques.....	(13)
III-1-Définition.....	(13)

III-2-Les produits naturels des naturels des plantes et leurs activité biologique....	(13)
a)Les flavonoïdes.....	(14)
b)Les tanins	(14)
c)Les terpènes	(14)
d)Lessaponosides.....	(15)
e)Les coumarines.....	(15)
f)Les alcaloïdes.....	(15)
III-3-Les effets biologiques des polyphénols.....	(15)
IV-Les flavonoïdes.....	(16)
IV-1-Définition.....	(16)
IV-2-Classification.....	(16)
a)Les flavonoïdeshétérosides	(18)
b)Lesflavonoïdes aglycones.....	(18)
IV-3-Biosynthèse des flavonoïdes.....	(19)
IV-4- Effets biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes... ..	(19)
IV-5- Activité antioxydante des flavonoïdes	(19)
IV-5-1- Piégeage direct de radicaux libres	(20)
IV.5.2. Chélation des ions métalliques.....	(21)
IV-5-3- Inhibition enzymatique.....	(22)
a-Inhibition de la xanthine oxydase.....	(22)
IV.6.Propriété des flavonoïdes.....	(23)
IV.6.1-Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système Immunitaire.....	(23)
IV-6-2- Propriétés antivirales et antibactériennes.....	(24)
IV-6-3- Propriétés pro-oxydantes des flavonoïdes.....	(25)
VI-6-4- D'AUTRES EFFETS BIOLOGIQUES	(26)

V- La plante médicinale <i>inulaviscosa</i>	(26)
V-1-Définition.....	(26)
V-2- Répartition géographique.....	(26)
V-3- Description de la plante.....	(26)
V-4- Place dans la systématique.....	(27)
V-5- Principaux constituants.....	(29)
V-6- Propriétés / indications.....	(29)
V-7-Formes d'utilisation et dosage.....	(29)
V-8- Utilisation en médecine traditionnelle.....	(29)
VI- L'inflammation.....	(30)
VI-1- L'inflammation aigue.....	(31)
VI-1-1- Phase vasculaire	(31)
VI-1-2- Phase cellulaire.....	(32)
VI-1-3- Phase de résolution.....	(33)
VI-2- L'inflammation chronique.....	(34)
VI-3- Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation	(35).
VI-3-1- Médiateurs solubles	(35)
VI-3-2- Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë.....	(35)
VI-4- Anti-inflammatoire.....	(36)
VI-4-1- Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	(36)
VI-4-2- Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	(37)
VI-4-3- Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	(38)
chapitreII : Matériel et Méthodes	
I-Matériel	(40)
I-1-Matériel biologique(Echantillonnage)	(40)
I-1-1-Matériel végétal	40)

I-1-2-Réactifs chimiques et instrumentations	(40)
II-Méthodes	(41)
II-1- Préparation de l'extrait végétale.....	(41)
II-1-1- Préparation de l'extrait total aqueux	(41)
II-2- Screening phytochimique de l'extrait végétale	(41)
II-2-1- Mise en évidence des tanins	(41)
II-2-2- Mise en évidence des saponosides	(41)
II-2-3- Mise en évidence des flavonoïde.....	(42)
II-2-4- Mise en évidence des composés réducteurs.....	(42)
II-2-5- Mise en évidence des alcaloïde.....	(42)
II-3- Dosage des flavonoïdes	(42)
II-4- Dosage des polyphénols totaux.....	(42)
II-5-DPPH (effet scavenger)	(43)
II-6-Activité Anti-inflammatoire	(44)

Chapitre III : Résultats et Discussion

I-Le rendement de l'extrait.....	(45)
II- Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques	(45)
III. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	(46)
III-1-Dosages des flavonoïdes	(47)
III-2-Dosage des composés phénoliques totaux.....	(49)
III-3-Tests,invitro,de l'activité antioxydante	(51)
III-3-1- Détermination de l'activité anti-radicalaire de l'extait aqueux par la méthode de DPPH (effet scavenger)	(51)
VI-Activité anti-inflammatoire in vitro	(54)
Conclusion	

Résumé

Reference Bibliographique

Liste des abréviations

BHA:Butylhydroxyanizole.

BHT:Butylhydroxytoluène.

BSA : albumine bovine serum.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

mg/g : milligramme par gramme.

g:gramme.

A : Absorption.

UV: Ultra-violet.

I%: pourcentage d'inhibition.

R : rendement.

% : pourcentage.

AGPI : Acide gras poly-insaturé.

.

EA :extrait aqueux.

EAIV : extrait aqueuxde *inulaviscosa*.

EQ :Equivalent de quercétine.

EAG :Equivalent d'acide gallique.

SD :Standard deviation.

CI50 : Concentration inhibitrice à 50%.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène ou oxygénées .

ROS :Reactiveoxygenspecies.

EAO: espèces réactives de l'oxygène.

NO :Monoxyded'azote.

SOD :Superoxyde dismutase

GPx:Glutathionperoxydase.

GSH :Glutathion réduit.

EQ:Equivalents de quercétine.

GSH-Px: Glutathioneperoxidase.

CAT:Catalase.

H2O2 : Eau Oxygénée ou peroxyde d'hydrogene.

LTB4 :Leukotriene B4.

ICAM :IntercellularAdhesionMolecule

ILs : Interleukines

LT :Leucotriène

PAMPs :Pathogen-associated molecular pattern

PKC :Protéine Kinase C

PMNs :Polymorphonucléairesneutrophiles

PRR :Pattern Recognition Receptors

TNF :Tumor Necrosis Factor

VCAM :Vascular Cell Adhesion Molecule

Liste des figures

Figure 1: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR.....	6
Figure 2: Les trois étapes de la peroxydation lipidique.....	7
Figure 3: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense.....	9
Figure 4: Balance radicaux libres / antioxydants.....	10
Figure 5: Effets biologiques des polyphénols.....	16
Figure 6: Réaction des flavonoïdes avec les EOR.....	20
Figure 7: Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.....	22
Figure 8: Aspect morphologique de la plante inulaviscosa.....	28
Figure 9: Formation du transsudat et d'exsudat.....	32
Figure 10: Processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins.....	34
Figure 11: Mécanisme d'action des AINS.....	37
Figure 12: Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.....	38
Figure 13: courbes d'étalonnage de la quercétine et rutine.....	47
Figure 14 : Teneur en flavonoïdes totaux de I.viscosa.....	48
Figure 15 : Courbe d'étallonnage de l'acide gallique.....	49
Figure 16 : Quantité des phénols totaux dans l'extraitaqueux d'acide galique.....	50
Figure 17 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	51
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de BHT.....	52
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de I.viscosa.....	52
Figure 20 : La concentration d'extrait I.viscosaet de BHT qui inhibent 50 % du radical DPPH	53
Figure 21 : Principauxéléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes.....	54

Liste des tableaux

- Tableau 1:** Les différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant.....
- Tableau 2:** Principales sources des ROS (endogène et exogène).....
- Tableau 3:** Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
- Tableau 4:** Principales classes des flavonoïdes.....
- Tableau 5 :** Quelques usages traditionnels du inula viscosa.....
- Tableau 6 :** Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires.....
- Tableau 7 :** Le rendement des extraits de I.viscosa.....
- Tableau 8 :** Analyse phytochimique préliminaire d'extrait aqueux de I.viscosa
- Tableau 9 :** Les concentrations des composés phénoliques....
- Tableau 10 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA à la concentration de 250µg/ml.....

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique[1]. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides produites au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres de l'oxygène (ROS) conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal conduit à l'apparition de souches bactériennes résistantes [2].

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation, et comme des anti-inflammatoires, et des anti-analgésiques.

Ce travail vise à étudier l'activité anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait brut de la Plante aromatique et médicinale *inula viscosa*, qui appartient respectivement à la famille des asteraceae. Elle est parmi la famille de plantes la plus utilisée comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

La sélection de cette plante est fondée sur les critères suivants : sont parmi les plus populaires plantes aromatiques et médicinales utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle, à côté du fait que leurs huiles essentielles sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutique et cosmétique, leur efficacité dans le traitement symptomatique de troubles de l'appareil digestif supérieur reconnue traditionnellement, elles représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Notre travail sera réparti en de trois parties :

INTRODUCTION GENERALE

- une partie relative à l'étude bibliographique, de l'introduction, les radicaux libres et stress oxydatif, la plante, des flavonoïdes, activité anti inflammatoire, et antioxydante des activités recherchées.
- Une 2^{ème} partie réservée à l'étude expérimentale présente des méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Une 3^{ème} partie présente la discussion et le résultat obtenu .

I.-Radicaux libres et Stress oxydatif

I-1. Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO)[3].

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eauoxygénée), etc.

Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anticancéreux, de même qu'à l'origine du vieillissement.

Leur structure comprend un électron célibataire qu'ils cherchent à appairer en attaquant et en endommageant les molécules voisines. L'appellation " dérivés réactifs de l'oxygène " n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), peroxyde nitrite (ONOO.) [4]. (Tableau 1).

Tableau 1 : Les différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress Oxydant[5].

Radicaux libres primaires et secondaires	Dérivés oxygénés non radicalaires
O₂^{o-} =Radical superoxyde.	1/2O₂ = Oxygène singulet.
HO₂^o =Radical perhydroxyle.	H₂O₂ = Peroxyde d'hydrogène.
OH =Radical hydroxyle.	ONOOH =Nitroperoxyde.
RO₂^o =Radical peroxyde.	ONOO- = peroxyde nitrite.
RO^o =Radical alkoxyde.	
ROOH =Hydroperoxyde Organique.	
NO^o = monoxyde d'azote.	

I-2 Principales sources des ROS

Les ROS sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.

I-2-1 Sources exogènes des ROS

Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants.

Une large variété de xenobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se

forment comme un des produits de leur métabolisme [6].

I-2-2 Sources endogènes des ROS

Dans la cellule, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants:
[7]

- Les NAD(P)H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent

$O_2^{\bullet-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.

- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement

$O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2), lors de l'ischémie/reperfusion.

- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autres des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation. De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries par voie enzymatique en molécule non toxique comme H_2O . Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner

naissance comme indiquée précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle.

HO•. Ces ROS mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL (Valko *et al.*, 2007)[6].(Tableau2).

Tableau 2 : Principales sources des ROS (endogènes et exogène) [8,9].

Sources endogènes	Sources exogènes
NADPH oxydases.	Tabagisme.
Chaînes respiratoire mitochondriale.	Cytokines pro inflammatoires.
Xanthine oxydases.	Chémothérapie.
Atherogénèse	Radiations ionisantes.
Lipo-oxygénases.	Radiations Ultrat Violet.
Phagocytes.	Toxiques environnementaux.
Inflammation	Champs électriques.
Etat d'ischémie –reperfusion	Xénobiotiques prooxydants.

I-3- Nature des radicaux libres

I-3-1 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède deux électrons célibataires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme. [10]

– l'anion superoxyde : $\text{O}_2^{\bullet -}$ La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

– le radical hydroxyle : OH^{\bullet} . Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique [11].



– Oxygène singulet: $^1\text{O}_2$

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante

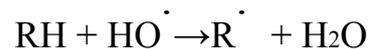


II. Stress oxydatif

Le stress oxydatif apparaît donc quand un déséquilibre se forme dans la balance anti/ pro-oxydants. C'est seulement à ce moment que les ERO vont exercer leur action délétère sur l'organisme. Les radicaux libres sont responsables de dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone [3].

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales.

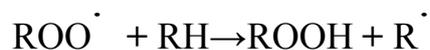
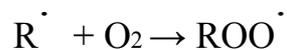
Une phase **d'initiation** qui peut être due à l'intervention d'un radical hydroxyle HO \cdot qui arrache un atome d'hydrogène en position



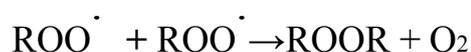
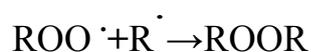
L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que par les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

Une phase de **propagation** : en présence d'oxygène, il se forme un radical peroxyde (ROO \cdot)

qui déstabilise une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturés AGPI et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical, assurant ainsi la propagation du processus :



Une phase de **terminaison**, où se recombinent différents radicaux formés pour aboutir à des composés stables :



II.1. Stress oxydant et ces conséquences biologiques

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydantes, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes [11]. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) [13, 11, 14]. L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique [8, 15] (**Figure1**)

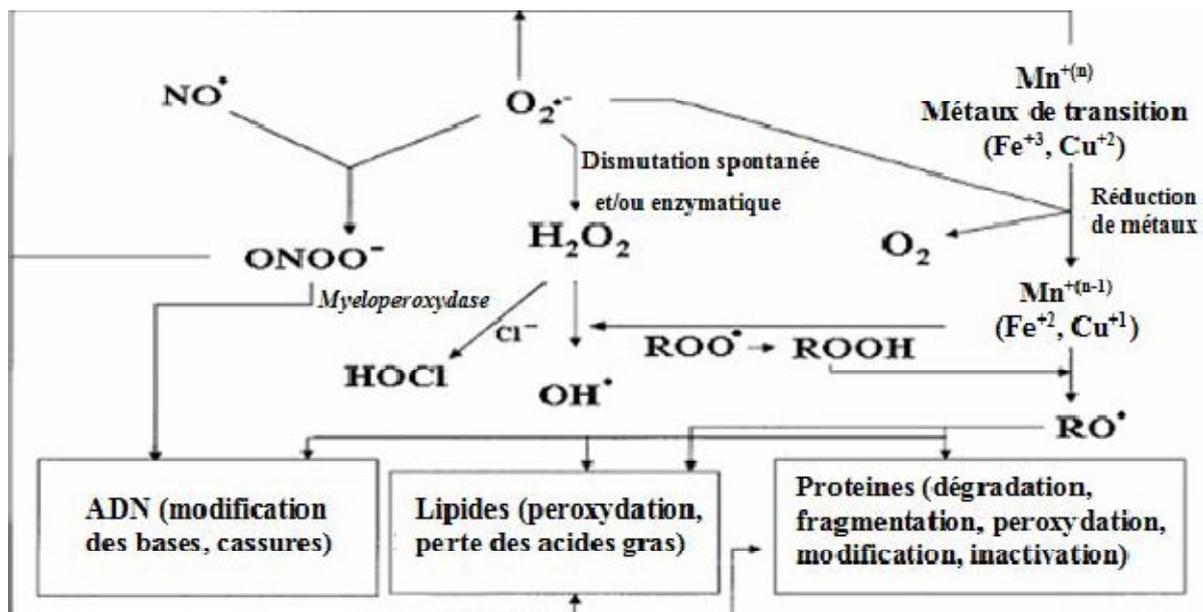


Figure1. Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR [17].

II.1.1. Les lipides

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont la cible privilégiée des EOR en raison de leurs hydrogènes bis allyliques facilement oxydables. Comme ces derniers sont les lipides majeurs des membranes cellulaires et des lipoprotéines, on comprend leurs vulnérabilités particulières. Les produits d'oxydation formés peuvent participer en tant que second messager à la régulation de fonctions métaboliques, de l'expression des gènes et de la prolifération cellulaire. Ils peuvent aussi, et surtout, se comporter comme des substances toxiques responsable des dysfonctionnements et d'altérations cellulaires (perte d'acides gras polyinsaturés, diminution de la fluidité membranaire, modification de l'activité des enzymes et des récepteurs membranaires, libération du matériel à partir du compartiment subcellulaire [18, 19]. La peroxydation lipidique, se déroule en trois phases suivantes: (illustrées par la **figure2**).

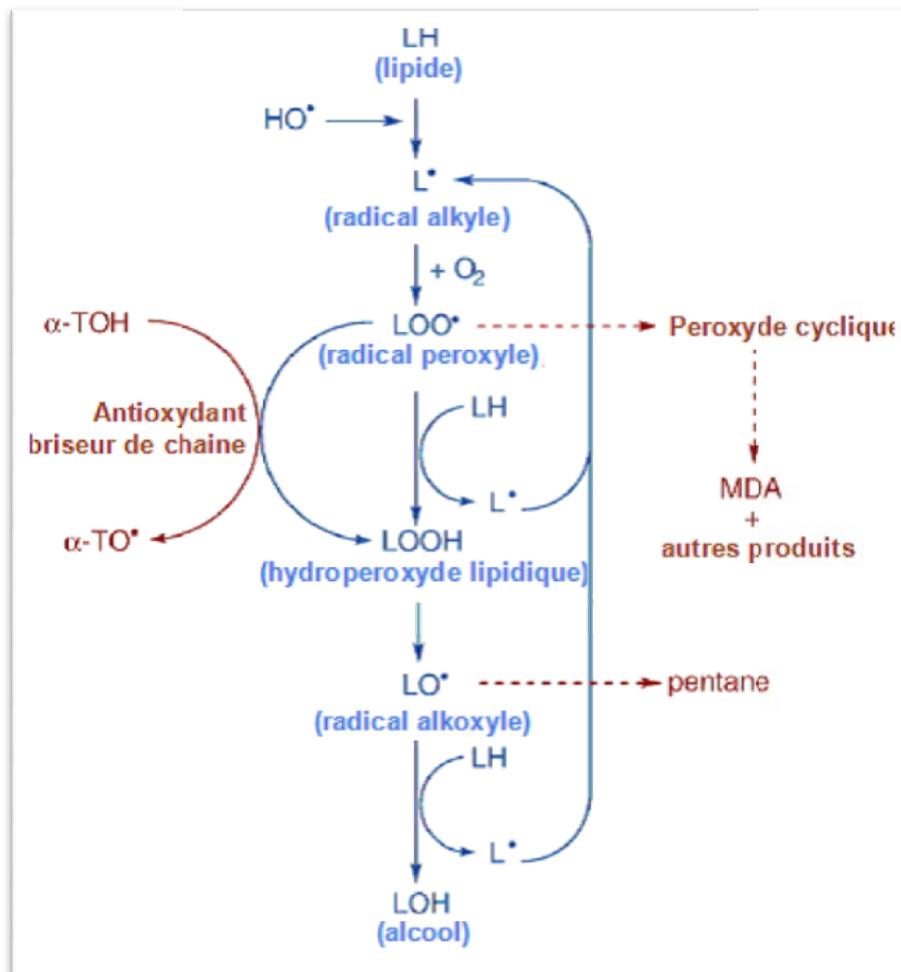


Figure2. Les trois étapes de la peroxydation lipidique [21].

- a) l'initiation:** l'attaque par un radical $\text{OH}\cdot$ du groupement méthylène présent entre deux doubles liaisons d'acide gras polyinsaturés produit un radical carboné $\text{R}\cdot$ ($\text{OH}\cdot$ enlève un atome d'hydrogène du CH_2 puis les doubles liaisons subissent un réarrangement moléculaire conduisant à la formation de diènes conjugués), en présence d' O_2 le radical carboné est transformé en radical peroxy $\text{RO}\cdot_2$ [20].
- b) la propagation:** le radical $\text{RO}\cdot_2$ enlève un hydrogène à un nouvel AGPI voisin qui à son tour produira un radical $\text{R}\cdot$ puis un radical $\text{RO}\cdot_2$, une réaction en chaîne s'installe. En présence de métaux de transitions, les hydroperoxydes formés peuvent subir un clivage au niveau des liaisons C-C pour donner naissance à divers produits de décompositions ; le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal représentant les produits les plus toxiques de la peroxydation lipidique [20,19].
- c) la terminaison:** cette phase consiste à former des composés stables issus de la rencontre entre deux espèces radicalaires ou le plus souvent par la réaction d'un radical avec une molécule antioxydante dite 'briseur de chaîne' [17].

II.1.2. Les protéines

Les acides aminés des protéines sont la cible des EOR, soit au niveau de leur chaîne latérale, avec formation de produits d'oxydations, soit au niveau de la liaison peptidique, entraînant la fragmentation de la chaîne [22]. Si la majorité des acides aminés peuvent être oxydés par les EOR, les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine, tryptophane) sont les plus sensibles. L'oxydation des acides aminés génère des groupements hydroxyles et carbonyles sur les protéines mais peut également induire des modifications structurales plus importantes comme des réticulations intra ou intermoléculaires, ce qui affecte leurs fonctionnements, antigénicités et leurs activités, [20, 19, 6]. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont alors dirigées vers la dégradation protéolytique au niveau du protéasome [23].

II.1.3. Les acides nucléiques

Les bases puriques, pyrimidiques et le désoxyribose sont la cible privilégiée des EOR, ils sont alors transformés en produits de fragmentations et en bases oxydées, [24]. Les EOR ont une grande affinité de réaction avec certaines bases constitutives de l'ADN. La guanine est ainsi facilement transformée en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN qui peuvent, elles aussi, être victimes de

l'action des radicaux libres. Si ces systèmes de protection sont débordés ou défectueux, les altérations du matériel génétique s'accumuleront au sein de l'ADN représentant ainsi la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement [19].

II.1.4. Systèmes de défenses antioxydants

Le maintien d'un niveau non cytotoxique des EOR est assuré par des systèmes d'antioxydants.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [25]. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (**Figure3**). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques [26].

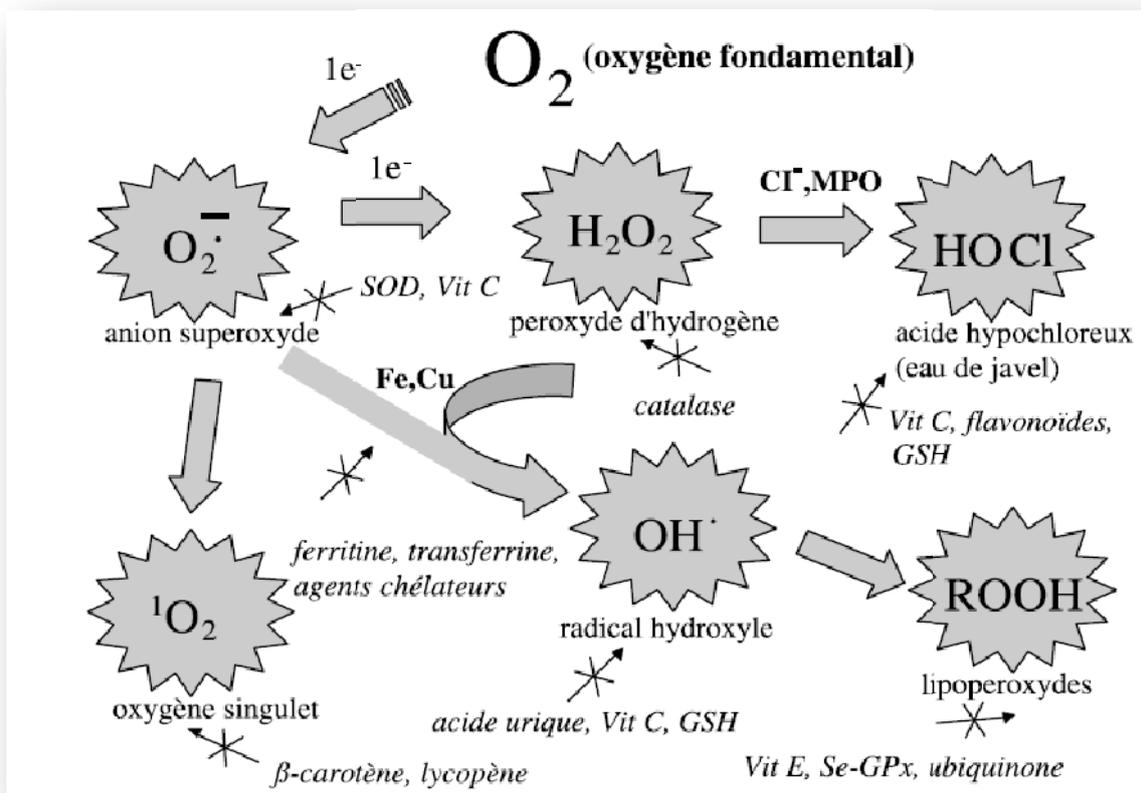


Figure3.Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants [13].

a. Antioxydants endogènes

Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en systèmes antioxydants enzymatiques (figure4) :

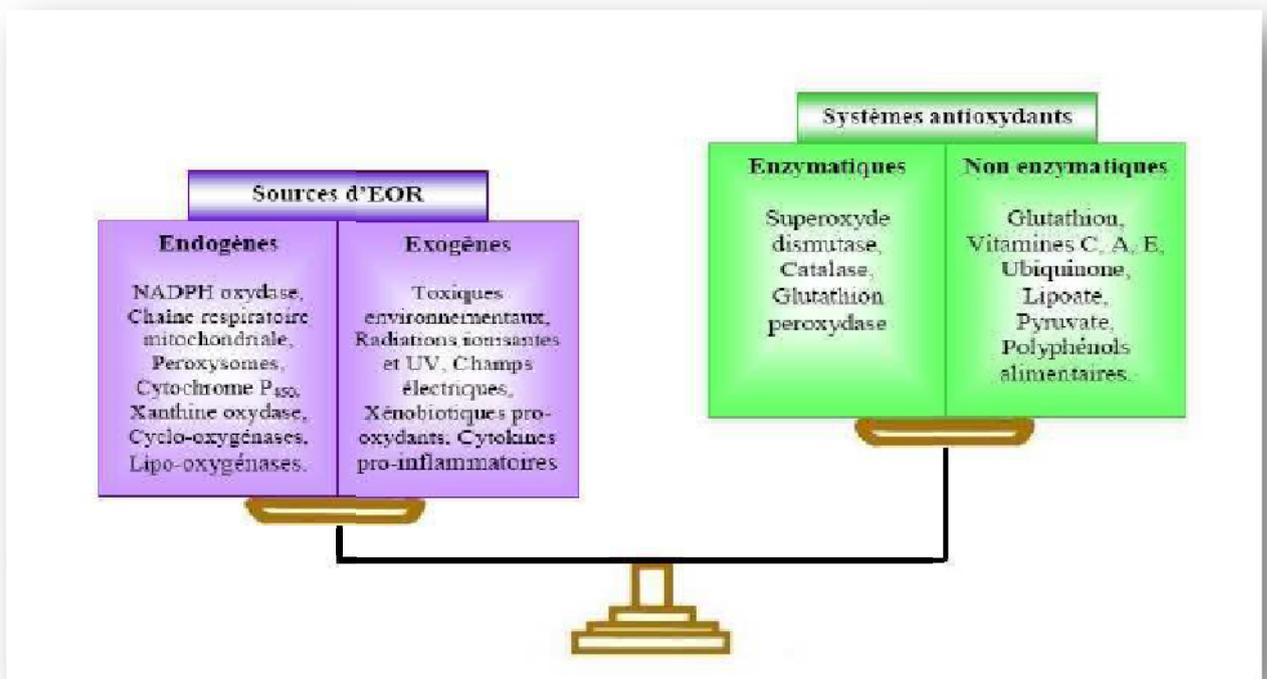


Figure4: Balance radicaux libres /antioxydants [27]

Un système de défense primaire: composé d'enzymes et de substances anti oxydantes

- la superoxydedismutase (SOD) :diminue la durée de vie de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$.
- La catalase : transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau.
- La glutathion peroxydase (GPx) : détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques.
- Les molécules piègeurs : le glutathion (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols, biquinone, ...etc.

Un système de défense secondaire : composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipases, des

ADN endonuclease et ligase, des macroxyprotéinases.

b. Antioxydant d'origine végétale

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont: les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols. [12]

b.1. Tocophérols :

La grande stabilité des huiles végétales, dans les conditions d'oxydation, est due à la présence d'untaux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous quatre formes isométriques: α , β , δ et γ . Les tocophérols protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI). Ont signalé qu'une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI. [12].

Exemple de tocophérol**La vitamine E**

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, capable de s'insérer dans les membranes cellulaires : globules rouges, cellules endothéliales, cellules musculaires, neurones (c'est le seul antioxydant du système nerveux central).

b.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont, avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. A ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une trentaine de caroténoïdes et de leurs métabolites a été identifiée dans le plasma et les tissus humains, mais 6 caroténoïdes sont majoritaires : le β -carotène, le lycopène, la lutéine, la β -cryptoxanthine, l' α - Carotène, et la zéaxanthine. [12] Les sources alimentaires de ces antioxydants naturelles sont présentées dans le (tableau3)

Tableau 3: Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées [14]

Principaux nutriments Antioxydants	Sources Alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, Kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produit laitiers Brocoli, chou œufs, poissons, viandes

III. Les composés phénoliques

III.1. Définition

Les composants phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides.

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois); et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits.

Les principales classes des composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide ferulique, acide chlorogénique...), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines. Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires, antimicrobiens. [28]

III.2. Les produits naturels des plantes et leurs activités biologiques

Les plantes produisent un grand nombre de composés, Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Ils se sont surtout illustrés en thérapeutique et dépassent actuellement 100 000 substances identifiées. Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites primaires et les métabolites secondaires [29].

- **Les métabolites primaires :** ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal, se retrouvent dans toutes les espèces;
- **Les métabolites secondaires:** ils ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures [29]. Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques, microorganismes pathogènes...etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre. Ils sont différents dans les différentes espèces [30]. Parmi eux : les terpènes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes et les coumarines [29].

a. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols[31]. Qui peuvent être rencontrés dans une large variété de fruits et de légumes consommés quotidiennement par l'être humain. En plus de leur rôle dans la pigmentation des végétaux, certains de ces composés présentent des activités biologiques d'intérêts, telles que des actions anti-antioxydantes [32], anti-inflammatoires [29, 31, 32], antihypertenseurs, anti-influenza [29], antifongiques et antivirales [29,33].

b. Les tannins

Les tannins sont des polyphénols polaires [34] très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones [35], existent dans presque chaque partie de la plante: feuilles, fruits et racines, ils sont caractérisés par leur capacité antioxydante et leur propriété thérapeutique [34] ; Les tannins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections [36]. Ils sont divisés en deux groupes:

- Tannins hydrolysables qui sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique (acide gallique ou acide hexahydroxydiphénique (HHDP));
- Tannins condensés qui sont formés par la condensation des unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols[31].

c. Les terpènes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté, Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles.

Des études faites sur des animaux ont montré que certaines classe des terpènes telle que : le bêta sitostérol, comme son glucoside, possèdent des propriétés anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique et immuno-modulatrice [29]. Aussi, les terpènes sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur, conservateur) et l'industrie du parfum [37].

d. Les saponosides

Mot latin « sapon », l'herbe à savon [38] Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins. De nature amphiphile, ces molécules sont connues pour leur propriété tensio-active ou encore leur capacité à lyser les globules rouges (hémolyse) [39].

e. Les coumarines

Se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes [36].

f. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes [38]. Ils ont une nature basique, contenant de l'azote [29] et sont pharmacologiquement actifs, ils sont utilisés aussi comme antalgiques majeurs (morphine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante/stimulante (curare, caféine), comme anticancéreux (vinblastine, vincristine). ils sont aussi de forts agents antimicrobiens [40].

III.3. Effets biologiques des polyphénols

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique [41]. De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardiovasculaires [42]. Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques [43]. Ces composés montrent des activités antioxydantes [44,45], anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux [46], anti-allergènes, vasodilatateurs [47,48] (figure 5).

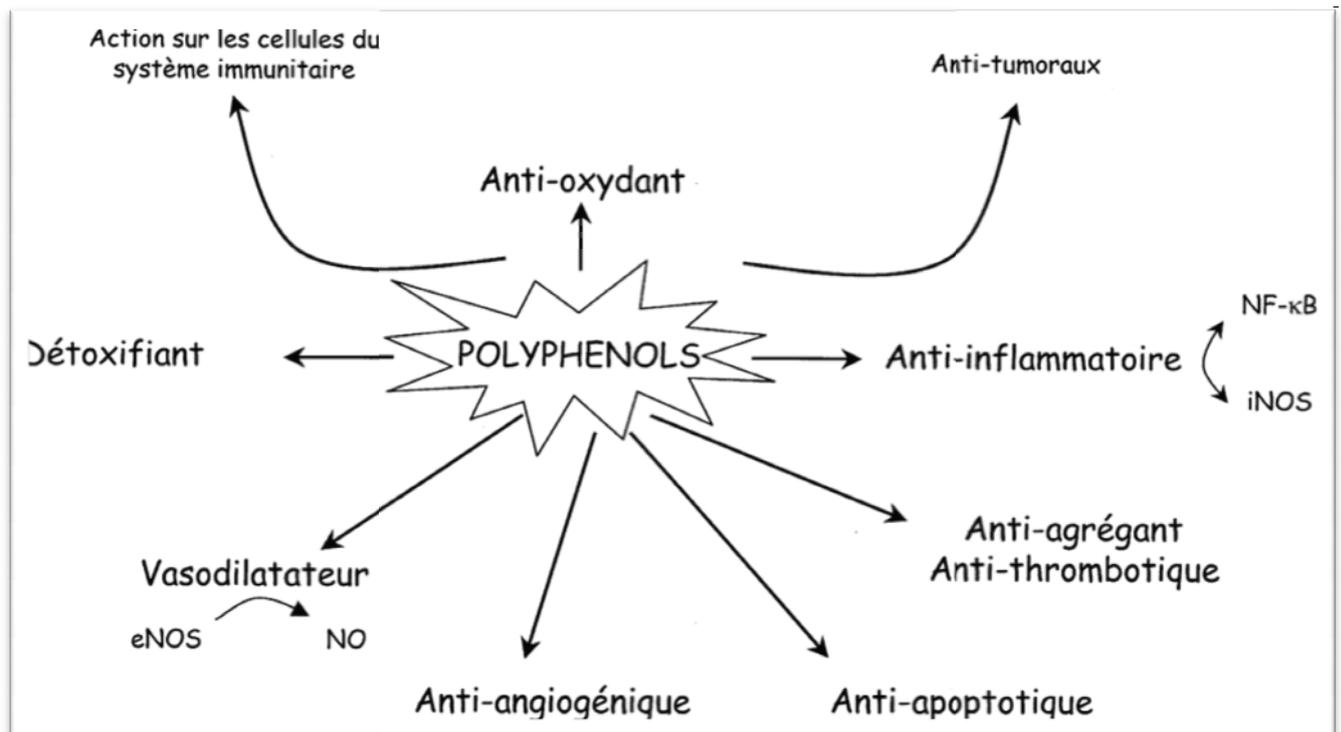


Figure5: Effets biologiques des polyphénols [49].

IV. Les flavonoïdes

IV.1. Définition

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ces molécules sont considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides.

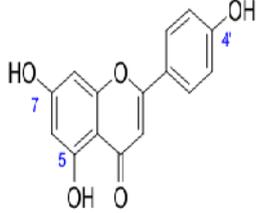
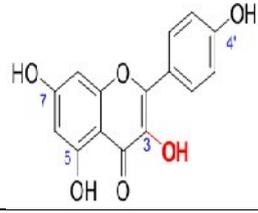
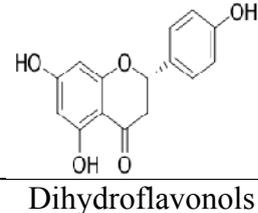
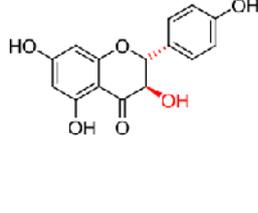
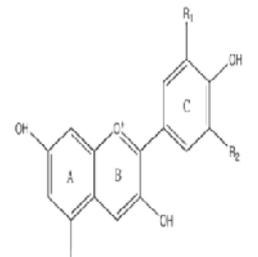
Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyran. Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3 -C6), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygénés, qui désigne la lettre C.

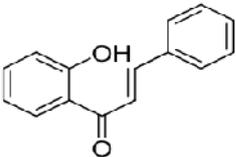
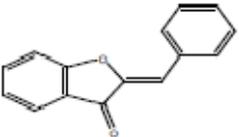
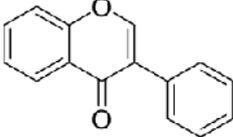
IV.2. Classification

La classe des flavonoïdes comporte à elle seule plus de 4000 substances qui ont été isolées et identifiées à partir des milliers des plante, qu'endivise en plusieurs catégories: Les flavones, les flavonols et les dihydroflavonols, les isoflavonoïdes, les biflavonoïdes, les flavanones, les

flavanols, les flavanediols(leucocyanidines), les anthocyanidines, les chalcones et les dihydrochalcones, les aurones [50]. (tableau4)

Tableau4 :Principales classes des flavonoïdes

Les flavonoïdes	Exemples	Aliments	Les caractéristiques
<p><i>Flavones</i></p> 	L'apigénine Lutéoline ,Chryisine	Peau des fruits ,persil, et céleri .	Les Flavones et Flavonols sont caractérisés par la présence d'une double liaison entre C2 et C3, et l'existence d'hydroxyle en C3 dans les flavonols .
<p>Flavonols</p> 	Quercétine Kaempférol Myricétine	Poireau, radis, thé noir, oignon, pomme, olive et brocolis	
<p>Flavanones</p> 	Naringénine, Eriodictyol Taxifoline	Poireau, radis, thé noir, oignon, pomme, olive, brocolis, et vin rouge	Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison entre C2 et C3et par la présence de centre d'asymétrie ,La seule différence entre ces deux classes est la présence d'hydroxyle en C3 dans les dihydroflavonols
<p>Dihydroflavonols</p> 	Dihydrokaempfér-ol	Fruits de genre <i>citrus</i>	
<p>Anthocyanidols</p> 	Cyanidol, malvidol et apigénidol	Raisin, fraise et framboise	Caractérisées par l'engagement de l'OH en C3 dans une liaison hétérosidique.

<p>Chalcones</p> 	<p>Butéine et phlorétine</p>	<p>/</p>	<p>Les chalcones, dépourvues de l'hétérocycle central, sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné, cétonique α,β-insaturé .</p>
<p>Aurones</p> 	<p>Sulfurétine</p>	<p>/</p>	<p>Caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumarone .</p>
<p>Isoflavones</p> 	<p>Genisteine, Daidzeine</p>	<p>Légumineuses (soja, et pois chiches verts), et graines de tourne sol</p>	<p>Caractérisés par leur Variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils ont un effet préventif sur les cancers du sein .</p>

a. Flavonoïdes hétérosides: la partie osidique peut être mono, di ou trisaccharidique. En général, les hétérosides sont hydrosolubles et solubles dans les alcools, bon nombre d'entre eux ont une hydrosolubilité plutôt faible (rutoside, hespéroside).

b. Les flavonoïdes aglycones : Les génines sont, pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. Les lipophiles des tissus superficiels des feuilles (ou des frondes) sont directement extraits par des solvants moyennement polaires (dichlorométhane) ; il faut ensuite les séparer des cires et des graisses extraites simultanément (on peut certes laver d'abord à l'hexane, mais la sélectivité de ce solvant n'est pas absolue) [51].

s tanins vrais. [52]

IV.3. Biosynthèse des flavonoïdes Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzymeA (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p -coumarate puis en p -coumaroyl-CoA. Le p -coumaroylCoA et les 3 malonylCoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone. Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes [53]. Des étapes ultérieures surtout de glycosylation et acylation amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle elles se trouvent *in vivo* [54].

IV.4. Effets biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes

Étant de distribution ubiquitaire au sein des végétaux, les flavonoïdes pourraient être à l'origine des vertus préventifs et curatifs de plusieurs plantes médicinales. La principale propriété, initialement attribuée aux flavonoïdes, est d'être vasculoprotectrices et venotoniques, car ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance [55]. Actuellement, les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmacologiques comme entre autres des effets, antiviraux, antimicrobiens et anticancéreux [56,57] antiallergiques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-tumoraux et hépatoprotecteurs [58]. Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels.

IV.5. Activité antioxydante des flavonoïdes

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à : (i) leur capacité de piéger directement les RL, (ii) de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des EOR *via* les réactions de Fenton et Haber-Weiss, (iii) d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, (iv) d'activer les enzymes antioxydantes et (v) de réduire les radicaux α -tocophéryl [59,60,61].

IV.5.1. Piégeage direct de radicaux libres

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. À cause de leur faible potentiel redox (62Javanovic *et al.*,1994), les flavonoïdes (Flav-OH) sont thermo dynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R[•]) comme le superoxyde, le radical peroxyde, le radical alkoxyde et le OH[•] par transfert d'hydrogène (**Figure6**).

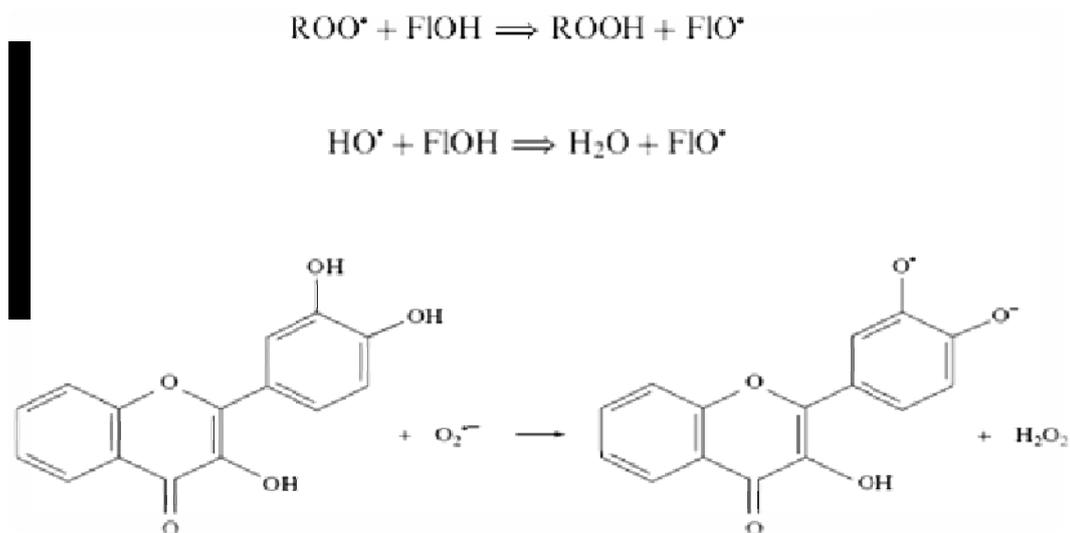
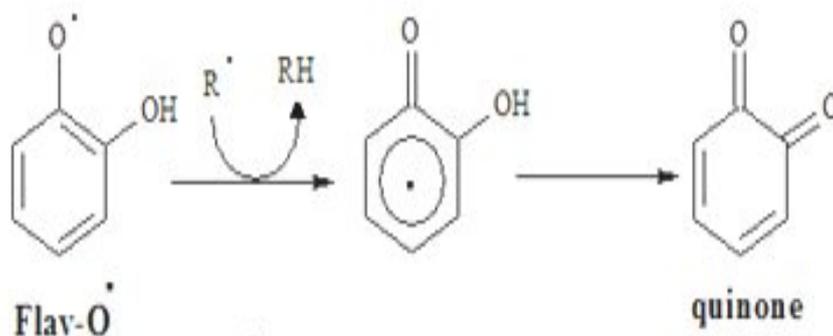


Figure6 : Réaction des flavonoïdes avec les EOR [63]

Le radical aroxyde résultant (Fl-O[•]) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinonestable.



En outre, le radical aroxyde peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction qui peut prendre place en présence de taux élevés de métaux de transition, est responsable de l'effet prooxydant indésirable des flavonoïdes [64]. La capacité des

flavonoïdes d'agir comme antioxydants dépend donc, non seulement du potentiel redox du couple Flav- O[•]/Flav-OH, mais aussi de la réactivité du radical aroxyde. [65]

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur pouvoir piègeur (scavenger) des radicaux libres [62,66,65,67,68 , 57]. Ces travaux ont pu conclure que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les critères suivants:

i) La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons (la substitution de ces groupements hydroxyles sur le cycle B par des groupements méthoxyles altère le potentiel redox et donc la capacité radical scavenger des flavonoides) [69 ,70]

ii) La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C augmente la capacité radical scavenger des flavonoides [70].

iii) La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3 augmente également la capacité radical scavenger des flavonoides (la substitution du groupement 3-OH conduit à l'augmentation de l'angle de torsion et une perte de la coplanarité conduisant ainsi à la réduction de l'activité antioxydante) [70].

IV.5.2. Chélation des ions métalliques

Les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^{2+}) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, Fe pour la catalase, Cu pour la ceruloplasmine, Cu et Zn pour la superoxydedismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon les réactions de Fenton et Haber Weiss [71]. Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques [72 ,73]. Les études menées par Van Acker et ses collaborateurs (1996) sur la chélation du fer par certains flavonoïdes, ont pu ressortir les sites potentiels pour la chélation des ions métalliques (**Figure 7**); (i) un noyau catéchol sur le cycle B, (ii) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C [68,61].

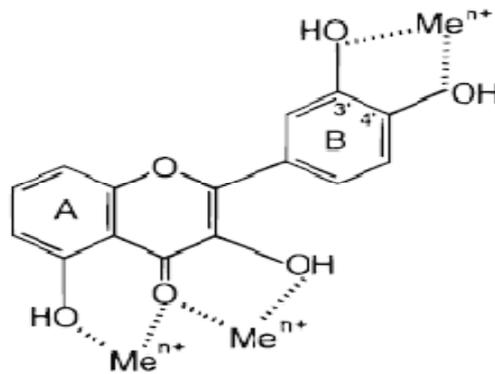


Figure7 :Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques [68].

IV.5.3. Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du $O_2^{\bullet -}$ et d'autres EOR, la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipooxygénase, monooxygénase microsomal, et la glutathion S-Transférase. Les flavonoïdes ayant une moitié catéchol sur le cycle B inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase [68 ,74].

a. Inhibition de la xanthine oxydase

Depuis 1968, quand McCord et Fridovich ont démontré la participation de la xanthine oxydase(XO) dans la génération des radicaux libres, l'intérêt aux nouvelles propriétés de cette enzyme s'est considérablement accru. Son rôle dans la génération des EOR dans plusieurs pathologies a été largement étudié. L'allopurinol est le seul inhibiteur de la XO utilisé en clinique pour contrôler la production de l'acide urique dans la goutte et l'hyperuricémie [75,76]. Cependant, la toxicité sévère de l'allopurinol a été rapportée [77]. Pour cela, la recherche de nouveaux inhibiteurs dépourvus d'effets indésirables est toujours d'actualité. Les composés phénoliques d'origine naturelle, comme les flavonoïdes, semblent être des inhibiteurs prometteurs de la xanthine oxydase. Plusieurs études sur des polyphénols naturels (surtout les flavonoïdes), sous forme de plantes entières ou extraits purifiés, ont montré qu'ils peuvent être une source importante d'inhibiteurs de la XO.

IV.6. Propriété des flavonoïdes

IV.6.1- Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système immunitaire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires [78, 79, 80] et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [81]. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [82, 83]. Cet effet des flavonoïdes sur les lymphocytes B ou T peut être variable: en effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. L'explication est encore inconnue.

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) [82, 83]. Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [84]. La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles ce qui va promouvoir l'inflammation. D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [85]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [86]. Les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. L'hispiduline, une méthoxyflavone, diminue par exemple l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMPc à la suite d'une inhibition des phosphodiésterases [87]. En effet, l'accumulation. D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [85]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [86]. Les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. L'hispiduline, une méthoxyflavone, diminue par exemple l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMPc à la suite d'une inhibition des phosphodiésterases [87]. En effet, l'accumulation d'AMPc plaquettaire semble interférer avec la mobilisation de Ca^{2+} impliqué dans l'agrégation de ces cellules [87].

IV.6.2. Propriétés antivirales et antibactériennes

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral:

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte,
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales,
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours [88]. *Mucsi et Pragaien 1985* [89], ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées. Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase. Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. Il a été étudié l'impact des flavonoïdes sur la «reverse transcriptase». Les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de cette enzyme [90].

Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale [91,92]. Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte [93]. Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1. Cette enzyme permet l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte. Des études structure-activité devraient permettre de montrer quelles sont les molécules les plus actives [94]. En fait, il semble que l'intérêt éventuel des flavonoïdes ou d'autres micro-nutriments pour combattre le virus du SIDA n'ait pas été suffisamment approfondi. Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase [95]. Une étude a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un *staphylococcus*

Aureus [96]. Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer :

- l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes,
- la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer,
- l'inhibition du métabolisme microbien [97].

IV.6.3. Propriétés pro-oxydantes des flavonoïdes : [98 ,99]

Nous avons décrit précédemment des propriétés antioxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. Ainsi, ils seraient capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) aboutissant à la formation de radicaux hydroxyles par réaction entre Fe^{2+} et $2 H_2 O$.

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. ainsi, le potentiel prooxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes. L'activité pro-oxydante est le résultat de la capacité à réduire les métaux comme le Fe^{3+} pour donner Fe^{2+} qui réagira avec O_2 ou $2 H_2 O$ avec génération d'initiateurs de l'oxydation.

Les attaques oxydatives des tissus *in vivo* induites par la réaction de Fenton sont les sources biochimiques principales du radical hydroxyle. Cette réaction est dépendante de la présence de fer non lié aux protéines.

C'est pourquoi la clarification du rôle des métaux réduits actifs et des agents réducteurs comme catalyseurs de l'oxydation de molécules *in vivo* est intéressante.

Il semblerait que les composés phénoliques réduisent le Fe^{3+} et catalysent la formation de radical hydroxyle qui est responsable des dommages oxydatifs du désoxyribose, des bases de l'ADN et d'altérations diverses de l'ADN. Désormais, il s'agit d'éliminer les propriétés pro-oxydantes des composés phénoliques doués d'une activité antioxydante tout en gardant cette dernière intacte, c'est pourquoi d'autres études doivent être menées à ce sujet.

VI.6.4.D'AUTRES EFFETS BIOLOGIQUES

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [100]. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques. [101,102]. Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires [103].

V. La plante médicinale *inula viscosa*

V.1. Définition

L'inule visqueuse est une plante vivace de la famille des Asteraceae. Le nom inule vient de l'ancien nom de l'année. Probablement par déformation du grec hélénion. L'inule visqueuse est fréquente en région méditerranéenne. Ou elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne. Elle affectionne les anciennes cultures (friches), les décombres, les bords des routes et des chemins, formant d'abondantes touffes vertes à capitules jaunes, elle est considérée comme assez envahissante. Elle est l'un des quelques représentants du genre *Dittrichia*. [104].

V.2. Répartition géographique :

Fréquente en région méditerranéenne, où elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne. Elle affectionne les anciennes cultures, les décombres, les bords des routes et des chemins, formant d'abondantes touffes vertes à capitules jaunes ; elle est considérée comme assez envahissante.

Elle est l'un des rares représentants du genre *Dittrichia*, auquel appartient aussi *Dittrichia graveolens* (l'inule fétide). Elle est connue au Maroc sous les noms vernaculaires : Terhalâ,

Mâgrâmân, Bagramane ou encore Amagramane.

V.3. Description de la plante :

L'inule visqueuse est une plante toute glanduleuse -visqueuse, à odeur agréable (selon certains, désagréable pour d'autres), ligneuse à sa base (forte racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long). La feuille est glanduleuse, crénelée, embrassante (formant deux petites oreillettes à sa base). La plante peut atteindre 120 cm. Les fleurs jaunes à forte odeur sont rayonnantes, regroupées en inflorescences en longues grappes pyramidales. On les observe en septembre-octobre. L'inule visqueuse (*Dittrichia viscosa*) et l'inule fétide (*Dittrichia graveolens*)

peuvent être confondues à l'état végétatif mais l'Inule fétide a les feuilles non-dentées. L'inule visqueuse est une plante vivace. Lors de sa floraison, la moitié inférieure de sa tige se lignifie.

V.4. Place dans la systématique : *Inula viscosa* (*Dittrichia viscosa*) (figure 8)

(Quezel p., Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris, 590-593.)

Règne:*plantae*

Division:*Magnoliophyta* (plantes à fleurs)

Classe:*Magnoliopsida*

Ordre:*Asterales*

Famille:*Asteraceae*

Sous-famille: *Asteroideae*

Genre:*Dittrichia*

Espèce:*Inula*



A. LA FLEURE



B. la partie aérienne



C. CAPITULE



D. LA FEUILLE

Figure8 :Aspect morphologique de la plante inula viscosa

V.5. Principaux constituants

32 composants ;dont l'huile essentielle qui comprend 5% fokienol (11,8%), T-muurorol (7,9%), (E)-nérolidol (5,5%) et-cadinene (5,0%). -Cadinene (5,0%). Les huiles essentielles ont été testés contre *Helicobacter pylori* et *Listeria monocytogenes* et en a complètement inhibé la croissance à 88,80 à 133,20 µg.ml⁻¹. Les résultats montrent que l'utilisation de l'huile essentielle de *D.viscosa* peut être utilisée dans le traitement de l'ulcère gastrique. (D. Silva, E. Denham, L. Faleiro, G. Miguel, C. Cavaleiro, L. Salgueiro). -inuline Les travaux d'Abu Zarga et al [105,106] ont décrit la présence en plus de 14 composés identifiés dans l'huile essentielle d'*I.viscosa* de la région jordanien, 6 nouveaux sesquiterpeniques de type eudesmane. Ces composés sont l'acide 3b-hydroxyilicique, l'acide 3a-hydroxy-epiilicique, l'acide 2a-hydroxyilicique, l'acide 9b-hydroxy-2-oxoisocostique, l'acide 1b-hydroxyilicique et l'acide 2bhydroxyilicique

V.6. Propriétés / indications

Elle est utilisée pour ses activités : anti- inflammatoires [107], antidiabétiques [108], antipyrétiques, Antiseptiques [109],

-pour traiter les troubles gastroduodénaux [110].

- effet antiulcérogénique a été attribué à la composition flavonique d'*Inula.viscosa* [111] .

- L'extrait flavononique et l'huile essentielle d'*Inulaviscosam* ont une activité antifongique contre les dermatophytes et *Candida spp* [112].

-Anticatharrale

-Digestive

V.7. Formes d'utilisation et dosage:

L'huile essentielle uniquement en usage externe

. Contre-indications- Toxicité: l'huile essentielle est à éviter auprès des femmes enceintes, allaitantes et les enfants de moins de 2 ans.

V.8. Utilisation en médecine traditionnelle

I.Viscosa très utilisée dans les médications traditionnelle [113]. Elle est utilisée pour ses activités : anti- inflammatoires [114] , anti diabétique [115], anti pyrétiques , et anti septiques [116] (Tableau 5).

Tableau5. Quelques usages traditionnels du *Inula Viscosa* :

La plante	Pays	Partie utilisée	Voie	Usages	Réf.
<i>I. Viscosa</i>	Espagne	Plante entière	Cutanée	Traitement de gastroduodéal	[117,118,119,120 121 ,122]
	Maroc			Traitement de l’HTA.	
	Algérie	Parties aériennes		Antifongique, Antibactérienne , etAnti diabétique	

VI. L’inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu’une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l’élimination d’éventuels pathogènes et au retour à l’homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entrainer une infection secondaire ou même un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l’arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète. Mal contrôlée, l’inflammation peut s’étendre au reste del’organisme via la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entrainant dans les cas les plus graves le décès [123;124].

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut-être divisé en deux branches inter connectées. L’immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs pattern Recognition Receptors (PRR) et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d’origine microbienne, les pathogen-associated Moléculaire pattern (PAMPs), ou endogènes, les alarmines [125] conduire à l’initiation de la cascade inflammatoire et à l’activation d’une réponse immunitaire acquise ou adaptative [124 ;126] La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes :

la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé[124](En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

VI.1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante [127].

L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

VI.1.1. Phase vasculaire

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. Ces plaquettes vont alors s'activer. Très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. Le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines(diapedese) [Figure9]. Ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'oedème.

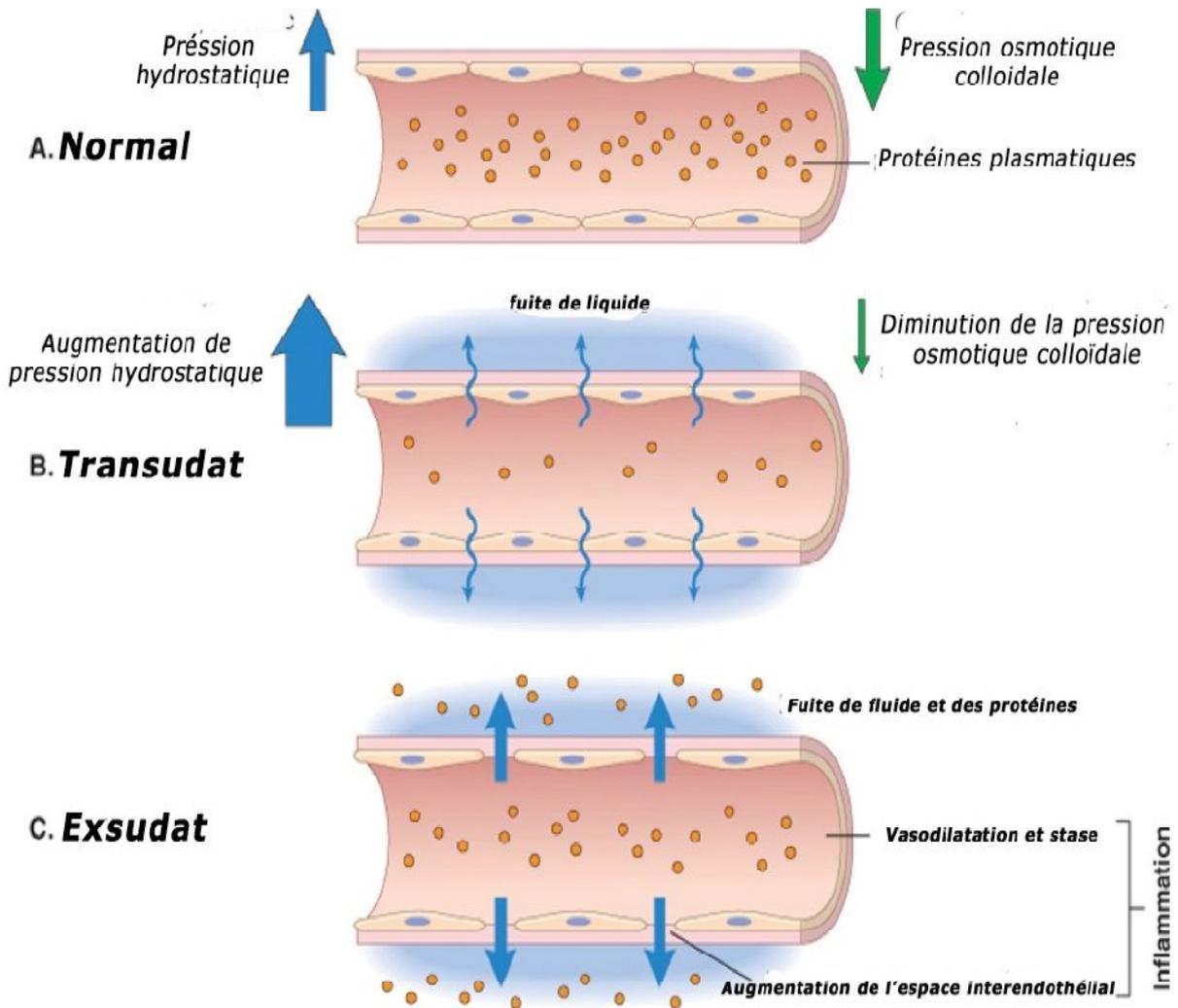


Figure9:Formation du transsudat et d'exsudat(128)

VI.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la déterction grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène [123]. L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4 (Figure10). Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur

la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents [127].

I.1.3. Phase de résolution

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages.

Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre [129].

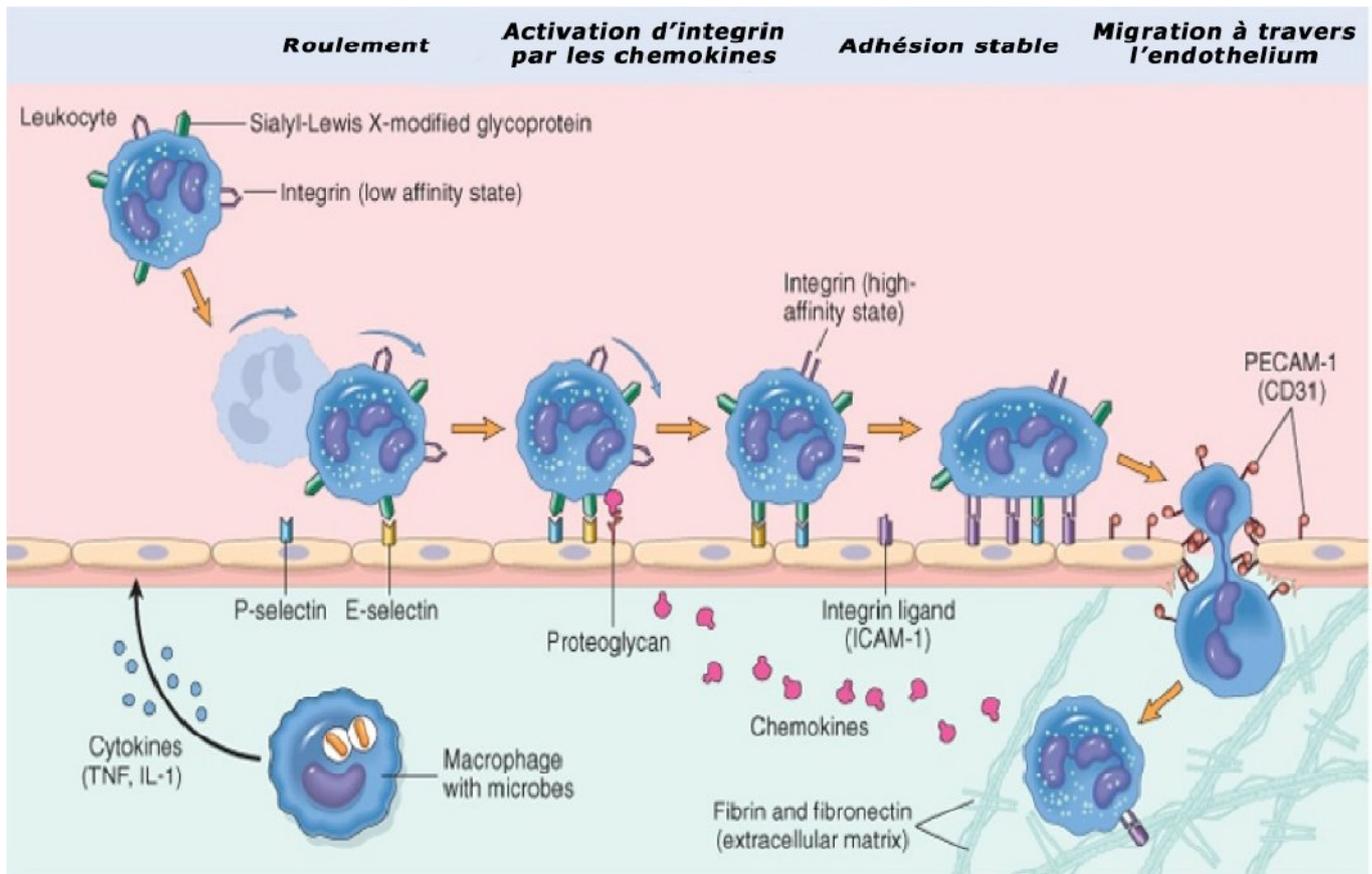


Figure 10 : Processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins [128]

VI.2. L'inflammation chronique :

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la beryllose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire [127]. Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorisent l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le

compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent [130;127].

VI.3. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation

VI.3.1. Médiateurs solubles

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux [128,127]

Les protéases plasmatiques comprennent le complément (activation par la voie classique ou par la voie alterne en fonction des stimuli, produisant des fragments chémoattractants tels que le C3a et le C5a), les kinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires [127]. Le tableau 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

VI.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les PMNs qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales [128]. Dans le site inflammatoire, ces polynucléaires neutrophiles s'activent et dégranulent, en réponse à différents médiateurs solubles déjà évoqués (C5a, leucotriènes, facteurs d'activation des plaquettes, histamine), augmentent leur production d'enzymes oxydatives et leur capacité à phagocytoser sous l'effet des leucotriènes, de facteurs de croissance hémopoïétiques tels que le G-CSF et le GM-CSF, du Tumor Necrosis Factor (TNF) et de l'Interleukine [127].

D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs proinflammatoires.

Les éosinophiles sont également recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée. Les plaquettes contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine.

Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines proinflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PMNs par la production d'immunoglobulines par les B-lymphocytes [128,127].

VI.4. Anti-inflammatoires

VI.4.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation (Figure 11). Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (Nicolas *et al.*, 2001). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux

sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères [131]

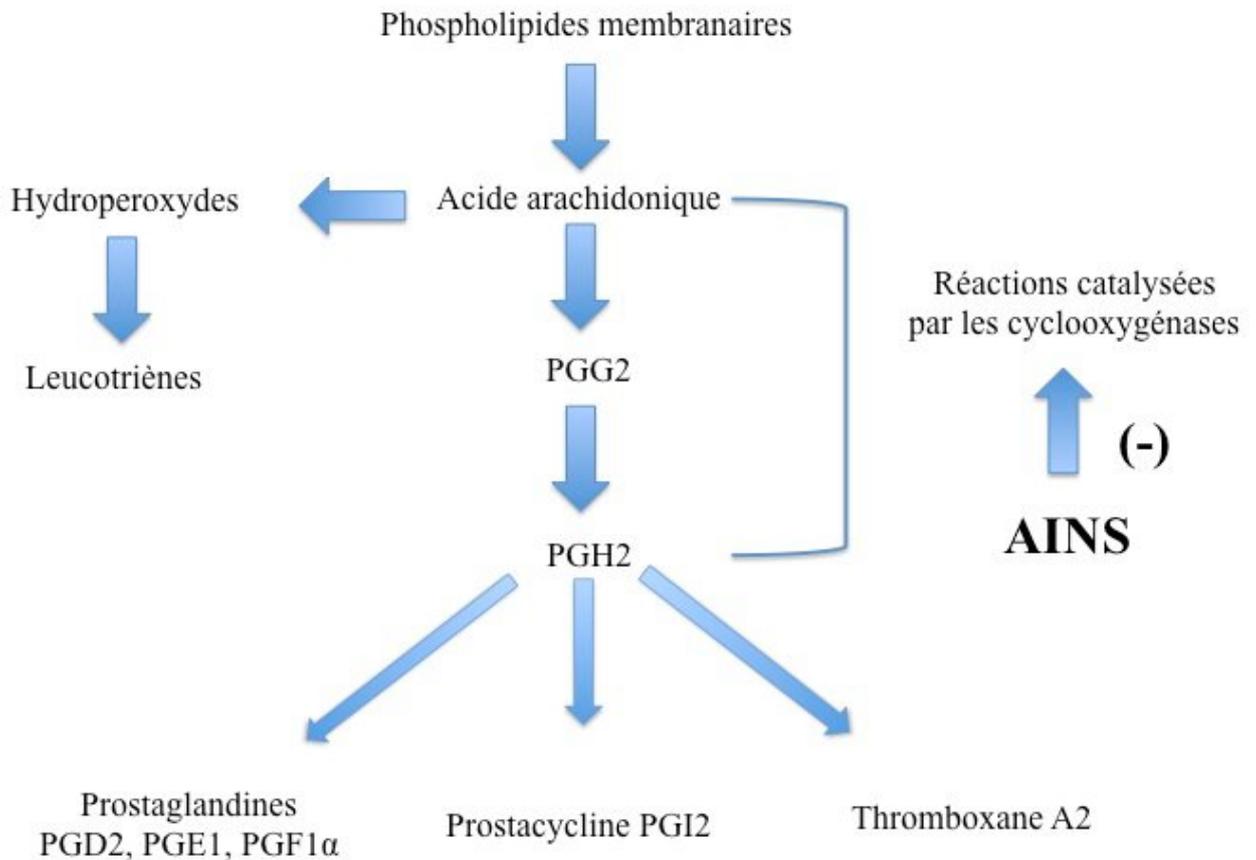


Figure11 :mécanisme d'action des AINS [132]

VI.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. Après quoi, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN

Inula.viscosa interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé

transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (Figure12).

Le mécanisme opposé est appelé transrépression. Le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2[133]

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire [134]

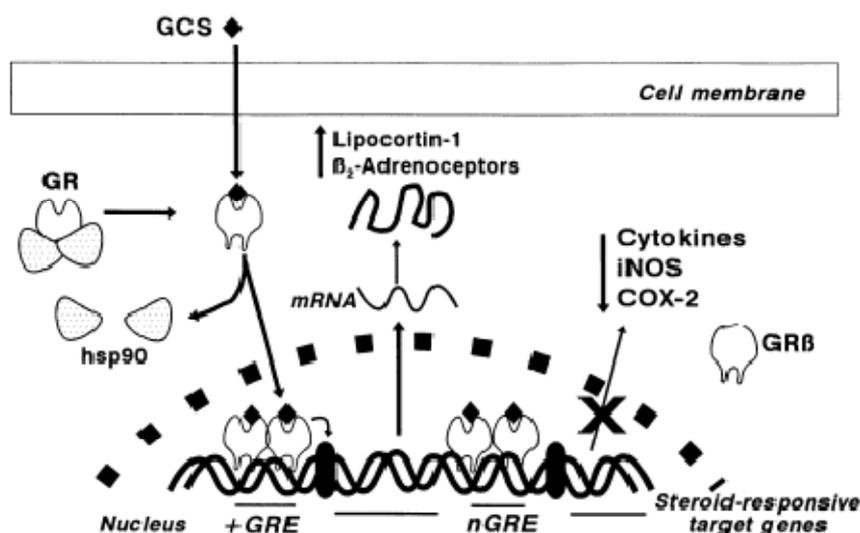


Figure12 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes [133].

VI.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le (tableau 6).

Tableau6. Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (133Barnes, 1998).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, névralgie, maux de tête, fièvre
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Oedèmes, états grippaux, mal de Dents
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales

MATERIEL ET METHODES

Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de la plante médicinale : *Inulaviscosa* .La partie expérimentale est réalisée au laboratoire de biologie animal, Université Mentouri -Constantine-.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique (Echantillonnage)

I.1.1. Matériel végétal

l'espèce sélectionnée « *I. viscosa* » a été récoltée dans une espace université mentouri en Mars 2014 et identifiée par Mr. Lounisyoucefkhodja au laboratoire d'obtention des Biologie Appliqué MAB, à l'université Mentouri Constantine. La partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de la plante récoltée a ensuite été séchée à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil pendant 1 mois. Enfin, la plante sèche a été pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

I.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations

plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ce produits : acide sulfurique (H_2SO_4), acide chlorhydrique (HCl), acide acétique, NaOH, NH_4OH , KI, I_2 , NaCl, $AlCl_3$; acide galique ; rutine, quercétine, méthanol, eau distillé, coton.

DPPH, diclofénac, BSA, Gumme, Arabique, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $K_3Fe(Cn)_6$, $FeCl_3$, Parmi l'appareillage utilisé : spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS), Chambre d'observation UV « 264/3645 nm » (VILBERCOURMAT), Bain Marie (MEMMERT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), vortex (VELP), Balance (OHAUS). PH mètre.

II.Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait végétale

II.1.1. Préparation de l'extrait total aqueux

La préparation de cet extrait consiste à macérer 80 g de la partie aérienne de poudre végétale ans 2L d'eau distillée. Le macérât est homogénéisé pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique de type (SCIOLOGEX). L'homogénat est filtré successivement 2 fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier filtre Wattman N°1. Le filtrât obtenu est évaporé à l'aide d'une étuve de type (MEMMERT) à 50°C pour donner une poudre qui constitue ETAIV .

II.2. Screening phytochimique de l'extrait végétale

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait brut méthanolique de *I.viscosa* (EMIV) et l'extrait total aqueux (ETAIV).

II.2.1. Mise en évidence des tanins

A 2 ml de la solution à tester, ajouter 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisse reposer quelques minutes) .

II.2.2. Mise en évidence des saponosides

- **Test 1 :** 5 ml de la solution à tester sont bien mélangé avec 10 ml d'eau distillée² pendant 2 min.

La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides .

- **Test 2 :** 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpéneshétérosidique.

II.2.3. Mise en évidence des flavonoïde

5 ml d'extrait sont traités avec quelques gouttes d' AlCl_3 (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune.

II.2.4. Mise en évidence des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de l'extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl_3 et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl_3 . La présence des composés réducteurs est confirmé par la formation de deux phases une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

II.2.5. Mise en évidence des alcaloïde

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. A l'extrait sec, ajouter 5 ml d' HCl (2 N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif deWagner (2g de KI et 1,27g d' I_2 solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

II.3. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes d'extraits a été ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2%, dans le méthanol).Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm.La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage $y = ax + b$ établie avec la quercétine à différentes concentrations(1-40 ug/ml,chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans le méthanol) pratiquée dans les même conditions opératoires que les extraits servira à la quantification des flavonoides . La teneur en flavonoidesà été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait(mg EQ/g E).[135 ,136]

II.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits *A.d'Inula.viscosa* été effectué selon la méthode de bleu de Prusse (Price and Butler, 1977) modifiée par Graham (1992). Cette technique est basée sur le principe d'oxydation du ferricyanide de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}[\text{CN}]_6$) par les polyphénols pour donner les ions ferreux (Fe^{2+}), ces derniers réagissent avec le chlorure de fer (FeCl_3) et donne le complexe bleu de Prusse qui absorbe à 700 nm. Brièvement, 0.1 ml de l'extrait a été ajouté à 3 ml de l'eau distillée. Après agitation, 1 ml du $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (0.016 M) puis 1 ml du FeCl_3 (0.02 M,

dans le HCl 0.1N) ont été ajoutés successivement avec un intervalle de temps d'une minute. Après 15 minutes, 5 ml de la solution stabilisante (contenant 30 ml Gomme Arabique 1 %, 30 ml acide phosphorique 85 % et 90 ml de l'eau distillée) ont été ajoutés et l'absorbance a été lue à 700 nm. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 19) (0-200 µg / ml) et exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EAG / g E). [137,138]

II.5.DPPH (effet scavenger)

L'activité anti-radicalaire des différents extraits *A.d'Inula.viscosa* été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire aujaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Cuendet et al., 1997; Burits and Bucar, 2000). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, 50 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits d'*A. iva* a été calculé comme suit: $I \% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$

A_C : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

A_E : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC_{50}) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg / ml et comparée avec celle du BHT.[139,140]

II.6. Activité Anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait méthanolique de *I. viscosa* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. La méthode consiste à préparer quatre solutions.

- La solution d'essai (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (SBA) 5 % et 0,05 ml d'extrait aqueux avec une concentration de 250 µg/ml. La solution control test (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé.

La solution contrôle produit (0,5 ml) composée de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extrait aqueux avec une concentration de 250 µg/ml .

La solution standard test (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 250 µg/ml. Tous les solutions au-dessus ont été ajustée à pH 6,3 par une solution d'HCl (1N), les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57 ° C pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV –visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = 100 - \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du contrôle}} \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le diclofénac sodium (250 µg/ml) .

[141, 142, 143, 144].

Chapitre III. Résultats et Discussion

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydantes et anti-inflammatoire d' extrait aqueux de la partie aérienne de la plante médicinale « *I. viscosa* ».

I. Le rendement de l'extrait (Tableau7)

Tableau7 :Le rendement de l' extrait de *I. viscosa*

Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids de extrait aqueux en (g)	Le rendement en (%)
EAIIV	20 g	25%

la méthode extraction par macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact d'eau avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement d'extrait à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale (Tableau) a montré que l'EAQIV représente le rendement élevé de 25%.

il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. D'autre part, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénol et flavonoïdes[145].

II. Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques

Les tests phytochimiques réalisés sur EAIIV révèle la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présentés dans le (tableau8).

Tableau8 : Analyse phytochimique préliminaire d'extrait aqueux de *I. viscosa*.

composés	EAQIV
Tanins	+ Apparition d'une coloration bleue noire et un précipité après 3min
Saponosides	+
Flavonoïdes	+ Apparition d'une couleur jaune
Composés réducteurs	+ Apparition de deux phases, une colorée en brun rouge et la deuxième en bleu-vert.
Coumarines	+
Alcaloïdes sels	- Résultat négatif avec le réactif de Wagner (absence de turbidité)

Les résultats sont interprétés comme suit:(+) Réaction positive, (-) Réactions négatives

L'étude phytochimique d'EAIVa montré que cette plante contient: des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, et absence des alcaloïdes sels. Ce qui confirme les travaux de [146]qui a été révélé la présence des sesquiterpéniques, 1,3-dicafféoylquinique acid [147]Saponosides, Tanins et Coumarines chez *I.viscosa* La richesse de ce extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle comme un agent anti-gale, anti-inflammatoire [148, 149, 150, 151

III. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Les composés phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes [152]. Et comme la majorité des effets pharmacologiques des plantes est dû à ces substances, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits a été effectué pour en estimer les teneurs.

III.1. Dosages des flavonoïdes

L'étude quantitative d'extrait aqueux au moyen des dosages spectrophotométriques, selon la méthode de trichlorure d'aluminium avait pour objectif la détermination de la teneur totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage (Figure 13) a été tracée pour cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentrations. Des mesures de densité pour chaque fraction réalisées à 430 nm. Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent milligramme de quercétine ou rutine par gramme d'extrait (Figure 14) et déterminés par l'équation de type: $y = a x + b$

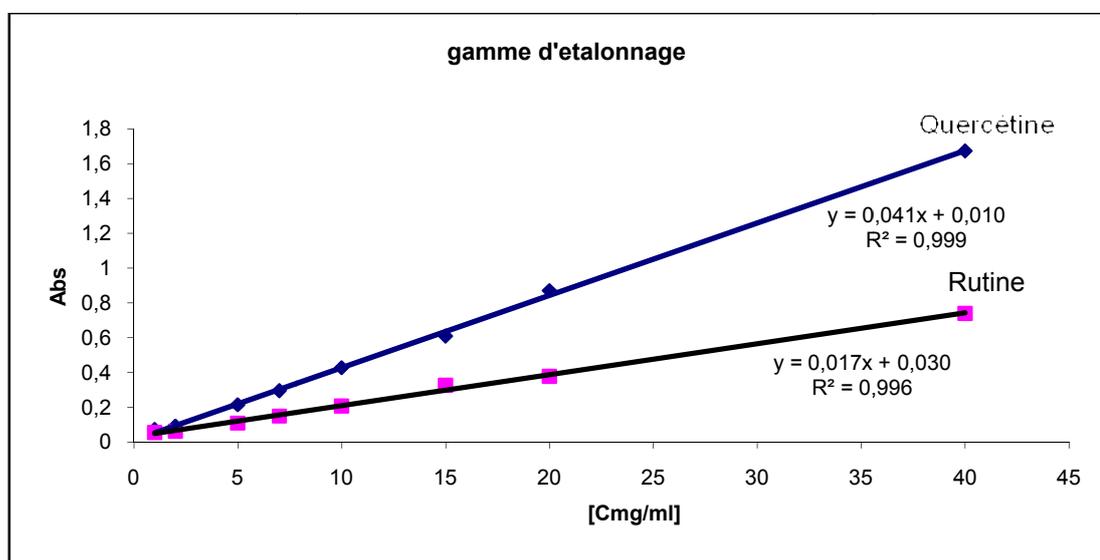


Figure 13. Courbes d'étalonnage de la quercétine et rutine

La détermination des taux des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait aqueux *I. viscosa* est riche en flavonoïdes. Et suivant la figure ci-dessus, les teneurs en flavonoïdes, exprimés en mg équivalent quercétine ou rutine par g extrait sont: $6,29 \pm 0,21$ mgEQ/gE et $8,36 \pm 0,28$ mg ER/gE respectivement.

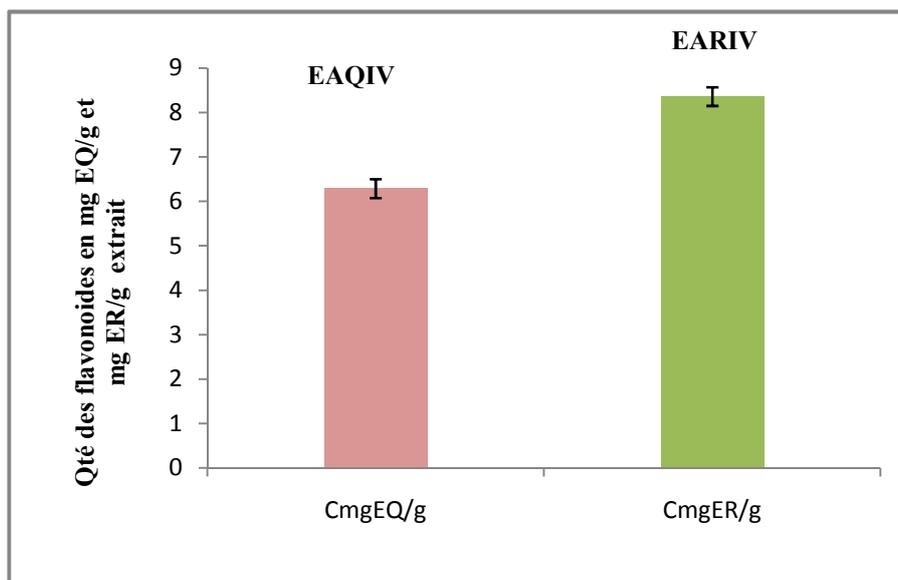


Figure14. Teneur en flavonoïdes totaux de *I. viscosa*

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Et les calculs qui sont effectués à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine montre que, la concentration des flavonoïdes dans ce extrait est Supérieures à celles de la quercétine parce que la pente de la courbe d'étalonnage de la rutine égale à la moitié de celle de la quercétine (**Figure14**, section matériel et méthodes).

Il ya quelques années , une étude détaillée sur ((L.) Asteraceae ,Inuleae) *Inula viscosa* .a révélé la présence de 16 flavonoïdes aglycones ,dont certains sont trouvés dans l'extrait acétonique de la partie aérienne [153] et Comme cette plante as le nom d' espèce viscosa due au matière résineuse consiste des terpénoïdes , tels que les acides sesquiterpéniques décrit dans les références [154,155] ils ont supposé que la matière résineuse contient des flavonoïdes aglycones comme c'est une caractéristique bien connue de beaucoup Asteraceae [156] et aussi les autres familles des plantes [157]

Donc Cette richesse identifiés par nos résultats est due probablement a la présence des Flavonoïdes aglycones qui ont été également signalés dans *Inula cappa*, recueillies dans l'Assam ,Indta. Cette espèce présente trois flavonoïdes ont été trouvés dans un extrait chloroformique de la partie aérienne. La même chose, aussi est probablement vrai pour les sesquiterpénoïdes signalés dans plusieurs espèces *Inula* et des flavonoïdes ont été isolés par

EW près de Narbonne -Plage dans le sud de France en Août 1985 et de Vinaroz en Espagne en Août

III.2. Dosage des composés phénoliques totaux :

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax$) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations. (Figure 15)

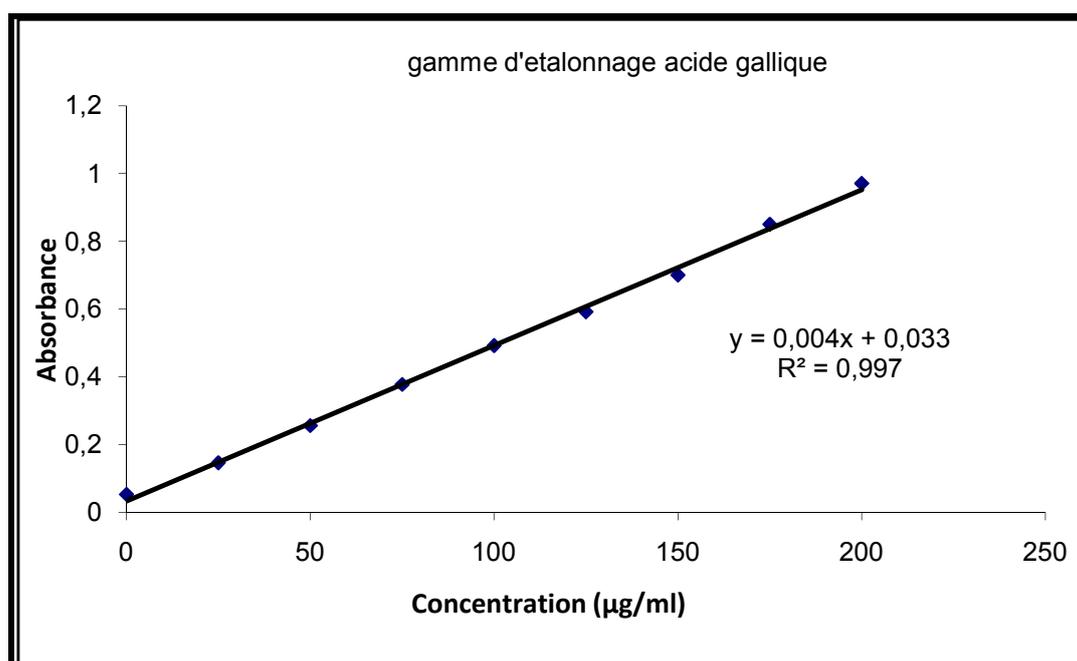


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque point de la courbe représente la moyenne \pm SEM ($n = 3$).

Les polyphénols totaux dans ce extrait sont dosés selon la méthode de bleu de Prusse modifiée par [158]

La teneur en composés phénoliques d'extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique par 100 grammes de la matière sèche, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans le (Figure 16) suivant:

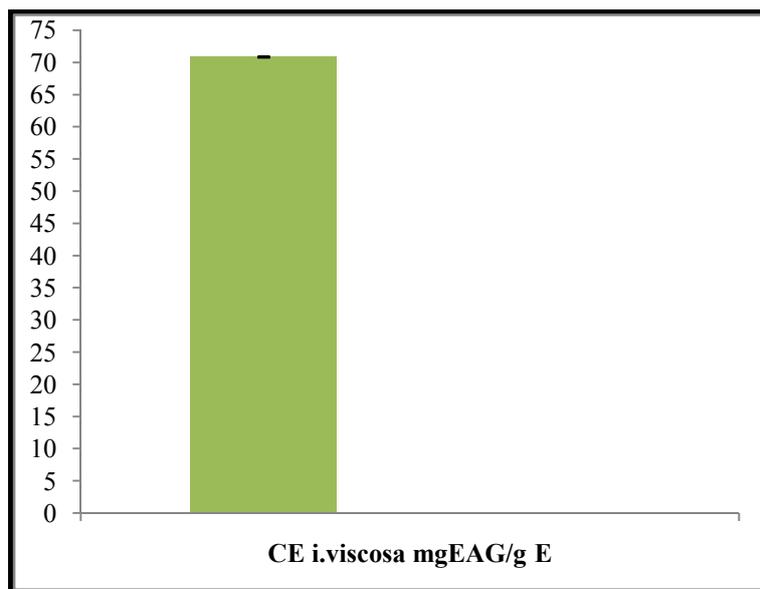


Figure16:Quantité des phénols totaux dans l'extraiteux d'acide galique

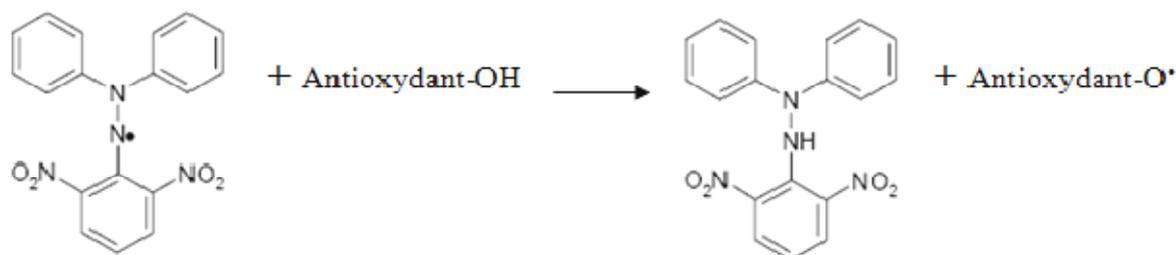
D'après les résultats présentés dans le **figuren°17** l'EAIV est riche en polyphénols (**70,826087 ± 0.036 mg EAG / g E**)

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols. , le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semiquantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox [159] [160] Le pouvoir réducteur d' extrait de la plante est dose dépendante (concentration dépendante). Le pouvoir réducteur de l'espèce *Inulaviscosa* est probablement dû à la présence de groupement,hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [161]. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme unindicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [162,163].

III.3. testes, in vitro ,de l'activité antioxydant

III.3.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire de extraits aqueux par la méthode de DPPH (effet scavenger)

L'activité antioxydante de l'extrait de *vis-à-vis* du radical DPPH à été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm (**Figure17**) la cinétique de décoloration de ce radical a été suivie après addition de 50 µl de chacune des concentrations d' extrait *I.viscosa*.



Diphénylpicrylhydrazyl DPPH (violet) Diphénylpicrylhydrazine DPPHH (jaune)

Figure17. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus (**Figure19**) révèlent que les extraits de *I.viscosa* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante, les concentrations d'extraits et standard qui piègent 50 % du radical DPPH (IC50) (**Figure20**). C'est un paramètre utilisé pour estimer l'activité antioxydante. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (Brand-Williams *et al.*, 1995; Tsimogiannis and Oreopoulou, 2004; Atoui *et al.*, 2005). L'EAIV possède un effet scavenger puissant avec une valeur de IC50 (0,090± 0,0018 mg / ml) inférieur Troie fois de celle de BHT (0,0318± 0,00064 mg / ml) antioxydant standard ; les IC50 a été déterminée (**Figure18**)

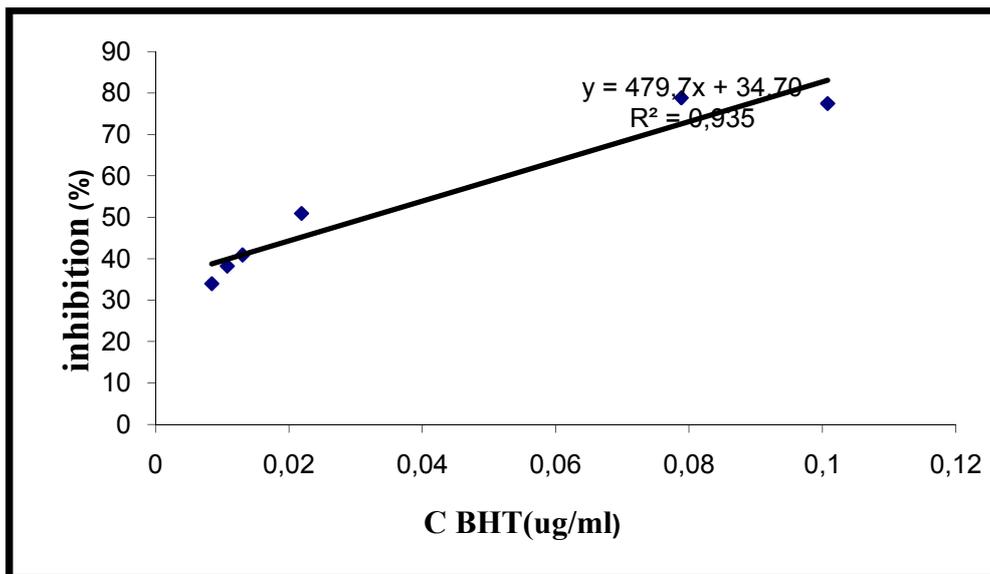


Figure18 : pourcentage d'inhibition de BHT

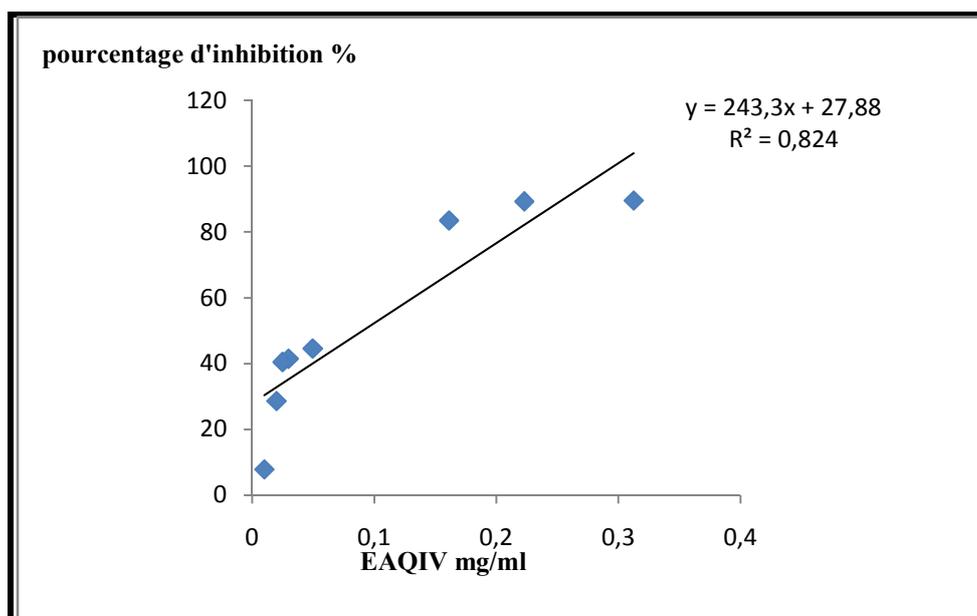


Figure19 : pourcentage d'inhibition de l' extrait aqueux de Quercétine de *I. viscosa*

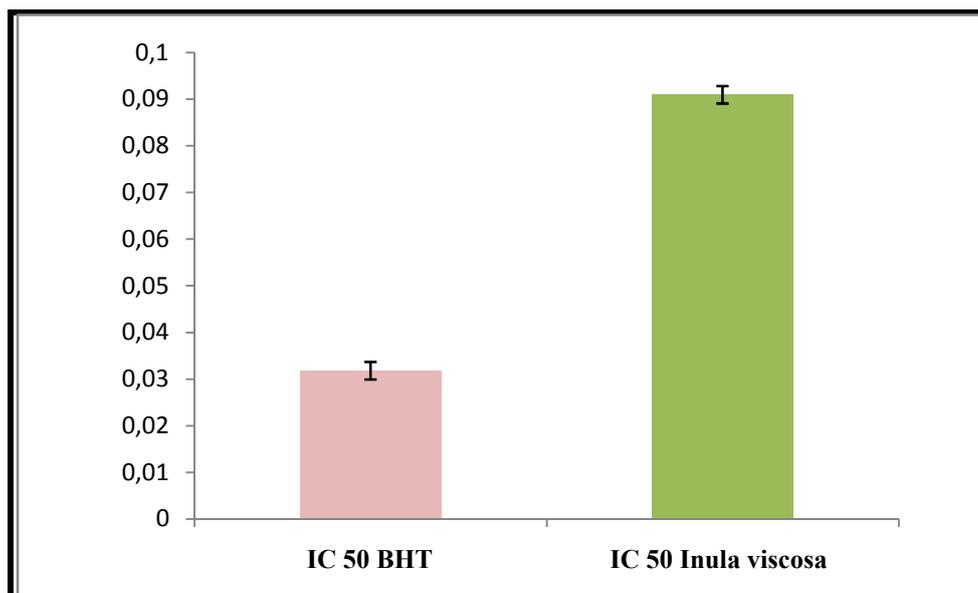


Figure 20 : La concentration d' extrait d'*I. viscosa* et de BHT qui inhibent 50 % du radical DPPH. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD

Tableau 9: Les concentrations des composés phénoliques qui inhibent 50 % du radical DPPH.

Echantillons	IC50(ug/ml)
Rutine	4,25 \pm 0,18
Quercitine	3,22 \pm 0,029
Acide gallique	0,58 \pm 0,01

Les composés phénoliques (acide gallique, quercétine et rutine) **Tableau 9** possèdent une activité anti-radicalaire très élevée et supérieure à celle du BHT. Le plus actif est l'acide gallique avec une IC₅₀ d'environ $0.58 \pm 0.01 \mu\text{g} / \text{ml}$, ensuite la quercétine et la rutine qui ont des IC₅₀ de 3.22 ± 0.029 et $4.25 \pm 0.18 \mu\text{g} / \text{ml}$, respectivement. Les résultats du présent travail sont relativement en accord avec les études suivantes: [164] ont montré que l'effet scavenger des extraits méthanoliques de 5 espèces du genre *Phyllanthus* sur le radical DPPH est en ordre suivant: *Phyllanthus debilis* (87.24 %) > acide ascorbique (77.75 %) > *P. urinaria* (73.18 %) > BHT (72.20 %) > *P. virgatus* (63.21 %) > *P. maderaspatensis* (48.90 %) > *P. amarus* (38.67 %) à concentration de $25 \mu\text{g} / \text{ml}$. De plus, Dastmalchi et ses collaborateurs (2008) ont déterminé que l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* L. est capable de piéger le

radical DPPH de manière dose dépendante, Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant [165,166]. Quelques composés se réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant [169]. L'effet scavenger des flavonoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence des groupements OH libres, en particulier 3-OH, avec une configuration 3',4'-rthodihydroxy [170]. Le nombre et/ ou la position des groupes hydroxyle sur les noyaux de ces molécules, les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C renforcent l'activité antioxydante des flavonoïdes **Figure 21** [170].

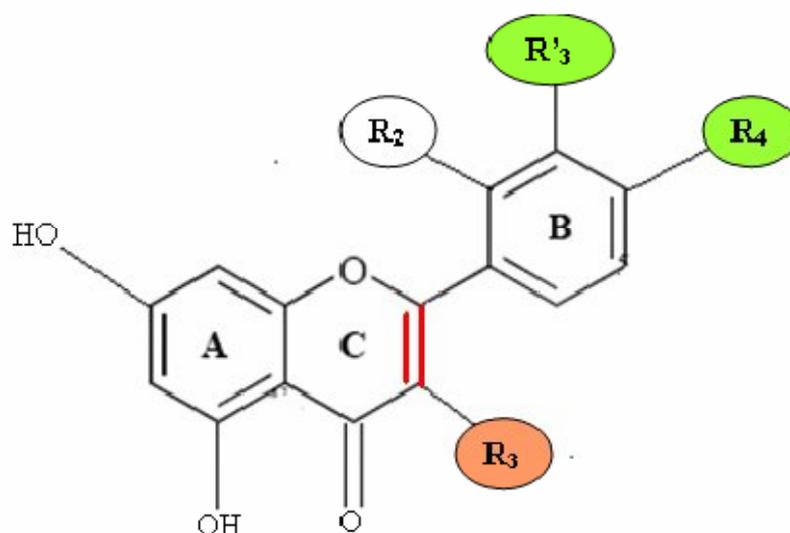


Figure 21 : Principaux éléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes.

VI. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

Le tableau montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait aqueux de *I. viscosa* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la sérum albumine (BSA). (Tableau 10)

**Tableau10 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA à la concentration
De 250 µg/ml**

Les échantillons	% d'inhibition de la dénaturation des protéines
Diclofenac sodium	90.66±3.3
EAIV	79.47±10.9

D'après les résultats du tableau, l'extrait aqueux d' *I.viscosa* inhibe la dénaturation de BSA à la concentration de 250 µg/ml.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait EAIV est de 79.47±10,9 avec une différence de 11.19%. Lorsque on le compare à ceux obtenus pour le diclofenac sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exerce un pourcentage d'inhibition de 90.66±3.3% à la même concentration.

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation [171, 172] . La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines[171,173]

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométhazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines[174, 175]. Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique (pH: 6.2 à 6.5). D'après les résultats, on constate que les deux échantillons sont capables de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines.

L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut être attribuée a la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins dans les l'extrait trouvés lors des criblages phytochimiques. De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de la dénaturation des protéines.

on peut conclure que le **EAIIV** possède un effet anti-inflammatoire marqué in vitro contre la dénaturation des protéines ,et que D'autres études définitives sont nécessaires pour déterminer les mécanismes et les électeurs derrière ses actions anti-inflammatoires .

Conclusion générale :

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Ces molécules naturelles de nature phénolique sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et les séquelles néfastes des antioxydants de synthèse à savoir le BHA et le BHT.

L'objectif primordial assigné par cette étude englobe le même contexte afin d'évaluer les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *inula viscosa*.

Dans la première partie, la quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par la méthode de bleu de Prusse (Price and Butler, 1977) modifiée par Graham (1992) , en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Et Les résultats obtenus nous ont révélé que la plante riche en polyphénols et en flavonoides avec un teneur de **70,82 mg EAG/gE ; 6,29± 0,21 mgEQ/gE** respectivement.

Dans la deuxième partie, nous sommes intéressés par l'étude des propriétés Antioxydantes et anti inflammatoire par deux techniques .

Le potentiel antioxydant a été confirmé par les méthodes non enzymatiques. L'EAIV possède un effet scavenger sur le radical DPPH élevé avec un IC_{50} de (0,090 mg / ml) ,et l'etudes de Activité anti-inflammatoire in vitro effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines présentent un pourcentage d'inhibition de 79,47% .

Ces propriétés est en corrélation avec la teneur en phénols totaux plus particulièrement les flavonoïdes ,et de tous les résultats obtenus, nous avons déduit que l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante *inula viscosa*. présente une bonne activité antioxydante et anti-inflammatoire qui pourrait être utilisé dans le

domaine pharmaceutique et Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antitumorale, anticancéreuse et anti-analgésique Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.

Abstract

The antioxidant compounds are the subject of many works because, in addition to their use as conservatives in the foodstuffs by replacing synthesis antioxidants, they intervene in the treatment of many diseases. Within the framework of discovered new antioxidants from the natural sources, we have investigated in this work, the study of phenolic compounds and the evaluation of the antioxidant and antiinflammatory properties of *I.viscosa* aqueuse extract

The first part of this study concerns the extraction and the quantification of total phenolics and flavonoids, by bleu of Prusse and the aluminium trichloride respectively .The results obtained showed the richness of *I.viscosa*, of phenolic compounds which the content of **70,82 mg EAG/gE** and The flavonoïds contents expressed as quercetine equivalent were about **6,29± 0,21 mgEQ/gE** .

The second part is the study of the antioxidant and antiinflammatory activity of the plant extract using two techniques: DPPH radical scavenging and inhibition of proteines dénaturation methode .

The antioxidant activity methods showed that EAIV have a strong scavenging of radicals DPPH• (EC50 0,090± 0,0018 mg / ml) compared to BHT. And inhibition of protein denaturation by 79.47% . These results suggest that this plant can be used to treat diseases and inflammation that require the scavenging of free radical.

Keywords: : *inula viscosa* ,activité antioxydant , radicaux libres , polyphénols et flavonoïdes , inflammation ,DPPH.

Résumé

Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies. Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydants et anti-inflammatoire d'extrait aqueux de plante médicinale Algérienne *I.viscosa*.

La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des phénols totaux et des flavonoïdes selon la méthode de bleu de Prusse ,et le trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus ont montré la richesse de *I.viscosa*, des composés phénoliques avec un teneur de 70,82 mg EAG / GE et le contenus des flavonoïdes est de $6,29 \pm 0,21$ mgEQ/gE étaient exprimée en équivalent quercétine par g extrait .

La deuxième partie est l'étude de l'activité antinflammatoire activité d'extraits de plante en utilisant deux techniques: **DPPH (effet scavenger)** et l'inhibition de la protéines dénaturation .

La méthode évaluation d' activité antioxydante d' **EAIIV** contre le radical DPPH • montre une forte puissance avec un IC50 de 0,090 mg / ml ,comparé avec le BHT. Et un pourcentage inhibition de la dénaturation des protéines par 79.47 % . Ces résultats obtenus suggèrent que cette plante peuvent être utilisés pour traiter les maladies et l'inflammation qui nécessitent le piégeage des radicaux libres.

Mots clés : *inulaviscosa* ,activité antioxydant , radicaux libres , polyphénols et flavonoïdes ,
inflammation ,

الملخص

تظل المركبات المضادة للأكسدة هي موضوع العديد من الدراسات العلمية ، بالإضافة إلى استخدامها كمادة حافظة للأغذية فإنها تستعمل في علاج الكثير من الأمراض و منذ اكتشاف امكانية استبدال المواد المضادة للاكسدة الاصطناعية في مواد مضادة للاكسدة جديدة من مصادر طبيعية،و في اطار البحث عن مضادات للتاكسد جديدة نحن مهتمون في هذا العمل لدراسة المركبات الفينولية وتقييم خصائص مضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات من المستخلص المائي للنبتة الطبية الجزائرية *I.viscosa*.

. أولا الجزء الأول من هذه الدراسة تتعلق استخلاص وتقدي كل ر من الفينولات والفلافونيدات وفقا لطريقة الأزرقوثلاثي البروسي و تقنية كلوريد الألومنيوم على التوالي ، كان المركبات أظهرت النتائج ثراء *I.viscosa* بالمركبات الفينولية 70.82 ملغ /EAG /GE ومحتوى الفلافونوي ب 6.29 GE / mgEQ كيرسيتين يعادل غرام الواحد من المستخلص. اما الجزء الثاني من هذه الدراسة قتمثل في تقدير النشاط الضد الالتهابي و ضد تاكسدى لنبات *inula. Viscosa*.

090 و ذلك من خلال DPPH وتثبيط البروتينات هذا وبينت نتائج هذه الدراسة ان للمستخلص النباتي يستطيع تثبيط جذر ب تقينتي تثبيط ال DPPH ال IC50

و تثبيط نشاط ضد التهابى بنسبة % 79,47.

و من خلال هذه النتائج فان لهذه النباتة خصائص مضادة للاكسدة و مضادة للالتهاب يمكن استغلالها لعلاج الكثير من الامراض خاصة التى ينتج عنها تحرير الجذور الحرة

Références bibliographiques

[1] Anderson bj, *pediatricanesthesia* 2008.

[2]Ozcani et chalchat 2004, amiot 2005 .

[3] Favier, A.(2003).Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhensiondes mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, p108-115.

[4]Haton C., (2005).Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale.Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.

[5] Boumaza A. (2009). Effet de l'extratmethanolique de zygothymus 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. p.18-25.

[6] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007) . Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*Biocell*. 39: 44-84.

[7] Salvayre R, Auge N & Nègre-Salvayre A (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et laprogression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 14, 269-290.

[8]Halliwell B (2006). Phagocyte-derived relative specie : salvation or suicide.T pends in biochemical sciences . vol 3.N°9: 509-15.

[9] Durackova Z .Djrolo F.,Houngbe H.,Avode G.,Attonlou V.,Adrra B N.Avimadj M.,

Références bibliographiques

(2008).Oxidants, Antioxidants and oxidativestress.Mitochondrie medicine .Gvozdjakova
A(ed)P: 19-43;

[10] **Mohammedi Z. (2005)**,Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles
essentieles et falvonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen , Thèse de magistère
, Université-AbouBakrBelkaid-Telemcen .

[11] **Sorg, O.(2004)** Oxydatif stress: a theoretical model or a biological reality.*Comptes
Rendus Biologies.*327:649-662.

[12] **BouhadjraK. (2011)**, étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la
stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister,
Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

[13]**Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002)**Physiological action of
Antioxydantdefences. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* **16**: 233-239.

[14]**Koechlin-Ramonatxo, C. (2006)**Oxygen , oxidative stress and antioxidant
supplementation ,or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition cliniqueet
métabolique.* **20**:165-177.

[15]**Halliwell, B., Whiteman, M. (2004)** Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo*
and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. *British journal of
pharmacology.* **142**: 31-2.

[16] **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006)**Free radicals,
metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions.*
160: 1- 40.

[17] **Kohen, R., Nyska, A. (2002)**Oxidation of biological systems : oxidative stress

Références bibliographiques

phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*.**30**: 620-650.

[18] Beckman, K.B., Ames, B.N. (1998)The free radical theory of aging matures. *Physiological Oxygen free radicals and human disease*.*Biochimie*. **77**: 147-161.*reviews*. **78**: 547-581.

[19] Lehucher-Michel, M.P., Lesgards, J.F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., Prost, M. (2001)Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*. **30**: 1076-1081.

[20] Martínez-Cayuela, M. (1995)Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*.**77**: 147-161.

[21] Sachdev, S., Davies, K.J.A. (2008)Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology & Medicine*. **44**: 215–223.

[22] Berlette, B.S., Stadtman, E.R. (1997) Protein oxidation in aging disease, and oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*.**272**: 20313-20316.

[23] Jung, T., Bader, N., Grune, T. (2007)Oxidized proteins : intracellular distribution and recognition by the proteasome. *Archives of Biochemistry and Biophysics*.**462**: 231-237.

[24] Martinez-Cayela,M.(1994) Oxygen free radicals and human disease.*Biochimie*.**77**: 147-161.

[25] Berger, M.M. (2006)Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **20**: 48-53.

[26]Goudable, J ., Favier, A. (1997)Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique etMétabolisme*. **11**: 115-20.

[27]Shimizu, H.(2004).Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular

Références bibliographiques

disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,**35** (9) : 2072-2077.

[28] DjemaiZoughlache S. (2008),Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de

Zizyphus lotus L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.

[29] Quezel p., Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris, 590-593.

[30] Collin F., 2007. Identifier les fleurs du Maroc Atlantique par leurs couleurs, 59.

[31] Achille R.,1980. Botanique médicale, 4^{ème} Ed. Paris: l'imprimerie de Rignoux, 321

[32] Kambouche N., Merah B., Bellahouel S., Bouayed J., Dicko A., Derdour A., Younos C., Soulimani R.,2008. Chemical composition and antioxidant potential of *Rutamontana* L. essential oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food*, 11(3) : 593-595.

[33] Claisse R., 1993. Plante à usage dermatologique de la pharmacopée traditionnelle marocaine. Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique, 24(27) : 172-173.

[34] Kechkar M., 2008. Extraction de la *Silymarine* et étude de son activité antimicrobienne, mémoire de magister en microbiologie appliquée, université Mentouri Constantine, 30-36.

[35]Sablonnaire B., 2002. Biologie microbiologie. Ellipses, Paris, 270-273.

[36] Meyer A., Deiana J., Bernard A., 2004. Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} Ed. Biosciences et techniques, doin, 217-247.

[37]Upton A., 2006. Les produits antimicrobiens à domicile. Le problème de l'antibiorésistance. *Énoncé de la SCP*, 11(3) : 177-181.

[38] Allion A., 2004. Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides, thèse de doctorat en sciences alimentaires. Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, 22-28.

[39] Marfak A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides, thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges, 23.

[40] Milane H., 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat en Pharmacochimie. Université de Louis Pasteur Strasbourg, 22.

[41] Crozier,A.,Del Rio, D.,Clifford, M.N.(2010).Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular Aspects of Medicine*, **31** : 446–467.

[42] Manach, C., Mazur, A., Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of

Références bibliographiques

cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, **16** : 1–8.

[43] Bahorun, T.(1997).Substances Naturelles actives.La flore Mauricienne .une source d’approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritian*,p83-94.

[44] Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman,D., Segura-Carretero, A.,Fernandez-Gutierrez, A.(2006)Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**:1220-1234.

[45] Xiuzhen, H.,Tao, S.,Hongxiang, L.(2007).Dietary Polyphenols and Their Biological Significance.*International Journal of Molecular Sciences*, **8** : 950-988.

[46] Babar,A. M.,Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007).Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*, **12**: 607-621.

[47] Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly,C.(2008).Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L.organs, and their biologicalactivities.*ComptesRendusBiologies*, **331**: 372-379.

[48] Hodgson, J. M.,Croft, K.D. (2010).Tea flavonoids and cardiovascular health.*Molecular Aspects of Medicine*, **31**: 495–502.

[49] Martin, S., Andriantsitohaina, R.(2002).Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l’endothélium. *Annales de cardiologie et d’angéiologie*, **51** : 304–315.

Références bibliographiques

- [50] Djemai Zoughlache S. (2008), Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.
- [51] Belguidoum M. (2012), Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*, mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ourgla.
- [52] Konsol, M .M .R. Etudes ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques Lamiaceae du Burkinafaso : cas de *Leucas Martinicensis* (jacquin) R .Brown, *Hoslundia Oppsitavahl* et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth , Université d'ouagadougou.
- [53] Lhuillier, A.(2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauriasalicyfolia* Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissatrichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.
- [54] Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.
- [55] Bruneton, J .(1999). Pharmacognosie, phytochimie, plante médicinale, (3^{ème} éd). Editions Tec & Doc Lavoisier, p1120.
- [56] Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., Krishina, D.R. (2001) Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. **33**: 2-16.
- [57] Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F.K.(2006) Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids . *Journal of phytochemistr*. **67**: 2058-2070.
- [58] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharidies, T.C. (2000) The effects of plant

Références bibliographiques

flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer.

Pharmacological reviews. **52**: 673-751.

[59] **Cotelle, N. (2001)** Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry.* **1**: 569-590.

[60] **Lin, J.K., Weng, M.S. (2006)**Flavonoids as Nutraceuticals. In :*The science of flavonoids.* Grotewold, E. Eds, *Springer*, Pp: 217.

[61] **Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002)**Flavonoid antioxidants : chemistry , metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry.***13**: 572-584.

[62] **Javanovic, S.V., Steenken, S., Totic, M., Marjanovic, B., Simic, M.J. (1994)** Flavonoids as antioxidants.*Journal of the American Chemical Society.***116**: 4846-4851.

[63] **Densiov, E.T., Afanas'ev, I.B. (2005)**IN: *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology.* Eds: *Taylor & Francis Group* (U.S.A), Pp: 703-861.

[64]**McCord, J.M. (1995)**Superoxide radical: Controversies, contradictions and paradoxes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.***202**: 112-117.

[65] **Rice-Evans,C. (2001)** Flavonoid as Antioxidants. *Current medicinal chemistry.***8**: 797-807.

[66]**Van Acker, S.A.B.E., Van Den Berg, D.J., Tromp, M.N.L., Griffioen, D.H., Bennenkom, W.P.V., Van Der Vijgh, W.J.F., Bast, A. (1996)**Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free radical biology & medicine.* **20**: 331-342.

[67] **Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.V., Berghe, D.K. (1998)** Structure-activity relationship and classification of

Références bibliographiques

flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural products*. **61**: 71-76.

[68] Pietta, P.G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. **63**: 1035-1042.

[69]Hendrich, A.B. (2006)Flavonoid-membrane interactions : possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *ActapharmacologicaSinica*.**27**: 27-40.

[70] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. **9**: 191-20.

[71] Cotelle, N. (2001) Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*. **1**: 569-590.

[72]Morris, C.J., Earl, J.R., Trenam, C.W., Blake, D.R. (1995)Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. *The international journal of biochemistry & cell biology*. **27**: 109-122.

[73] Brown, J.E., Khodr, H., Hider, R.C., Rice-Evans, C. (1998)Structural dependence of flavonoïdes interactions with Cu²⁺ ions : implication for their antioxidant properties. *The Biochemical journal*.**330**: 1173-1178.

[74] Densiov, E.T., Afanas'ev, I.B. (2005)IN: *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A), Pp: 703-861.

[75] Rundles, R.W., Metz, E.N., Sliberman, H.R. (1966) Allopurinol in the treatment of

Références bibliographiques

gout. *Annals of Internal Medicine*. **64**: 229-258.

[76] **Klinenberg, J.R., Goldfinger, S.E., Seegmiller, J.E. (1965)**The effectiveness of xanthine oxidase inhibitor allopurinol in the treatment of gout. *Annals of internal medicine*. **62**: 639-647.

[77] **Young, J.L., Boswell, R.B., Nies, A.S. (1974)**Severe allopurinol hypersensitivity. association with Thiazides and Prior Renal Compromise. *Archives of internal medicine*.**134**: 553-559.

[78] **Da silva.E.J.A, Oliveira.A.B, Lapa.A.J.** Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm.Pharmacol*. 1994 **46**(2): 118-22.

[79] **Galati.E.M, Monforte.M.T, Kirjavainen.S, Forestieri.A.M, Trovato.A, Tripodo.M.M.** Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I):antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*.1994 **40**(11): 709-12.

[80] **Read, M. A.**Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents *Vascular. Am. J.Pathol*. 1995 **147**(2): 235-7.

[81] **Middleton.E.J.**Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int.J. Pharmacol*. 1996 **34** (5): 344-348.

[82] **Mookerjee.B.K, Lee.T.P, Logue.G.P, Lippes.H.A, Middleton.E.**The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog.Clin.Biolo.Res*. 1986 **213**: 511-20.

[83] **Namgoong.S.Y, Son.K.H, Chang.H.W, Kang.S.S, Kim.H.P.**Effects of naturally occurring

Références bibliographiques

flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 1994 54(5): 313-20.

[84] **Middleton.E.J, Drzewiecki.G.**Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem.Pharmacol.*1984 33(21): 3333-8.

[85] **Ward.J.**Free Radicals, antioxidants and preventive geriatrics.*Austr.J.Physic.* 1994 23(7): 1297-301.

[86] **Limasset.B, Le doucen.C, Dore.J.CH, Ojasoo.T, Damon.M, De paulet.A. C.** Effects of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacol.*1993 46(7): 1257-71.

[87] **Roengsumran.S, Petsom.A, Ngamrojanavanich.N, Rugsilp.T, Sittiwicheanwong.P, Khorphueng.P, Cherdshewasart.W, Chaichantipyuth.C.**Flavonoid and flavonoid glycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. *J.Scient.c Research of Chulalongkorn University* 2000 25(1): 169-176.

[88] **Vrijssen.R.E.L, Van hoof.L.M, Vlietinck.A.J, Vandenberghe.D.A, Boeye.A.** The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivir. Res.* 1987 7(1): 35-42.

[89] **Mucsi.I, Pragai.B.M.**Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*1985 41(7):930-1.

[90] **Spedding.G, Ratty.A, Middleton.E.J.**Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids.*Antivir. Res.* 1989 12(2): 99-110.

[91] **Ono.K, Nakane.H, Fukushima.M, Chermann.J.C, Barre-sinoussi.F.** Differential inhibitory

Références bibliographiques

effects of various flavonoids on the activities of reversetranscriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* 1990190(3): 469-76.

[92] **Ono.K, Nakane.H.** Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* 1990 108(4): 609-13.

[93] **Mahmood.N, Pizza.C, Aquino.R, De tommasi.N, Piacente.S, Colman.S, Burke.A, Hay.A.J.** Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* 199346(7): 1257-71.

[94] **Fesen.M.R, Pommier.Y, Leteurtre.F, Hiroguchi.S, Yung.J, Kohn.K.W.** Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem.Pharmacol.* 1994 48(3): 595-608.

[95] **Ohemeng.K.A, Schwender.C.F, Fu.K.P, Barrett.J.F.** DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993 3(2):225-30.

[96] **Sato.M, Tsuchiya.H, Takase.I, Kureshiro.H, Tanigaki.S, Iinuma.M.** Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophoraexigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytother. Res.* 1995 9(7): 509-12.

[97] **Mila.I, Scalbert.A.** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, 1994 381(2): 749-755.

[98] **Laughton.M.J, Halliwell.B, Evans.P.J, Hault.J, Robin.S.** Antioxydant and Pro-oxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem.Pharmacol.* 1989 38(17): 2859-2865.

[99] **Kessler.M, Ubeau.G, Jung.L.** Anti- and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002 55: 1-11.

Références bibliographiques

- [100] **Chaudhry.P.S, Cabrera.J, Juliani.H.R, Varma.S.D.** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *BiochemPharmacol.* 1983 32: 1995.
- [101] **Ong.K.C, Khoo.H.E.** Biological Effects of Myricetin. *General Pharmacol.* 1997 29:121-126.196.
- [102] **Ong.K.C, Khoo.H.E.** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci.* 2000 67: 1695-1705.
- [103] **Hertog.M.G, Feskens.E.J, Hollman.P.C, Katan.M.B, Kromhout.D.D.** antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the ZutphenElderly Study. *Lancet.* 1993 342:1007-1011.
- [104] <http://fr.wikipedia.org/wiki/inula-viscosa>.
- [105] **Abu Zarga, M.H.; Hamed, E.M.; Sabri, S.S.; Voelter, W.; Zeller, K.P.** New sesquiterpenoids from the Jordanian medicinal plant *Inulaviscosa*. *J.Nat.Prod.* 61:798-800, 1998.
- [106] **Abu Zarga, M.H.; Sabri, S.S.; Hamed, E.M.; Khanfar, M.A.; Zeller, K.P.; Atta-Ur-Rahman.** A new eudesmane type sesquiterpene from *Inulaviscosa*. *Natural Product Research*, Vol.17, No.2, pp.99-102, 2002.
- [107] **Barbetti, P., Chiappini, I., Fardella, G., Menghini, A.** A new eudesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica* 51, 471, 1985.
- [108] **Yaniv, Z., Dafni, A., Friedman, J., Palevitch, D.** Plants used for treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology* 19, 145-151. 1987.9
- [109] **Lauro, L., Rolih, C.** Observation an research on an extract of *Inulaviscosa*. *Bollettino Societa Italiana Biological Sperimentabile* 66, 829-834. 1990.
- [110] **Lastra, C., Lopez, A., Motiva, V.** Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in

Références bibliographiques

rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica* 59, 497-501. 1993.

[111] **Alarcon De La Lastra, C. ; Lopez, A and Motilva, V.** Gastroprotection and prostaglandin E₂ generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, 59, 497-501. 1993.

[112] **Cafarchia, C. ; De Laurentis, N. ; Milillo, M.A. ; Losacco, V. ; Puccini, V.** Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*. 44 : 153-156, 2002.

[113] **suspluga, C., Balansard, G., julien, j.** Evidence of aerial part from *Inula viscosa* Ait. *Herba Hung*, 19: 19-33, 1180.

[114] **Barbetti, p., chiappini, I., fardella, G., Menghini, A.** A new endesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica* 51, 471, 1985.

[115] **Yaniv, z., dafin, A., friedman, j., palevitch, D.** plants used for treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology* 19, 145-151. 1987.

[116] **laura, I., roliv, C.** plants used for treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology* 19, 145-151. 1987.

[117] **Lastra, C., Lopez, A., Motiva, V., 1993.** Gastroprotection and prostaglandin E₂ generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica* 59, 497-501.

[118] **Lauro, L., Roliv, C., 1990.** Observations and research on an extract of *Inula viscosa*. *Bollettino Societa Italiana Biological Sperimentale* 66, 829-834.

[119] **Benayache S, Benayache F, Dendougui H, Jay M (1991)** Flavonoids of *Inula viscosa*. *Plant*

Références bibliographiques

Med Phytother 25:170-6

[120] **Cohen Y, Baider A, Ben-Daniel BH, Ben-Daniel Y (2002)** Fungicidal preparations from *Inula viscosa*. *Plant ProtSci* 38:629-30

[121] **Al Dissi, N.M., Salhab, A.S., Al Hajj, H.A., 2001.** Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 77, 117–121.

[122] **Bach, J.F., 1994.** Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocrinological Review* 15, 516–542.

[123] **Nathan C (2002).** Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.

[124] **Barton G M (2008)** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, 413-420.

[125] **Bianchi M E (2007).** DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J LeukocBiol*, 81, 1-5.

[126] **Medzhitov R (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428-435.

[127] **Charles N Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010).** Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*, 2-3.

[128] **Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell (2007).** *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition, 20-60.

[129] **Weill B, Batteux F and Dhainaut J (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.

[130] **Nourshargh Sussan, Fritz Krombach, and Elisabetta Dejana (2006).** The role of JAM-A

Références bibliographiques

and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 714-718.

[131] **Blain, Jouzeau, Netter and Jeandel (2000)**. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Méd Interne*, 21, 978-88.

[132] **Nicolas Jean-François, Florence Cousin and Jean Thivolet (2001)**. Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, 2001, 55-58.

[133] **Barnes Peter J (1998)**. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.

[134] **Han T, Li H L, Zhang QY, Han P, Zheng H C, Rahman K and Qin L P (2007)**.

Bioactivity-Guided Fractionation For Anti-Inflammatory And Analgesic Properties And Constituents Of *Xanthium Strumarium* L. *Phytomedicine*, 14, 825-829

[135] **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M. and Gazin M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *ArzneimForsch / Drug Res.* 1-6.

[136] **Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M. and Gazin M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *ArzneimForsch / Drug Res.* 1-6.

[137] **Price M.P. and Butler L.G. (1977)**. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **25**, 1268-1273.

[138] **Graham H.D. (1992)**. Modified Prussian Blue assay for total phenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**, 801-805.

Références bibliographiques

- [139] Cuendet M., Hostettmann K. and Potterat O. (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea ablumei*. *Helvetica Chimica Acta* **80**, 1144-1152.
- [140] Burits M. and Bucar F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* **14**, 323-328.
- [141] Williams LAD, O'connar A, latore L, Dennis O, Ringer S, ANTI-inflammatory. *West indian Med j* 2008; 57:327-331.
- [142] Sangita C, priyanka C, Evaluation of in-vitro ant-inflammatory 2012; 2(suppl1):s 178- s180.
- [143] Beta tatul.GERva, IEutahtaiodniSoRf ,aVnetidoaxiPdGa,n St waantdhiaPnKti,-
CinhfalanmdrmikaatoKry, RaacotivViAty, of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011; S191-4
- [144] Schtiavrimtya a nGdNt, oDtaulbfleayvoSnKo, idSactoinNte, n St aonfaAdeygaleJm.
aArnmtie-loinsfsleaemdms. aItnotrJyPharm Sci Drug Res 2011; 3(3): 214-8
- [145] Lee et al., 2003. Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *J Agric Food chem.*, 51: 7292-7295.
- [146] Cheng XR, Ren J, Wang CH, Guan B, Qin JJ, Yan SK, et al. Hookerolides A–D, the first naturally occurring C17-pseudoguaianolides from *Inula hookeri*. *Tetrahedron Lett* 2013; 54:1943–6.
- [147]. Danino. O et al. / *Food Research International* 42 (2009) 1273–1280
- [148] V. Hernández et al. / *Life Sciences* 81 (2007) 480–488
- [149] S. Máñez et al. / *Fitoterapia* 78 (2007) 329–331
- [150] M. Maoz, I. Neeman : *Journal of Ethnopharmacology* 71 (2000) 479–482
- [151] A.M.L. Seca et al. / *Journal of Ethnopharmacology*. (2014).

Références bibliographiques

- [152]. Beta T., Nam S., Dexter J.E. and Sapirstein H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* 82, 390-393.
- [153] Grande, M., Piera, F., Cuenca, A., Torres.P. and Bellido, I. S. (1985) *Planta Med.* 51, 414.
- [154] Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, C. and Menghini, A. (1985) *Phytochemistry* 24, 2987.
- [155] Barbetti, P., Chiappini, I. and Menghini, A. (1985) *Planta Med.* 51, 471.
- [156] Dexter J.E. and Sapirstein H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* 82, 390-393.
- [157] Baruah, N. C., Sharma, R. P., Thyagarajan, G., Herr, W. and Govindan, S. V. (1979) *Phytochemistry* 18, 2003.
- [158] Graham H.D. (1992). Modified Prussian Blue assay for total phenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 801-805.
- [159] Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., et Weil J.A. (2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry.* 84, 551–562.
- [160] Chung Y-C., Chang C-T., Chao W-W., Lin C-F., et Chou S-T. (2002) Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50, 2454–2458.
- [161] Siddhuraju P. et Becker K. (2007) The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry.* 101(1), 10-19.
- [162] Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., et Lee S.C. (2004) Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 52, 3389–3393.
- [163] Kumaran, A. et Karunakaran, R.J. (2007) In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.* 40, 344–352.
- [164] Kumaran A. and Karunakaran J.R. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts

Références bibliographiques

of five *Phyllanthus* species from India. *L.W.T.* **40**, 344-352

[165]Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.

[166]Tsimogiannis D.I. and Oreopoulou V. (2004). Free-radical scavenging and antioxidant activity of 5,7,3',4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **5**, 523-528.

[167]Tsimogiannis D.I. and Oreopoulou V. (2006).The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3',4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **7**, 140-146.

[168]Kouri G., Tsimogiannis D., Bardouki H. and Oreopoulou V. (2007).Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**, 155-162.

[169]Bondet V., Williams W.B. and Berset C. (1997). Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel -Wissenschaft und Technologie***30**, 609-615

[170]Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* **13**,572-584.

[171]Bagad YM, Umalkar AR, Tatia AU, SuranaSJ. Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res* 2011;4(5):1326-1332

[172]Mizushima Y and Kobayashi M (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **20** (1)169-173.

[173]M Sangeetha , K Kousalya, R Lavanya, Cherukuru S Chamundeeswari D, Uma Maheswara R.2011. *In-vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS Volume 2* (1): 822-827.

[174]M Sangeetha , K Kousalya, R Lavanya, Cherukuru S Chamundeeswari D, Uma Maheswara R.2011. *In-vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS Volume 2* (1): 822-827.

[175]Adarshvm, ajaykp, Kavitha d, Anurag kb, Anti denaturation and antioxidant activities of *annonacherimola* in-vitro. *International Journal of Ppharma and Bio Sciences* 2011;2(2):0975-6299