



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : biologie animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master II

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : toxicologie et santé

Intitulé :

**L'activité antioxydante, anti-inflammatoire
et analgésique de plante médicinale
Algérienne *Inula .Viscosa***

Présenté et soutenu par :

Le : 15 /06/2015

Derbal Nedjla

Fedali Hanane

Jury d'évaluation :

Président du jury : lalaoui Korichi (Pr à l'UFM-Constantine)

Rapporteur : Ihoual Safia (MA à l'UFM-Constantine)

Examineur : Boubekri Nassima (MC à l'UFM-Constantine)

Boulkandoul Ramzi (MA à l'UFM-Constantine)

Année universitaire 2014 – 2015

*M*ersie *Allah* (mon dieu) de m'avoir

donné la capacité d'écrire et de réfléchir.

*La force d'y croire, la patience d'aller
jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes
mains vers le ciel et de dire.*

" Ya Karim ya Rahim "

Remerciements

Nos vifs remerciements :

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

*Et pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury
De cette thèse,*

*Monsieur LALAOUI .K, professeur à l'Université frères Mentouri
de Constantine,*

*Monsieur bol kandoul .R, maître assistant à l'Université frères
Mentouri de Constantine,*

*Mme boubekri .N, maître assistante à l'Université frères Mentouri
De Constantine,*

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

*A toutes perssones qui a participé de prés ou de loin,directement ou
Indirectement à la réalisation de ce travail.*

Dédicace

*j'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents
abdalthamide et yamina qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes
années d'étude, je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde
gratitude à:*

ma soeur: loubna, son mari nassre et ses enfants: takwa, basmala.

ma soeur: sara, son mari salim et ses enfants: taym.

mes soeurs: ikram, layla et mon frère : ayoub

tout ma famille

mon binome :hanane

et également Mr soufian

egalement je dédie ce travail à mes amies: ahlam, asma

imen, zahra, amina, fouzia, soulef, khaoula

a tous ceux qui me sont chères

a tous ceux qui m'aiment

a tous ceux que j'aime.

je dédie ce travail.

Derbal nedjila

Dédicace

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je
dédie ce modeste travail.*

*A mes très chers parents, sans eux je n'est pas pu être ce que
je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs
encouragements durant toutes mes études et mes recherche.*

A mes chers frère et sœurs et mes amies.

*Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres,
vont A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour
l'aboutissement de ce travail Et surtout Mr soufian*

Fedali hanane

Liste d'abréviation

Liste de figure

Liste de tableau

Introduction générale

Partie bibliographie

Chapitre I : l'inflammation et radicaux libres

I.1. Les mécanismes de l'inflammation

I.1.1. Définition.....	1
I.1.2. Les causes de l'inflammation.....	2
I.1.3. les cellules de l'inflammation.....	2
I.1.4. Les médiateurs de l'inflammation.....	3
I.1.4.1.les systèmes d'activation plasmatique.....	3
a. Les systèmes coagulation et fibrinolyse.....	3
b. Le système du complément.....	5
c. le système des kinines.....	6
I.1.4.2. les médiateurs cellulaires.....	6
a. L'Histamine.....	6
b. Les radicaux libres.....	6
c. Métabolisme de l'acide arachidonique.....	7
d. Cytokines et chimiokines.....	8
I.1.5. Notions d'inflammation aiguë et d'inflammation chronique.....	9
I.1.5.1. Inflammations aiguës.....	9
I.1.5.2. Inflammations chroniques.....	9
I.2. Anti-inflammatoires	
I.2.1. cortisone et corticoïdes.....	10
I.2.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	10
I.2.1. 1. Définition.....	10

I.2.1.2. Mécanisme d'action	11
a. Action analgésique	11
b. Effet anti-inflammatoire	11

CHAPITRE II : Radicaux libres et antioxydants

II.1. Radicaux libres biologiques	12
II.1. 1.Qu'ès ce qu'un radicaux libre ?	12
II.1.2. Différents types des radicaux libres.....	12
a. Les radicaux libres primaires.....	12
b. les radicaux libres secondaires.....	12
II.1.3. Origine de production des ERO	13
II.1.4. Dommages oxydatives des radicaux libres.....	14
II.2.1. Les systèmes antioxydants	
II.2.2. Modes d'action des antioxydants.....	15
II.3. 2. 1. Défenses enzymatiques.....	15
a. Le superoxyde dismutase (SOD).....	15
b. Catalase	16
c. Glutathione peroxydase	16
II.2. 2. 2 Défenses non enzymatiques.....	16
a. La vitamine E.....	16
b. La vitamine C	17
c. Acide urique.....	17
d. Caroténoïdes.....	17
II.2. 3. Composés phénoliques	
II.2.3.1 Définition.....	18
II.2.3.2 Classes des polyphénols.....	18
II.2.3.3. Biosynthèse des polyphénols.....	20
a. La voie l'acide shikimique.....	20
b. La voie de l'acétate.....	20

II.2.3.4 Effets biologiques des polyphénols.....	20
II.2.3.5. Les flavonoïdes.....	21
II.2.3.5 1.Définition.....	21
II.2.3.5. 2.Classification Des Flavonoïdes	21
II.2.3.5.3. 3.Effets biologiques des flavonoïdes.....	23
a. Effets antioxydant	23
b. anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système immunitaire.....	23
c. Autres effets biologiques	24

CHAPITRE III : la plantes médicinal I. viscosa

III.1. Description	26
III.2. taxonomie	26
III .3. Répartition géographique.....	26
III.5. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques	27
III.6. Aspects phytochimiques.....	28

Partie Expérimentale

CHAPITRE V : Matériel et Méthodes

IV. 1.Matériel	29
IV .1.1.Matériel végétal.....	29
IV .1.2. Matériel animal.....	29
IV.1.3.Réactifs chimique.....	29
IV.2.Méthode.....	30
IV.2.1.Préparation de l'extrait végétale.....	30
IV.2.1.1.Préparation de l'extrait total aqueux.....	30
IV.2.1.2.Préparation de l'extrait total méthanolique.....	30
IV.2.3.Screening phytochimiques des l'extraits végétal.....	30

IV.2.3.1. Mise en évidence des tanins.....	30
IV.2.3.2. Mise en évidence des saponosides.....	30
IV.2.3.3. Mise en évidence du flavonoïde.....	31
IV.2.3.4. Mise en évidence des composés réducteurs	31
IV.2.3.5. Mise en évidence de l'alkaloïde.....	31
IV.3. Dosage des polyphénols totaux.....	31
IV.4. Dosage des flavonoïdes.....	32
IV.5. Les tests antioxydant	
IV.5.1 . Piégeage du radical hydroxyle	32
IV.5.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	33
IV.5.3. Peroxydation des lipides	34
IV.5.4. Test du pouvoir réducteur (Reducing Power Assay).....	35
IV.6. Méthodes d'étude de l'activité analgésique	
IV.6. 1. Test du writhing.....	36
IV.6. 1. Plaque chaude	36
IV.7. Activité Anti-inflammatoire.....	37
IV.8. Analyse statistique	37
CHPITRE V : Résultat et Discussion	
V.1. Le rendement de l'extrait	38
V.2. Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques.....	38
V.3. Dosage des composés phénoliques totaux.....	39
V.4. Dosage des flavonoïdes.....	42
V.5. Les tests antioxydant.....	
V.5.1 . Piégeage du radical hydroxyle	43
V.5.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	44
V.5.3. Peroxydation des lipides	48
V.5.4. Test du pouvoir réducteur (Reducing Power Assay).....	49

V.6. Méthodes d'étude de l'activité analgésique

V.6. 1. Test du writhing50

V.6. 2. Plaque chaude50

V.7. Activité Anti-inflammatoire.....51

Conclusion

Résumé

Référence

Liste des Abréviations :

% : pourcentage.

(P.C) : poids corporel

IO₂ : Oxygène singulier

A : Absorption.

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acide gras poly-insaturé.

AMPc : Adenosine monophosphate cyclique

BHT : Butylhydroxytoluène.

BSA : albumine bovine serum.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

CuZn-SOD : Superoxyde dismutase 1 (SOD1)

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

e⁻ : Electron

EA : extrait aqueux.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EAIV : extrait aqueux de *inula viscosa*.

EQ : Equivalent de quercétine.

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe SO₄ : Sulfate ferreux

Fe : Fer

FeCl₃ : Chlorure de fer.

FI:fibrinogène

FII:Prothrombine

FIX: Facteur anti-hémophilique B

FV:Proaccetéline

FVII:Proconvertine

FX:Sturat

FXII: Facteur Rosenthal

g:gramme.

GN : granulocyte neutrophile

GPx : Glutathion peroxydase

H+: Proton

H₂O: Eau

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ :Acide sulfurique

HCL :Acide chlorhydrique

HO₂•: Radical hydroperoxyle

I%: pourcentage d'inhibition.

K₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de potassium

K₃Fe(CN) 6 : ferricyanure de potassium

KH₂PO₄ : Phosphate de potassium monobasique

mg/g : milligramme par gramme.

MO : monocyte

MP : macrophage

NaOH : Hydroxyde de sodium

NO₃⁻: Ion peroxydrite

NOS : NO synthases

O₂^{•-} : Radical superoxyde (anion superoxyde)

OH : Radical hydroxyle

ONOO : peroxydrite.

ONOOH : Nitroperoxyde

PDF : La formation de produits de dégradation de la fibrine

PNN : les cellules polynucléaires neutrophiles

R : rendement.

RO₂^{•-} : Radical peroxyde

SD : Standard deviation.

SOD : Superoxyde dismutase

TPA : Activateur tissulaire du plasminogène

UV: Ultra-violet.

Zn : Zinc

Liste des Figures :

Figure 1 : La réaction inflammatoire schématisée	2
Figure 2 : Représentation des mécanismes de la coagulation sanguine	5
Figure 3 : Synthèse des leucotriènes, des prostaglandines et des thromboxanes à partir des phospholipides membranaires	7
Figure 4 : les différents dérivés toxiques de l'oxygène (en haut) et de (en bas) .les composés les plus réactifs sont mis en exergue	8
Figure 5 : mécanisme d'action des AINS	11
Figure 6 : Structure chimique d' α -tocophérol	16
Figure 7 : L'acide ascorbique	16
Figure 8 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique.	17
Figure 9 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	17
Figure 10 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe	19
Figure 11 : Effets biologiques des polyphénols	20
Figure 12 : Structure générale du noyau des flavonoïdes	21
Figure 13 : Réaction des flavonoïdes avec les EOR	23
Figure 14 : Aspect morphologique de la plante inula viscosa	27
Figure 15 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [86].	34
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque point de la courbe représente la moyenne \pm SEM (n = 3).	40

Figure 17 :Quantité des phénols totaux dans l'extraitaqueux et l'extrait méthanolique d'acide galique	40
Figure 18 : Courbes d'étalonnage de la quercétine et rutine	41
Figure19 : Teneur en flavonoïdes totaux de <i>I. viscosa</i> Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).	42
Figure 20 : Piégeage du radical hydroxyle de extrait EAIV ;EMIV et VC.	43
Figure 21 : pourcentage d'inhibition de BHT.	45
Figure 22 .pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de <i>I. viscosa</i> .	45
Figure 23 : pourcentage d'inhibition de l' extrait Méthanolique de <i>I. viscosa</i> .	46
Figure 24 : La concentration (IC50) d'extrait d' <i>I. viscosa</i> et de BHT qui inhibent 50 % du	46
Radical DPPH Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD	46
Figure 25 : Principaux éléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes.	47
Figure 26 : pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de <i>I. viscosa</i>	48
Figure 27 :Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux et méthanolique de <i>I. viscosa</i>	48
Figure 28 : pouvoir réducteur de extrait EAIV ;EMIV et VC.	49

Liste des Tableaux :

Tableau 1. les cellules de l'inflammation	3
Tableau 2. Les principaux composés du burst oxydatif, les cellules productrices et leurs effets. GN : granulocyte neutrophile, MO : monocyte, MP : macrophage	7
Tableau 3 . les différent espèces radicalaires impliquées dans le stress Oxydant	13
Tableau 4. Principales sources de production des radicaux libres	13
Tableau 5. Principaux modes d'action de quelques antioxydants	14
Tableau 6. Les principales classes des flavonoïdes	22
Tableau 7. Taxonomie de <i>Inula Viscosa</i>	26
Tableau 8. Quelques usages traditionnels de l' <i>inula Viscosa</i>	28
Tableau 9 . Le rendement de l'extrait de <i>I. viscosa</i>	38
Tableau 10. Analyse Phytochimiques préliminaire d'extrait aqueux d' <i>Inula Viscosa</i>	39
Tableau 11. Effets de l'Acide salicylique et l'extrait aqueux d' <i>I.Viscosa</i> sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les rats.	50
Tableau 12. Le teste de plaque chauffante dans l'extrait aqueux d' <i>Inula Viscosa</i> par rapport à l'acide salicylique	50
Tableau13. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA	51

Introduction

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations[1].

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine et aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soignent uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes [2].

Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde [3].

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et d'activité biologique. Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principe actifs et en substances telles que les poly phénols et les flavonoïdes qui sont dotées des propriétés importantes et différentes. Notre travail s'insère dans les programmes de recherche développés par le laboratoire de biologie et environnement pour la valorisation des ressources naturelles et leurs propriétés biologiques. Dans notre cas d'où nous avons choisie d'étudier une plante médicinale algérienne c'est *Inula viscosa*[4].

Le premier chapitre explique les principaux mécanismes et les manifestations cliniques et biologiques de la réaction inflammatoire et analgésique les points d'impacts des thérapies anti inflammatoires [6].

Le deuxième chapitre du présent travail porte sur une étude le rôle toxique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques. Les espèces oxygénées réactives (EOR) ont une grande capacité d'endommager presque tous les types de constituants cellulaires dans l'organisme, ce qui explique leur implication dans l'induction et/ou l'amplification de plusieurs pathologies [5].

Le troisième chapitre est consacré à l'étude botanique et description botanique de la plante et aux propriétés biologiques de *L'Inula viscosa*[1].

La deuxième partie de notre travail concernera la partie expérimentale de cette étude, avec une présentation des différentes techniques d'analyse utilisées au cours de ce travail et présentation des résultats obtenus qui seront suivis d'une discussion et d'une conclusion générale.

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I :

***L'inflammation et
Radiaux Libres***

I.1. Les mécanismes de l'inflammation

I.1.1. Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend :

des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général [6].

des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation.[6] .

La réponse inflammatoire peut être divisée en trois phases [4] :

- Une phase **d'initiation** qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires.
- Une phase **d'amplification** avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.
- Une phase de **résolution** et de **réparation** qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé.

(figure 1) :

L'inflammation est un mécanisme mis en jeu pour favoriser l'élimination de l'infection et/ou la réparation des tissus lésés. C'est un processus normalement véhiculé par des cellules dites inflammatoires telles que les macrophages et les neutrophiles mais aussi par les cellules endothéliales[7]. **(figure 1)**.

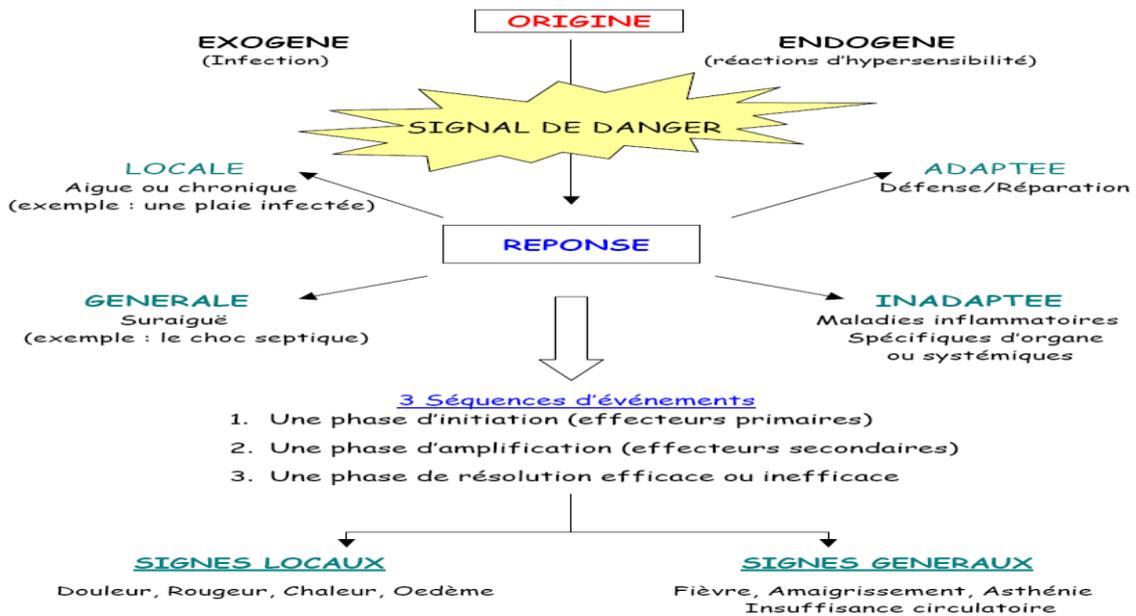


Figure 1 : La réaction inflammatoire schématisée [6].

I.1.2. Les causes de l'inflammation

Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher

L'inflammation:

- infection contamination par des micro-organismes (bactérie, virus, parasites,

Champignons)

- agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations
- agents chimiques : caustiques, toxines
- corps étrangers : exogènes ou endogènes
- défaut de vascularisation: réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par Ischémie.

- agression dys-immunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto – immunité ...) [5,10].

I.1.3. les cellules de l'inflammation**Tableau 1** : les cellules de l'inflammation

Les cellules	Définition
Les granulocytes	Les granulocytes sont les cellules les plus nombreuses dans le sang périphérique [8]. Ils regroupent les polynucléaires neutrophiles (PNN), éosinophiles et basophiles [8,12] qui contiennent des médiateurs chimiques de l'inflammation, en particulier l'histamine et héparine [10].
Les monocytes et les macrophages Les monocytes	représentent 2 à 10 % des leucocytes. Ce sont des cellules jeunes qui possèdent toutes les activités migratoires, chimiotactiques, phagocytaires et nécessaires à leur fonction. A terme, ils migrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages tissulaires multifonctionnels [8]. Les monocytes et macrophages sont des cellules phagocytaires. Ils libèrent des espèces réactives de l'oxygène. qui contiennent des médiateurs chimiques de l'inflammation [13, 12]
Les lymphocytes	Il existe deux populations de lymphocytes (B et T) dont les rôles sont fondamentalement différents. Les lymphocytes B sont essentiellement impliqués dans la synthèse d'anticorps et dans l'immunité spécifique. Les précurseurs des lymphocytes T donnent naissance à des lymphocytes CD4 (régulateurs) et CD8 (cytotoxiques ou suppresseurs). Les lymphocytes interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par leur production de différentes cytokines [10].

<p>Les mastocytes</p>	<p>et les basophiles Les polynucléaires basophiles partagent par bien des aspects certaines des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des éosinophiles.</p> <p>Les mastocytes et les basophiles sont impliqués dans l'initiation du phénomène inflammatoire et le recrutement des cellules immunes. Plus tardivement, ils constituent également une source de cytokines : les mastocytes libèrent des cytokines pro-inflammatoires tandis que les basophiles sécrètent essentiellement des cytokines régulatrices [8].</p>
<p>Les cellules endothéliales</p>	<p>vasculaires L'intégralité de l'appareil cardiovasculaire est tapissée d'une monocouche de cellules endothéliales (l'endothélium), régulant l'ensemble des étapes impliquées dans le transport transendothélial des leucocytes au niveau du foyer inflammatoire [8].</p>

I.1.4. Les médiateurs de l'inflammation

La description des cellules intervenant au cours de l'inflammation laisse imaginer le nombre important de médiateurs intervenant dans les différentes étapes de l'inflammation. Ces médiateurs peuvent être décrits sous la forme d'une part de systèmes d'activation plasmatique et d'autre part de médiateurs cellulaires.

I.1.4.1. les systèmes d'activation plasmatique

a. Les systèmes coagulation et fibrinolyse.

La présence de dépôts de fibrine intra vasculaires et extravasculaires interstitiels est quasi constante au cours de l'inflammation. La formation de ces dépôts et leur importance relèvent d'un déséquilibre entre :

- le système de la coagulation dont la mise en jeu aboutit à la formation de thrombine qui déclenche la formation de fibrine à partir du fibrinogène.
- et le système de la fibrinolyse qui aboutit à la formation de la plasmine qui détruit la fibrine par protéolyse[10].

Au cours de l'inflammation, (**figure 2**) le système de la coagulation est principalement activé par sa voie extrinsèque, c'est-à-dire par l'action de la thromboplastine tissulaire exprimée à la faveur d'une lésion tissulaire à la surface des monocytes et des cellules endothéliales. La

fibrine intervient dans la réaction inflammatoire en stimulant l'activité des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes et des cellules endothéliales. Les mécanismes de coagulation sont régulés par plusieurs inhibiteurs : surtout antithrombine III mais aussi alpha-2-macroglobuline, héparine, alpha-1-antiprotéase. Le système de la fibrinolyse assure la dissolution des dépôts de fibrine intravasculaires ou tissulaires. La plasmine est issue de l'activation du plasminogène sous l'action de l'activateur tissulaire du plasminogène (TPA). L'activité du TPA s'exprime dès qu'il est fixé à la fibrine. La formation de produits de dégradation de la fibrine (PDF) participe également à l'activation des différentes cellules de l'inflammation. Le système fibrinolytique est régulé par divers inhibiteurs de l'activation du plasminogène mais aussi par la plasmine elle-même [10].

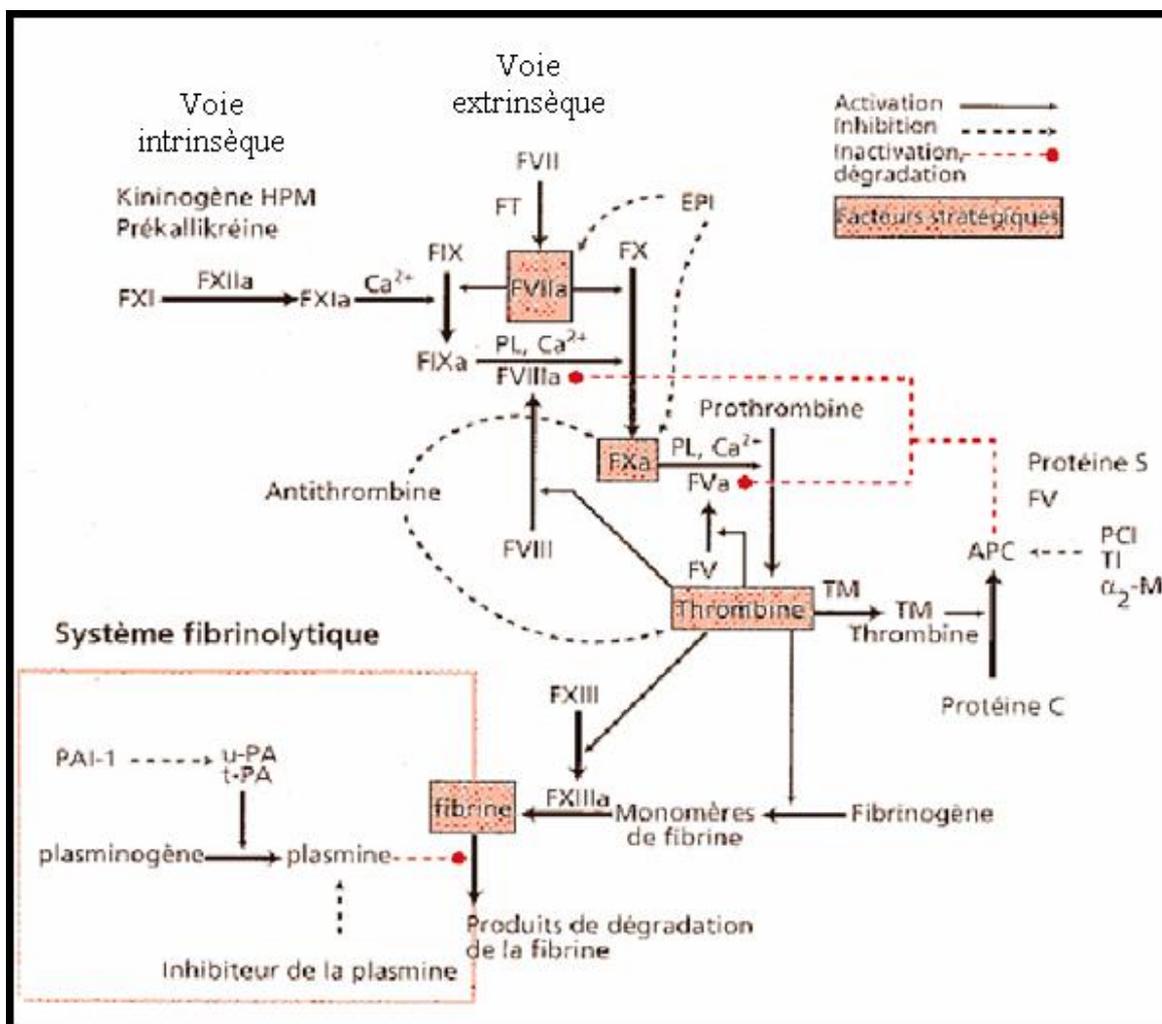


Figure 2 : Représentation des mécanismes de la coagulation sanguine [22].

a. Le système du complément

Le système du complément est un système multiprotéique fait d'une trentaine de protéines ou composants, intervenant à la fois dans les mécanismes de défense antibactérienne en complétant l'action des anticorps et dans les mécanismes de l'inflammation. Les composants du complément s'articulent suivant deux voies dites voie classique (comportant C1, C4 et C2) et voie alterne (C3, B et D) se rejoignant au niveau de C3 en un tronc commun terminal dont l'activation aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire à action cytolitique. Si la réaction complémentaire est essentielle dans les mécanismes de défenses antibactériennes, son déclenchement génère des produits d'activation actifs dans l'inflammation. Ces produits d'activation sont pour la plupart des produits de clivage des composants de la réaction complémentaire :

- Les anaphylatoxines C3a, C4a et C5a sont des polypeptides issus respectivement du clivage de C3, C4 et C5. Ces polypeptides suscitent l'anaphylaxie par la mise en jeu du système IgE-basophiles/mastocytes. Par la libération d'histamine, C3a augmente la perméabilité vasculaire. C5a est une puissante chimiokine pour les polynucléaires et un inducteur de la production et de libération d'IL1 par les macrophages, de la libération des lipooxygénases et des cyclooxygénases par différentes cellules.
- C3b intervient dans l'opsonisation et la phagocytose. L'activation du complément intervient dans de nombreuses maladies inflammatoires générales : glomérulonéphrites, maladies à complexes immuns, maladies par auto-anticorps [21].

b. le système des kinines

Kinines Sont générées à partir de précurseurs inactifs (les kininogènes) clivés par des protéases : les kallikréines. Les kallikréines plasmatique sont activées par le facteur de Hagemann (XIIa) de la coagulation. La bradykinine (peptide de 9 acides aminés) est la kinine la plus active. Elle agit sur l'endothélium en causant vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire, et sur les terminaisons nerveuses en favorisant la douleur [10,14].

I.1.2.2. les médiateurs cellulaires

a. L'Histamine

L'histamine est synthétisée essentiellement dans les basophiles et les mastocytes [10,29], dont l'action biologique se traduit par une augmentation de la perméabilité capillaire et une broncho striction [29], L'histamine participe aux phénomènes de vasodilatation [10].

b. Métabolisme de l'acide arachidonique

Ce sont des composés à 20 atomes de carbone qui dérivent de l'acide arachidonique. L'acide arachidonique est libéré à partir des phospholipides membranaires des cellules inflammatoires sous l'action des phospholipases A2 [29].

Deux grandes variétés d'enzyme interviennent sur le métabolisme de l'acide arachidoniques (**Figure 3**) : les lipooxygénases induisent la formation des leucotriènes : les cyclooxygénases génèrent la formation des prostaglandines et des thromboxanes [29].

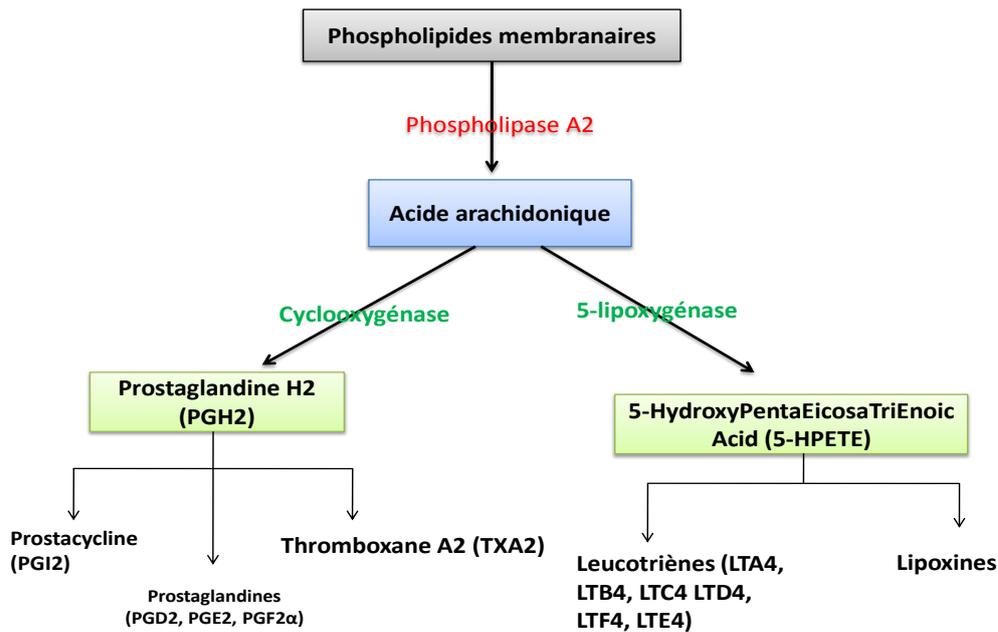


Figure 3 : Synthèse des leucotriènes, des prostaglandines et des thromboxanes à partir des phospholipides membranaires [8].

a. Les radicaux libres

Les phénomènes de phagocytose par les polynucléaires neutrophiles induisent une augmentation de la consommation d'oxygène par ces cellules, à l'origine de la formation de radicaux libres oxygénés : superoxydes $O_2^{\cdot-}$, eau oxygénée H_2O_2 et radicaux hydroxyles OH^{\cdot} . Ces radicaux libres sont potentiellement toxiques, capables de désorganiser les membranes cellulaires et de favoriser la cytolyse (**tableau 2**) [14].

Tableau 2 : Les principaux composés du burst oxydatif, les cellules productrices et leurs effets. GN : granulocyte neutrophile, MO : monocyte, MP : macrophage [14].

Molécule produite	Type cellulaire	Effets
O_2^\bullet , OH^\bullet , H_2O_2	MP, MO, GN	Oxydation globale des protéines et acides Nucléiques
HOCl	GN	Oxydation et halogénéation
$ONOO^-$	MP, MO, GN	Nitration des tyrosines
NO^\bullet	MP, MO, GN	Cible des enzymes virales

• Le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre produit par oxydation de l'arginine sous l'action d'une famille d'enzymes : les NO synthèses ou NOS. L'activation de certaines NOS inductibles au cours de l'inflammation génère des quantités importantes de NO. Le NO possède des propriétés inflammatoires [14].

• l'anion Superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) produit par réduction du dioxygène, les $O_2^{\bullet-}$ synthèses ou NADPH oxydase. Il est converti en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par superoxyde dismutase (SOD) des réactions (de Fenton et Haber-Weiss) mettant en jeu les ions Fe^{2+} transformant H_2O_2 en radical Hydroxyle OH^\bullet et anion Hydroxyl OH^- . Les granulocytes neutrophiles sont les seuls à posséder une enzyme la Myéloperoxydase qui transforme H_2O_2 [14].

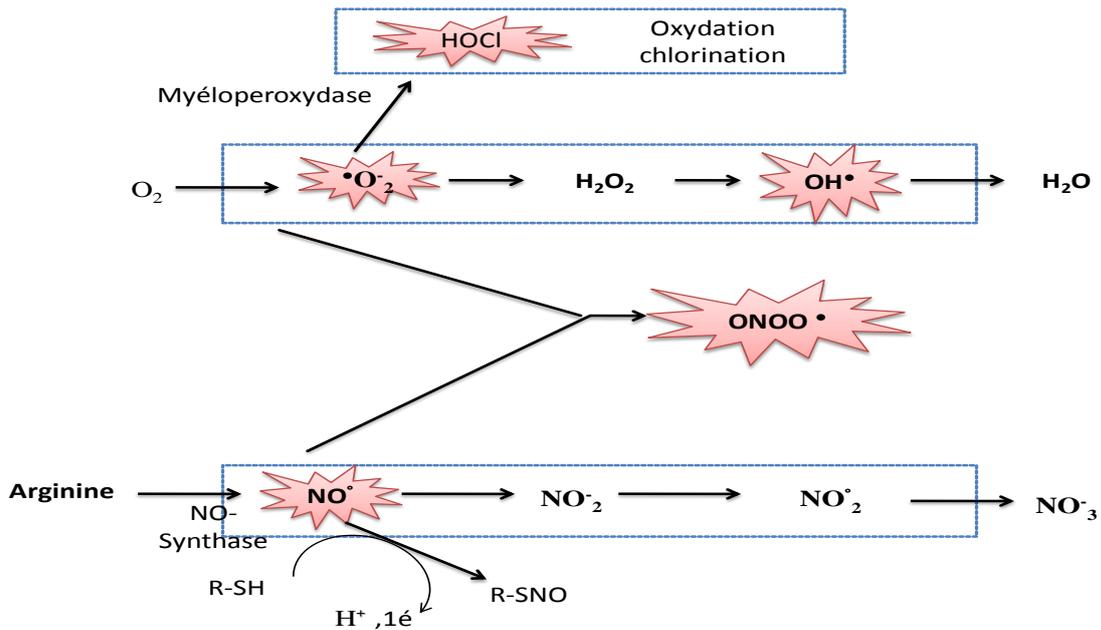


Figure 4 : les différents dérivés toxiques se l'oxygène (en haut) et de (en bas) .les composés les plus réactifs sont mis en exergue [14].

a. Cytokines et chimiokines

Cytokines et chimiokines Fonctions. Les cytokines peuvent être regroupées en classes, en dépendance de leurs fonctions principales [15].

- Cytokines qui contrôlent l'immunité naturelle comme la réaction inflammatoire (IL-1, IL-6, TNF), les chimiokines qui activent la diapédèse des leucocytes, et les interférons α et β , qui inhibent la croissance des virus [8,15].

- Cytokines qui contrôlent la réponse immunitaire. Elles sont par exemple IL-2, IL-4, IL-12, interféron- γ avec effets positifs (stimulation), IL-10, TGF- β avec effets négatifs (inhibition) [15].

- Cytokines qui stimulent l'hémopoïèse et la croissance d'autres tissus (par exemple IL-3, IL-7, Facteurs de croissance (GF), Transforming Growth Factors (TGF) [10,15].

I.1.5. Notions d'inflammation aiguë et d'inflammation chronique

I.1.5.1. Inflammations aiguës

L'inflammation est une réaction généralement bénéfique[4,9] pour l'organisme puisqu'elle lui permet de se défendre contre une agression, et de réparer dans un deuxième temps,

Le tissu lésé. On parle dans ce cas de réponse inflammatoire « aiguë » [9].

Elle s'agit d'une réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante [5]

I.1.5.2. Inflammations chroniques

Inflammations chroniques n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.

- Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes, ou d'infections où les mécanismes dys-immunitaires sont prépondérants (exemple : hépatite chronique active secondaire à une infection par le virus de l'hépatite B ou C) [5].

I.2. Anti-inflammatoires

Se sont des médicaments qui limitent l'amplitude et la durée des réactions inflammatoires, ils atténuent les signes de l'inflammation. Il existe deux types d'anti-inflammatoires [16]:

I.2.1. cortisone et corticoïdes

I.2.1. 1. Définition

La cortisone est l'hormone anti-inflammatoires naturellement fabriquée par les surrénales, glandes endocrines situées au-dessus du rein. Elle a une structure chimique de type « stéroïdiens ».

Les dérivés synthétiques, ou corticoïdes, ont une structure chimique proche de cortisone. Ils sont nettement plus efficaces et plus faciles d'emploi que la cortisone [16,17].

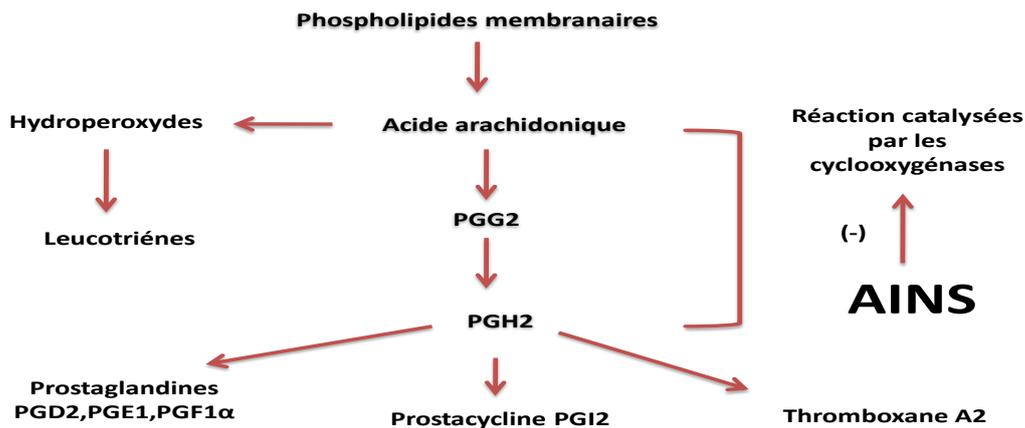
I.2.1. 2. Mode d'action

Les corticoïdes agissent sur de nombreux métabolismes et fonctions de l'organisme. Ils augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes[87].

I.2.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

I.2.2. 1.Définition

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial [19]. 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 5**). 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 [18]. 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'hypo perfusion 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 [19].



Fi

Figure 5 : Mécanisme d'action des AINS [18].

I.2.2.2. Mécanisme d'action

- **Action analgésique** : l'action analgésique des AINS s'exerce à la fois au niveau périphérique et au niveau central, mais est habituellement associée à leur effet anti-inflammatoire et résulte enflammés. Les prostaglandines induisent peu de douleurs en elles-mêmes mais stimulent la douleur induite par d'autres médiateurs de l'inflammation (ex : histamine, bradykinine) [20].
- **Effet anti-inflammatoire** : le rôle des prostaglandines dans l'inflammation est de produire une vasodilatation et d'augmenter la perméabilité vasculaire. Cependant, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS atténue davantage l'inflammation plus qu'elle ne la supprime car les AINS n'inhibent pas d'autres médiateurs de l'inflammation, l'effet anti-inflammatoire relativement modeste des AINS donnés à la plus part des patients présentant une arthrite rhumatoïde, soulagent parfois la douleur, la raideur et le gonflement mais ne modifient pas le cours de la maladie [20].

Chapitre II :
les Radiaux Libre et
Antioxydants

II.1. Radicaux libres biologiques

II.1.1. Qu'ès ce qu'un radicaux libre ?

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) en contenant un ou Plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante [2,36]. Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN) [2]. La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) [2,36] et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices [2]. Les ROS sont capables de provoquer des dommages oxydatifs à l'ADN ainsi qu'aux protéines et lipides de la cellule. Ce sont ces dommages qui sont considérés comme étant à l'origine du vieillissement et des nombreuses pathologies qui lui sont associées [25]. Les plus communs sont l'anion superoxyde (O_2°), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles(OH) [25, 26].

II.1.2. Différents types des radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /où un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe [24]. Parmi les composés oxydants formés après réduction de l'oxygène que nous respirons. On distingue [2 ,24] :

- a. **Les radicaux libres primaires** : ils dérivent directement de l' O_2 par une réaction de réduction [2, 24].
- b. **les radicaux libres secondaires** : ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires [2,24].
- c. **Les espèces actives de l'oxygène** : ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres [2].

Tableau 3 : les différents espèces radicalaires impliquées dans le stress Oxydant

Les radicaux libres primaires et secondaires	Les espèces actives de l'oxygène
<p>RO₂[°] : Radical Peroxyl</p> <p>O₂[°] : Radical Superoxyde</p> <p>OH[°] : Radical Hydroxyle</p> <p>HO₂[°] : Radical Perhydroxyle</p> <p>RO[°] : Radical Alkoxyde</p> <p>ROOH : Hydro peroxyde Organique</p> <p>NO[°] : Monoxide D'azote</p>	<p>ONOOH : Nitroperoxyde</p> <p>1/O₂ : Oxygène singule</p> <p>ONOO[°] : Peroxynitrite</p> <p>H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène</p>

II.1.3. Origine de production des ERO

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène [23, 27]. Parce que l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés [27]. Les autres sources de production de radicaux libres sont représentées dans le tableau [23,24]. Elles sont classées en deux catégories [23, 27, 25] (**Tableau 4**) :

Tableau 4 : Principales sources de production des radicaux libres [27].

Sources endogènes	Production de radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries)
	Cellules phagocytaires
	Métabolisme de l'acide arachidonique
	Système xanthine/Xanthine oxydase
Sources exogènes	Rayonnement électromagnétique
	Métaux de transition
	Pesticides
	Médicaments...

II.1.4. Dommages oxydatives des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires augmente anormalement et par une diminution des défenses antioxydants [23,50]. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » [23]. Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés; Lipides, protéines, glucides et ADN [36]. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro- dégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus [23,36].

II.2.1. Les systèmes antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la Surproduction d'ERO et d'ERN [2]. Les antioxydants sont définis par **HALLIWELL (1999)** comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat » [27]. Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine [2].

II.2.2. Modes d'action des antioxydants

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant dont Les mécanismes d'action sont différents [23,27] (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Principaux modes d'action de quelques antioxydants [27].

	NATURE	MODE D'ACTION
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	piéger des radicaux libres
	Vitamine C	piéger des radicaux libres
	Bêta carotène	piéger des radicaux libres
	Bêta carotène	piéger des radicaux libres
	Bêta carotène	Fixation des métaux de Transition
	acide urique...	piéger certains radicaux libres
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydro peroxydes

II.2. 2. 1. Défenses enzymatiques

Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase. Et la peroxydase, capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives [2].

a. Le superoxyde dismutase (SOD)

Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en Oxygène [2,23].

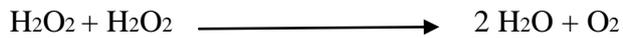


Il existe plusieurs iso enzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu leur métallique, structure quaternaire et leur localisation cellulaire [2 ,26]. Il y a

3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie ; Dans l'être humain [23 ,26].

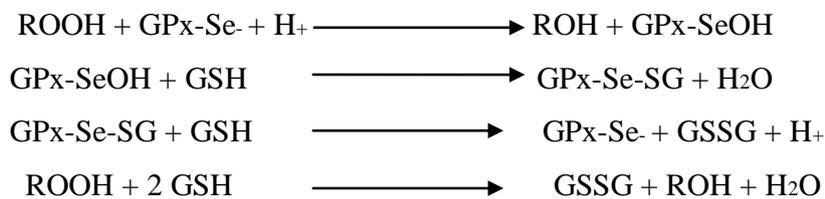
b. Catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes [2,23]. Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂.



c. Glutathione peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol (cGPx) et la matrice Mitochondriale [23]. Dans le plasma (pGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et on retrouve une isoenzyme qui est spécifique aux cellules digestives (GIGPx) [2]. Elles fonctionnent toutes selon le mécanisme catalytique suivant [2,23] :



II.2. 2. 2 Défenses non enzymatiques

Elle incluse tous les antioxydants capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc.... [23,26]

a. La vitamine E

La vitamine E (**Figure 6**) est un antioxydant liposoluble majeur [28], sous forme d' α -tocophérol, se localise surtout dans la membrane externe des mitochondries et dans celle du réticuline endoplasmique .Elle est présente dans tous les organes , à l'exception du cerveau .C'est dans le foie , le cœur ,les reins, les pommons ,la rate ,les muscle squelettiques et le tissu adipeux que son activité est la plus forte [29],connu notamment pour empêcher La réaction de peroxydation lipidique [23, 28 ,30] .



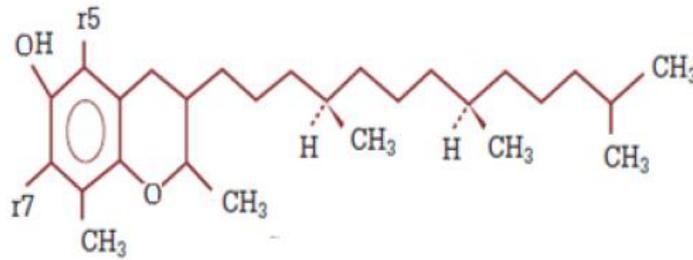


Figure 6 : Structure chimique d'α-tocophérol[86].

b. La vitamine C

La vitamine C (**Figure 7**) est un antioxydant hydrosoluble [29,31], qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire [29] mais dans muscle et le foie ont les concentrations les plus faibles [31]. Elle peut piéger directement l'anion super oxyde (O_2°), le radical hydroxyle (**OH**), l'oxygène singulier [29, 30,28] et réduit peroxyde d'hydrogène en eau via l'acrobate peroxydase [8]. En plus, Elle permet la régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E [29, 28] (**Figure 8**). La vitamine C réduire le radical α-tocophérol qui permet une bonne efficacité de la vitamine E [29].

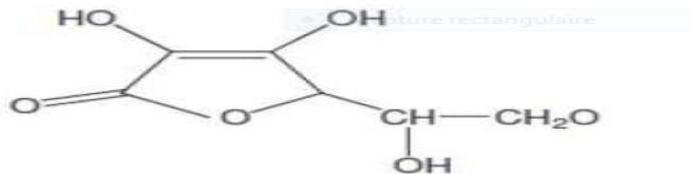


Figure 7 : L'acide ascorbique[86].

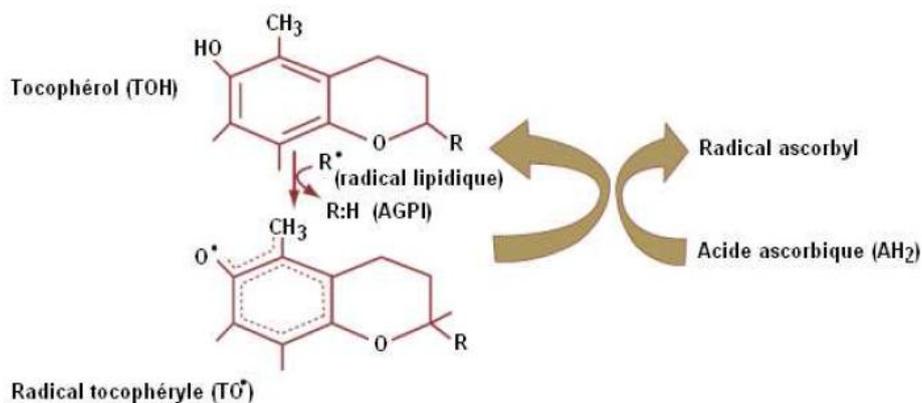


Figure 8 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la Peroxydation lipidique [86].

c. *Acide urique*

L'acide urique est un antioxydant connu pour se lier avec le fer, le cuivre et piéger certains radicaux libres. L'augmentation de la concentration en acide urique plasmatique, qui dans différents types d'exercices intenses (aérobies ou anaérobies), résulterait d'une accélération du métabolisme des purines au niveau du muscle avec activation de la xanthine oxydase, enzyme bien connue pour produire des radicaux libres [28].

d. *Caroténoïdes*

L'activité antioxydant de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure [30]. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres ($ROO\cdot$, $R\cdot$) par 3 mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron et addition du radical [31]

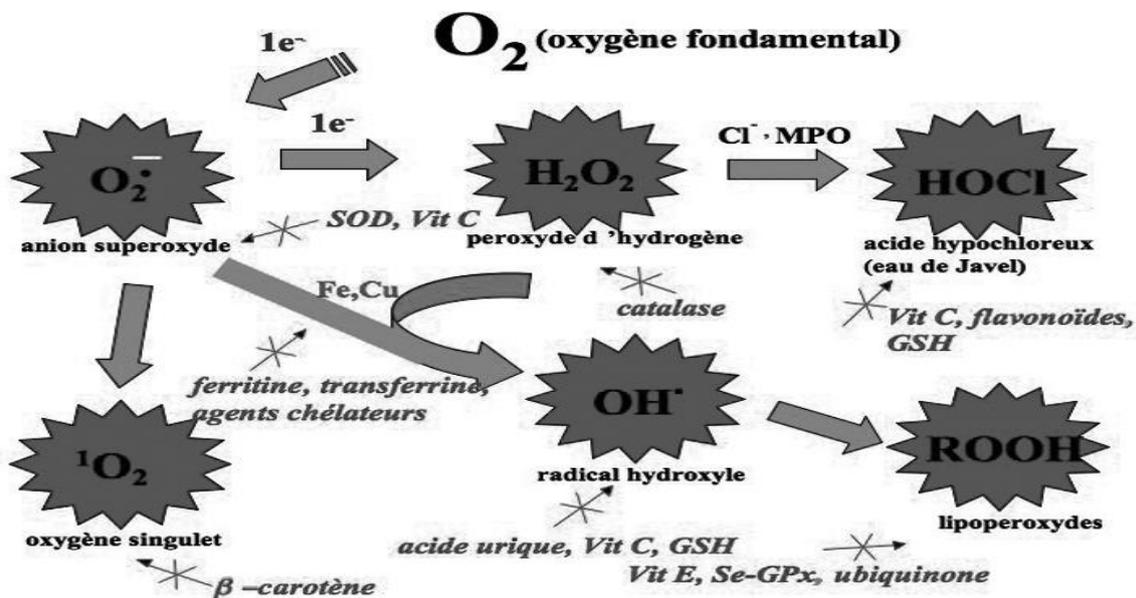


Figure 9 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production [15].

II.2. 3.Composés phénoliques

II.2. 3.1.Définition

Les antis oxygène les plus couramment rencontrés dans les plantes sont les polyphénols [29], sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant sont groupements hydroxyles libres au engagés avec des glucides [34]. il sont synthétisées par les végétaux [29, 33] et appartiennent alleur métabolisme secondaire .il ont responsable de la défense des plantes contre les agressions environnementales [29].

II.2.3.2. Classes des polyphénols

Les polyphénols sont répartit en plusieurs classes [36,41] :

- Les phénols simples (C6): un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C6-C1). Les flavonoïdes (C6-C3-C6): 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable.
- Les stilbènes (C6-C2-C6).
- Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.
- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)

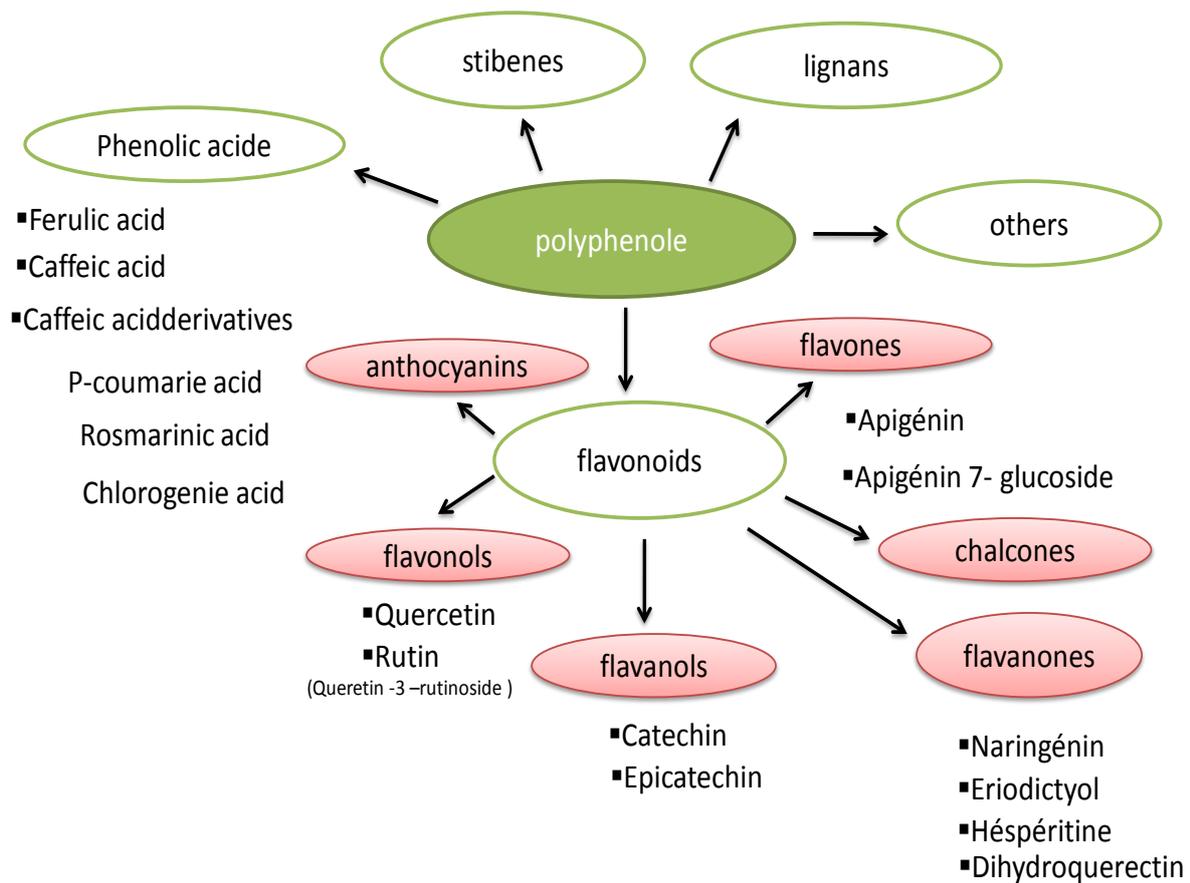


Figure 10 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe [37].

II.3. Biosynthèse des polyphénols

II.3. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate

- a. *La voie l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples [38,36].*
- b. *La voie de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones [39].*

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine Biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux Voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes [40].

II. 4. Effets biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydants en raison de leur capacité à piéger, Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, le processus est radicalaire [36].

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique [42]. De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires. Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydant du plasma dans les heures qui suivent le repas [43]. 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 [44]. Ces composés montrent des activités [45,46], anticarcinogènes antioxydantes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux [47], anti-allergènes, vasodilatateurs [48,49] (figure 8).

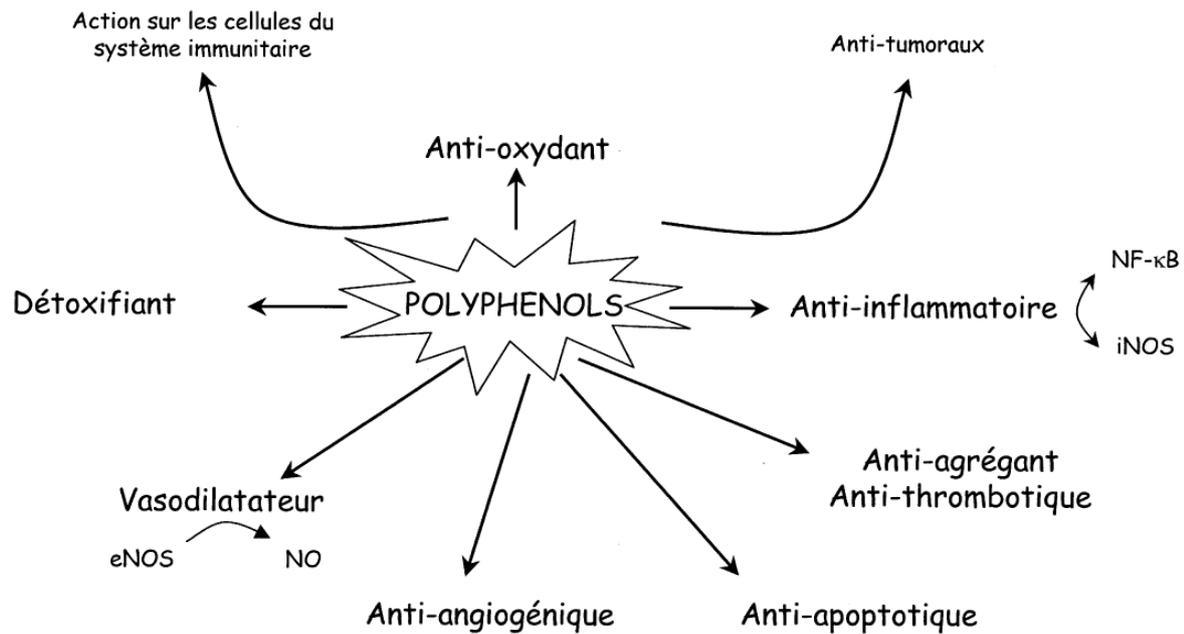


Figure 11 : Effets biologiques des polyphénols [40].

II.2.3.5. Les flavonoïdes

II.2.3.5. 1. Définition

Les flavonoïdes représentent un groupe de plus de 6000 composés naturels [36]. Appartenant à la famille des polyphénols [50]. Ils constituent des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles [36,50]. Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6) [36,51].

II.2.3.5. 2. Classification Des Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone (figure 9), fait de deux cycles benzéniques C6 reliés par une chaîne en C3[52]. Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone[50]. Les flavonoïdes possèdent 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines [53,54].

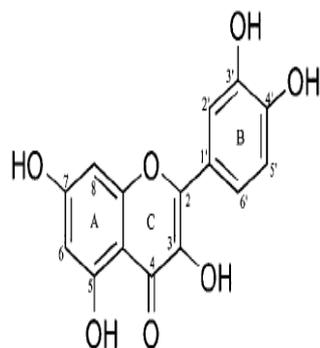


Figure 12 : Structure générale du noyau des flavonoïdes [53].

Tableau 6 : Les principales classes des flavonoïdes [53].

Les flavonoïdes	Exemples	Aliments
<p>Flavonols</p>	Kamphérol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
<p>Anthocyanes</p>	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges
<p>Flavanols</p>	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
<p>Flavanones</p>	Naringénine	Citrus
<p>Isoflavonols</p>	Daidzéine	Soja

II.2.3.5. 3.Effets biologiques des flavonoïdes

❖ Effets antioxydant

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée [55]. aux propriétés antioxydants des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les RL comme le super oxyde, le radical peroxyde, le radical alkoxyde et le OH[•] par transfert d'hydrogène [56] (**Figure 10**), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme[51].

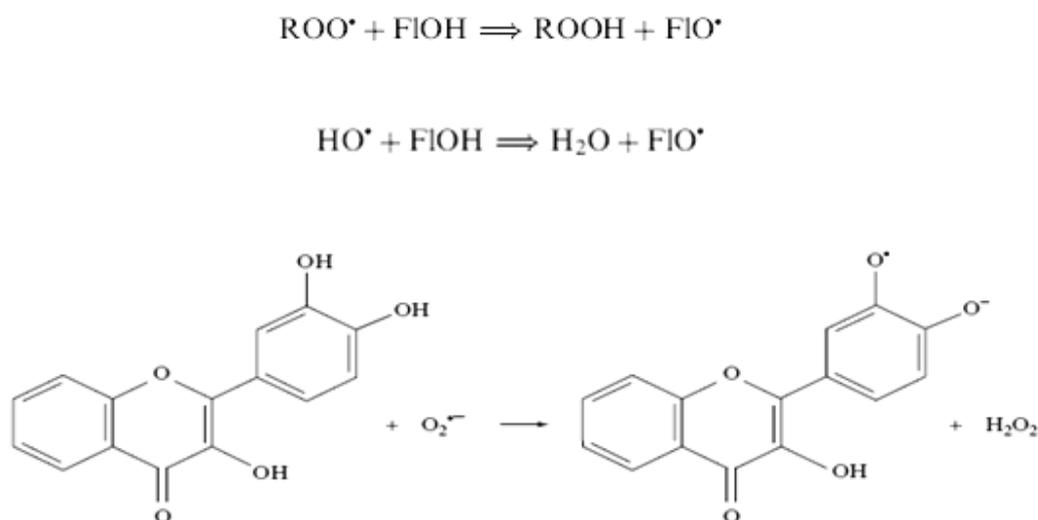


Figure 13 : Réaction des flavonoïdes avec les EOR [57].

❖ Anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système immunitaire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires [58, 59,60] et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [61]. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [62,36]. 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) [62]. Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [64]. 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 [65]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [66]. 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. En effet, l'accumulation d'AMPC plaquettaire semble interférer avec la mobilisation de Ca^{2+} impliqué dans l'agrégation de ces cellules [67].

a. Autres effets biologiques

Les flavonoïdes seraient impliqués dans la prévention des cancers, Ajoutés au régime de divers animaux de laboratoire, ils limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse [68]. Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents suppresseurs de tumeurs [69]. Les mécanismes impliqués peuvent là encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose [68], inhibition de l'angiogenèse. Les preuves de leurs effets chez l'homme restent cependant encore insuffisantes. Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer [49]. Les flavonoïdes pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormonodépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des œstrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-œstrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des polyphénols tels la quercétine de l'oignon ou le kaempférol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-œstrogéniques ou inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomies [70]. Là encore, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme [52].

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale semble être associée aux composés non glycosylés et l'hydroxylation en position 3 est apparemment nécessaire à cette activité.

[55]. Ainsi, une activité microbiennes via 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[52] ont évalué l'effet des flavonoïdes donnés par voie orale pendant 14 jours, vis-à-vis la toxicité hématologique et hépatique du cyclophosphamide et de la vinblastine, ainsi que la toxicité hépatique du paracétamol. Chez les rats prétraités par les flavonoïdes il apparaît une nette amélioration dans les effets toxiques [71]. La quercétine et la rutine une fois administrées oralement aux souris hyper-uricémiques induites par l'oxonate de potassium, réduisent les niveaux d'acide urique dans le sérum, les cataractes diabétiques. Une étude clinique pour son utilisation dans le traitement du sida. [40]. Les flavonoïdes sont in vitro des inhibiteurs enzymatiques, des élastases et des collagénases sont de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase. Quant à (lutéolol, apigénol, chrysin, etc.) inhibent la cyclo-oxygénase donc de la biosynthèse des prostaglandines. Ce qui peut expliquer l'activité anti-inflammatoire des flavonoïdes [72]. Cet effet est dû à l'inhibition de certaines enzymes (lipoxygénase, phospholipase, cyclooxygénase) impliquées dans leur biosynthèse [73]. L'activité anti-tumorale de plusieurs flavonoïdes comme la quercétine, est attribuée à leur efficacité d'inhiber la topoisomérase I et II [55]. Les flavanols (catéchines et procyanidines) peuvent moduler l'expression de nombreux gènes régulés par le facteur de transcription NF- κ B [49,73].

Chapitre III :
Plante Médicinale
Inula . Viscosa

III.1. Description

Inula Viscosa (L) est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, a odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (composées), elle peut atteindre 50cm a 1m de hauteurs et présente de capitules à fleurs jaunes très nombreuses au sommet de la tige. Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës, rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre [74].

III.2. Taxonomie

Sa taxonomie est configurée dans le (tableau 7):

Tableau 7 : Taxonomie d' *Inula Viscosa* [74].

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnolipsida
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Viscosa</i>
Noms vernaculaires	MAGRAMANE ou AMAGRAMANE. (En Afrique du Nord)



A. LA FEUILLE



B . LA FLEURE



C.la partie aérienne

Figure 14 : Aspect morphologique de la plante *Inula . Viscosa*

III .3. Répartition géographique

Répandue dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau [74], largement répandue en Algérie dans les rocailles et les terrains argileux [75].

Inula viscosa (L) Aiton .(=*pittrichia Viscosa*(L) Greuter),Asteraceae,est une plante herbacée

III.5. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

vivace topique utilisée dans la médecine traditionnelle .comme anti-gale, anti-inflammatoire[76] elle est connue pour ses propriétés antiseptiques et son efficacité contre les inflammations de la peau[77] antilytique rénal, diurétique, antihypertensive [78].*l'inule*

visqueuse est un désinfectant ,un cicatrisant ,et un déodorant de premier ordre ,elle est également employée contre les affections pulmonaires et maux de tête [79].les feuilles de *l'inula viscosa* secrètent un mélange résines tout en long de la durée de vie des feuilles.ces exsudats se composent de plusieurs Flavonoïdes aglycones, ainsi que de nombreux, terpenoïdes. Ils montrent une forte activité allélopathique ainsi que contre l'effet inhibiteur des micro-organismes phytoathogènes[80].

L 'inule visqueuse possède une activité biologique (antimicrobienne et antifongique elle a été utilisée couramment pour prolonger la durée de conservation de nourriture et dans la médecine traditionnelle [81].Les parties aériennes de la plante sont employées décoction dans le traitement du diabète, de l'hypertension et des maladies rénales dans les secteurs méditerranéen, Elle a été employée dans la médecine traditionnelle pour ses activités antipyrétique, antiseptiques, anti inflammatoires [82].

Tableau 8 : Quelques usages traditionnels de *l'inula viscosa*

La plante	Pays	Partie utilisée	voie	Usages	Réf
I. Viscosa	Espagne	Plante entière	cutanée	Traitement de gastroduodéal	[75, 84,85]
	Maroc			Traitement de l'HTA	
	Algérie	Parties aériennes		Antifongique, Antibactérienne, et anti diabétique	

III.6. Aspects phytochimiques

Les travaux de rapportent que les parties aériennes de *Inula viscosa* contiennent des Flavonoïdes, des acides sesquiterpéniques et des triterpènes esters.

Les racines contiennent de nombreux composés :

- L'Inuline
- L'Helénine ou camphre d'Aunée
- de la Paraffine- 3 sesquiterpènes essentiels : l'Alantole, l'Alantolactone et l'Acide Allantique.

La plantes contient d'autres substances dites mineures comportant des résines et des pectines constituant une matière noirâtre : la phytomélane [83].

Chapitre IV :

Matériel

Et Méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude de l'activité antioxydant, anti-inflammatoire et analgésique de la plante médicinale « *inula viscosa* ». La partie expérimentale est réalisée au laboratoire de biologie animal, Université frères menteurie .

IV. 1.Materiel

IV .1.1.Matériel végétal

L'espèce sélectionnée « *I.viscosa* » a été récoltée dans une espace université menteurie en Mars 2015.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.

IV .1.2. Matériel animal

Les rats qui ont été utilisés pour l'étude de l'activité analgésique. Ce sont des rats appartiennent à l'espèce *Wistar albinors*, qui pèsent entre 108 et 143 g. l'élevages effectuer au niveaux d'animalerie de l'université de frères menteurie, a température moyenne ou égale à 24 °C, avec une humidité relative de 70%. La photopériode est de 12/24 heures. Les animaux reçoivent la nourriture et l'eau à volonté.

IV.1.3.Réactifs chimique

Plusieurs réactifs chimique et solvant ont été utilisés dans expériences, parmice produit :Acide sulfurique (H₂SO₄),Acide chlorhydrique (HCL),Acide acétique, NaOH(Hydroxyde de sodium),NH₄OH,KI,I₂, NaCl, Acide gallique ,ritine, Quercétine, méthanol eau distillé, coton ,buthanol, BSA, DPPH, Diclofénac, gamme Arabique, vitamine C ,FeSO₄(Sulfate ferreux)K₂HPO₄ (Hydrogénophosphate de potassium),KH₂PO₄(Phosphate de potassium monobasique),K₃Fe(CN)₆ (ferricyanure de potassium),FeCl₃ (Chlorure de fer) .

Parmi l'appareillage utilisé : spectrophotomètre UV-visible double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS), chambre d'observation UV « 264/3646 nm»(VILBERCOURMAT), Bain Marie (MEMMERT), Etuve universelle de 5à 220 °C avec ventilation (MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), Vortex, Balance (OHAUS),PH -mètre.

IV.2.Méthode

IV.2.1.Préparation de l'extrait végétale

IV.2.1.1.Préparation de l'extrait total aqueux

La préparation de cet extrait consiste à macérer 80g 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 l'aide d'une étuve de type (MEMMERT) à 50 °C pour donner une poudre qui constitue ETAIV.

IV.2.1.2.Préparation de l'extrait total méthanolique

La préparation de cet extrait consiste à macérer 280g de la partie aérienne de poudre végétale ans 1 L méthanol. 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 filtrat obtenu est évaporé l'aide d'une rota vapeur de type (Buchet) à 50 °C pour donner une poudre qui constitue EMIV.

IV.2.3.Screening phytochimiques des l'extraits végétal

Les tests Phytochimiques sont réalisé sur l'extrait aqueux de *I.viscosa* (EAIV).

IV.2.3.1.Mise en évidence des tanins

A 2ml de la solution à tester .ajouter 2à3gouttes de la solution de FeCl3 à 2 % .Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laisse reposer quelques minutes).

IV.2.3.2. Mise en évidence des saponosides

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

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

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

IV.2.3.3. Mise en évidence du flavonoïde

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

IV.2.3.4. 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 composé réducteurs est confirmé par la formation de deux phases une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu- vert (acide sulfurique).

IV.2.3.5. Mise en évidence de l'alcaloïde

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. A l'extrait sec, ajouter 5ml d' HCl (2 N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de Wagner (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.

IV.3. Dosage des polyphénols totaux

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.

- **Mode opératoire**

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). [88,89]

IV.4. Dosage des flavonoïdes

- **Mode opératoire**

Les flavonoïdes d'extraits a été ajouté à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (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 µg/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 flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EQ/g E).[90,91]

IV.5. test antioxydant

*in**vitro*

L'activité antioxydant des extraits de plantes, il a été testé en utilisant plusieurs méthodes:

IV.5.1 . Piégeage du radical hydroxyle

Le OH[•] est le radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxydé et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques Comme le fer et le cuivre suivant la réaction de Haber Weiss [93]. Ce radical possède un électron libre avec un potentiel de réduction plus élevé (2310 mV) lui permet de réagir avec les lipides, les protéines les polypeptides et l'ADN particulièrement l'adénosine et la guanine [94].

In vitro, la capacité à piéger le radical hydroxyle par les extraits des plantes est basée sur

La réaction de Fenton en mesurant la génération du radical OH[•] et son effet sur l'oxydation et la dégradation de molécules biologiques telles que le désoxyribose de l'ADN.

Pour détecter ce radical le sodium salicylate est ajouté au milieu et la couleur apparait c'est la couleur rose mais en présence des extraits cette couleur va changer vers la couleur jaune.

- **Mode opératoire**

La méthode de Piégeage du radical hydroxyle adoptée dans cette étude est celle de **Zhong et al. (2010)** . Avec peu modification. Le mélange réactionnel contient les réactifs suivants : 1 ml de (9 mm FeSO₄) et 1 ml de 0.3% H₂O₂ ,0.5 ml de 9 mm salicylique Acid–ethanol solution ,1 ml de l'extrait à différentes concentrations. Après incubation une 60 min a37 °C la lecture est effectuée a une longueur d'onde de 510 nm. L'effet scavenger du radical hydroxyl est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition OH}^\bullet = (A_{\text{control}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

La concentration inhibitrice de OH[•] 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 mg / ml et comparée avec celle du **acide ascorbique** [95].

IV.5.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH• (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon [96](**Figure 15**).

- **Mode opératoire**

L'activité anti-radicalaire des différents extraits aqueux *et* *methanolique* d'*Inula.viscosa* a 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. 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 a été calculé comme suit :

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

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

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

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50) 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 $\mu\text{g} / \text{ml}$ et comparée avec celle du **BHT**. [97,98].

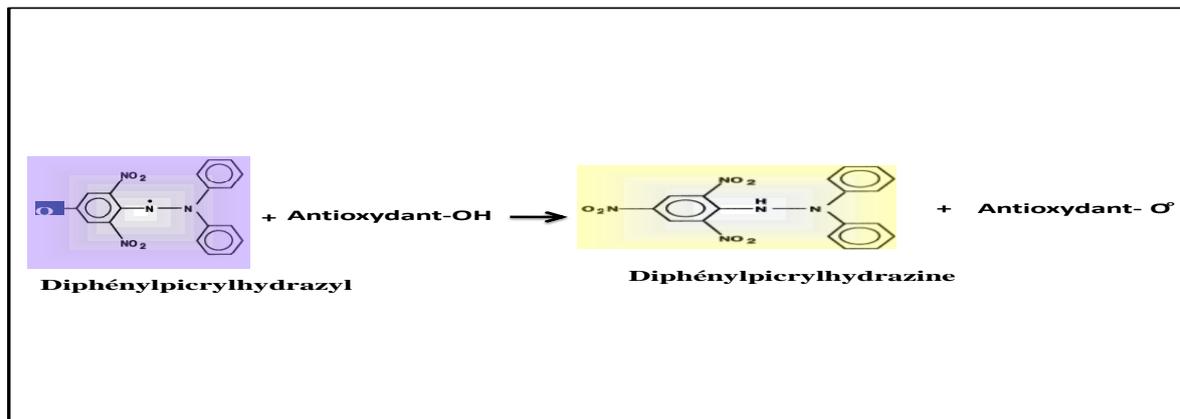


Figure 15 .Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [86].

IV.5.3. Peroxydation des lipides

Test 1 :L'effet d'inhibiteur de la peroxydation des lipidique a été déterminé par le dosage de l'acide Thio barbiturique-substances réactives (TBARS) en utilisant d' homogénat de foie des rats comme source riche en lipide avec quelques modifications. Brièvement, 1,0 ml d'échantillon de à différentes concentrations (ont été mélangés avec 1,0 ml d'homogénat de foie ; puis 0,2 ml FeSO_4 (9 mmol / L) et 2,5 ml de l'eau distillée à, plus 0,1 ml de H_2O_2 (60 mmol / L). ont été ajoutés pour initier la peroxydation lipidique et après incubation à 37 °C pendant 60 min, 1 ml de TCA (20%, p / v) et 1,0 ml d'une solution de TBA (0,7%, p / v) ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange résultant a été chauffé à 95 °C pendant 15 min, puis centrifugé à 5000 rpm pendant 10 min. L'absorbance de la surnagent a été mesurée à 532 nm. De l'eau distillée a été utilisée comme contrôle. L'effet d'inhibition sur la peroxydation lipidique a été calculé comme suit [99]:

$$\text{Inhibition rate \%} = \left(\frac{\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{samp1}}}{\text{OD}_{\text{control}}} \right) \times 100 \%$$

OD_{control} est l'absorbance du contrôle (l'eau au lieu de l'échantillon)

OD_{sample} est l'absorbance de l'échantillon.

Test 2 : L'effet d'inhibiteur de la peroxydation des lipidique a été déterminé par le dosage de l'acide Thio barbiturique-substances réactives (TBARS) en utilisant Le jaune d'oeuf comme source riche en lipide avec quelques modifications. Brièvement, 1,0 ml d'échantillon de à différentes concentrations (ont été mélangés avec 1 ml jaune d'oeuf puis 1 ml de l'eau distillée, 1,5 ml d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 ml de 0,8% (p / v) de 2-thiobabaturic acide (TBA) à 1,1% (p / v) ont été ajoutés pour initier la peroxydation lipidique et après incubation à 95 °C pendant 1h ,5 ml Buthanol , puis centrifugé à 5000 rpm pendant 10 min. L'absorbance de la surnagent a été mesurée à 532 nm. De l'eau distillée a été utilisée comme contrôle. L'effet d'inhibition sur la peroxydation, lipidique a été calculé comme suit :

$$\text{Antioxydant index\%} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

A0 étant lavaleur d'absorbance du contrôle totalement oxydé

A1làl'absorbance de l'échantillon à tester[100].

IV.5.4.Test du pouvoir réducteur (*Reducing Power Assay*)

Ce test est basé principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺, cette réaction se manifeste par l'apparition de la couleur bleu mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur [101].

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur a été déterminée selon la méthode de Oyaizu (1986) ; avec quelques modifications dans une première étape, 2,5 ml d'une solution de phosphate buffer (0,2M- pH= 6,6) et 2,5 ml de 1% de potassiumferricyanide sont ajoutés à 2,5 ml des différentes concentrations des extraits. Après incubation de 20 minutes dans un bain marie à 50C°; on a ajouté 2,5 ml d'une solution aqueuse de TCA à 10% au milieu réactionnel. Après agité et centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min, on a ajouté 1,25 ml de l'eau et 250µl de 0,1% FeCl₃ à 1,25 ml du surnagent. VC a été utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en concentration IC₅₀ qui se traduit par la concentration d'antioxydant utilisé pour obtenir une

absorbance de 0,5. L'absorbance est déterminée à 700 nm. les résultats sont comparé avec le **acide ascorbique** [95].

IV.6. Méthodes d'étude de l'activité analgésique

Il consiste à vérifier l'action inhibitrice des extraits en étude sur la douleur Provoquée chez la souris par la chaleur (Hot plate test) ou par l'injection intra-péritonéale (I.P) d'une solution diluée d'acideacétique (Writhing test).

IV.6. 1.Test du writhing

La méthode utilisée est similaire à celle décrite par KOSTER et al, (1959 et modifiée par COLLIER et al, (1968) .

- **Principe**

Nous avons étudié l'activité antalgique sur des rats. Une réaction douloureuse est provoquée chez les rats par injection intra péritonéale d'acide acétique à raison de 1ml/kg de poids corporel (Pc). Les douleurs se manifestent par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes), qui peuvent être réduites par de extrait aqueux.

- **Mode opératoire**

Les rats sont réparties en lots de 5 rats. Dans chaque lot il y a autant de femelles. Les animaux ont été divisés en Trois groupes (n =3chacun) savoir.

L'extrait végétal, acide salysélique sont dilués dans une solution isotonique de Nacl à 9 %. Ils sont injectés par voie intrapéritonéale aux rats 20 min avant l'injection de l'acide acétique à raison de 1ml/108 g de poids corporel (P.C). Un lot de 5 rats recevant du liquide physiologique est examiné parallèlement au titre de témoin. L'acide acétique 1,2% est ensuite injecté par voie intrapéritonéale à raison de 0,85 ml pour 92 g de poids corporel observé directement sur les souris pendant 10 min [102].

IV.6. 1.Plaque chaude

Activité analgésique a été évaluée par la plaque chaude de latence test. Les animaux ont été divisés en deux groupes (n = 3 chacun) savoir.

Groupe1 :le contrôle (acide salicylique 1ml /kg, par voie intra péritonéale).

Groupe2 : extrait *aqueux d'I.viscosa* 1ml/kg, par voie intra péritonéale. Les rats de chaque groupe ont été placés sur la plaque chauffante après administration du médicament . Ensuite, le temps de réaction pour que l'animal lécher la patte ou de sauter de la plaque chauffante a été prise comme la latence(s). Ceci a été répété à15min et à après 30

minutes de l'heure exacte donnée. La moyenne des temps de latence a été déterminée à partir des trois rats dans chaque groupe. La température de la plaque chauffante a été maintenue à 55 ± 1 ° C. L'heure limite a été maintenue à 20 secondes. [103]

IV.7. Activité Anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de *EAIV* et *EMIVet* 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) compose 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 incubées à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté pour garder les échantillons à 57° pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été mesurée par le spectrophotomètre UV –visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit:

Pourcentage d'inhibition = $[100 - (\text{OD of test solution} - \text{OD of product control} / \text{OD of test control})] \times 100$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparé avec le **Diclofenac sodium** (250ug/ml). [104, 105, 106].

IV.8. Analyse statistique

Les études statistiques sont effectuées par l'Excel 2007, Les valeurs d'IC50 (concentration Inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la Courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Chapitre V :
Résultat
et Discussion

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydants et anti-inflammatoires et analgésique d'extrait aqueux (EAIV) et méthanolique (EMIV) de la partie aérienne de la plante médicinale « *I. viscosa* ».

V.1. Le rendement de l'extrait (Tableau 9)

Tableau 9 : Le rendement de l'extrait de *I. viscosa*

Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids des extraits Aqueux et Méthanolique en (g)	Le rendement en (%)
EAIV	20 g	25%
EMIV	20,18 g	7,20 %

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 bioactivité 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 9**) a montré que l'EAIV représente le rendement le plus élevé de 25% par rapport l'EMIV par un rendement de 7,20 %. 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 [106].

V.2. Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques

Les tests Phytochimiques réalisés sur EAIV révèle la présence de plusieurs familles de Composés dont les résultats sont présentés dans le (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Analyse Phytochimiques préliminaire d'extrait aqueux *d'Inula 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 [107] qui a été révéle la présence des esquiterpenicacids,1,3-dicaffeoylquinic acid [108] 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 [109, 110, 111, 112].

V.3. 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 différents concentration. (Figure 16) :

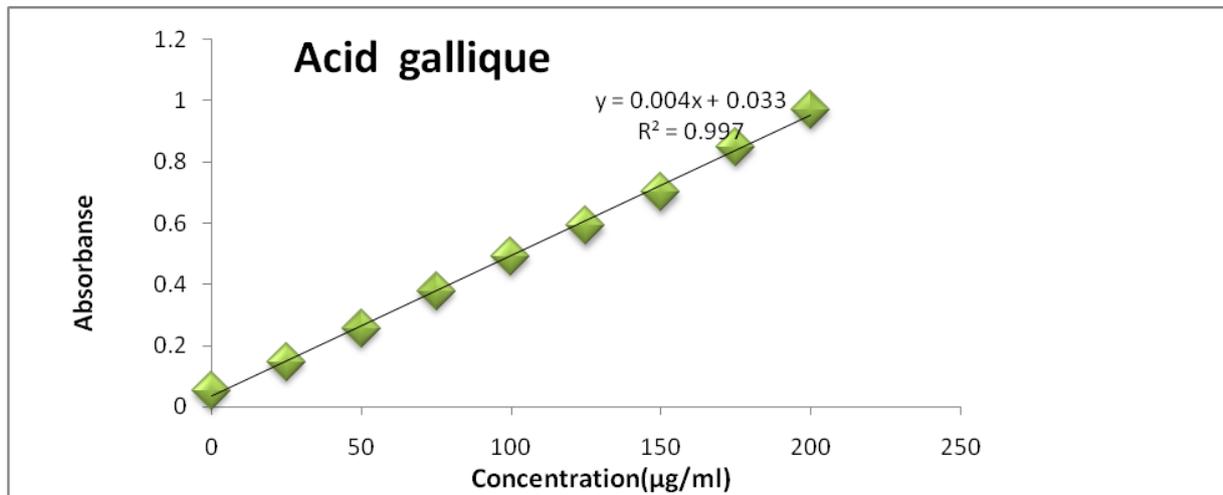


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque point de la courbe représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

Les polyphénols totaux dans ce extrait sont dosés selon la méthode de bleu de Prusse modifiée par [113]. La teneur en composés phénoliques d'extrait a été calculer à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique par 100 gramme de la matière sèche, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 700 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans le (Figure 17) suivant:

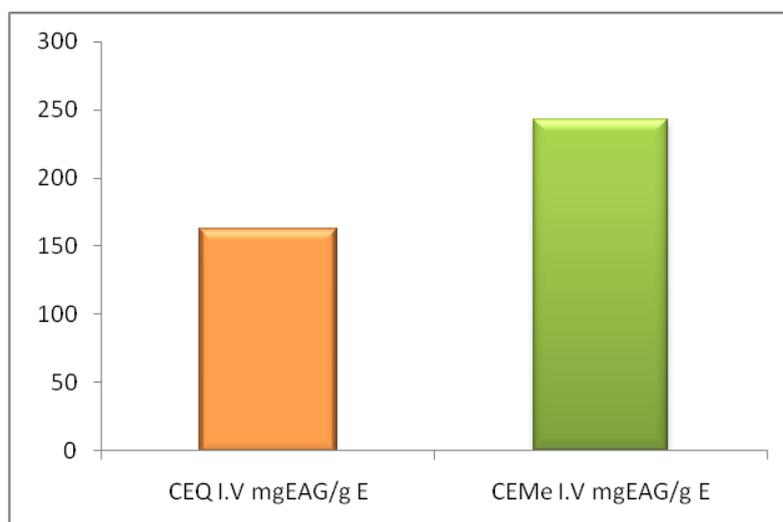


Figure 17 : Quantité des phénols totaux dans l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique équivalent d'acide gallique .

D'après les résultats présentés dans le (**figure 17**) L'extrait l'EMIV possède le teneur le plus élevée en phénols totaux par rapport l'EAIV . notre résultats et concordant avec les travaux de (Bekkara et al. 2008) Algérie qui montre que l'extrait ethanologique *I.viscosa* as un teneurs de 2.745 ± 0.38 mg EAG / g E alors que notre extrait methanolique *I.Viscosa* donne une meilleure teneur en polyphénol [114]. et Dans une autre étude de (Bougandoura et al.,2013) Le teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique et aqueux *Satureja calamintha* est de $2,968 \pm 0,809$ et $12,6 \pm 0,775$ mg EAG / g E respectivement [115].

V.4. Dosage des flavonoïdes

L'étude quantitative d'extrait aqueux et methanolique au moyen des dosages spectrophotométriques , selon la méthode de trichlorure d'aluminium avaient pour objectif la détermination de teneur totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage (**Figure17**) a été tracée pour ce objectif, établie avec la quercétine à différentes concentration. Des mesures de densité pour chaque fraction réalisées à 430 nm. Les quantités des. Flavonoïdes correspondantes ont été rapportés en équivalent milligramme de quercétine ou rutine par gramme d'extrait (**Figure18**) et déterminés par l'équation de type: $y=a x + b$

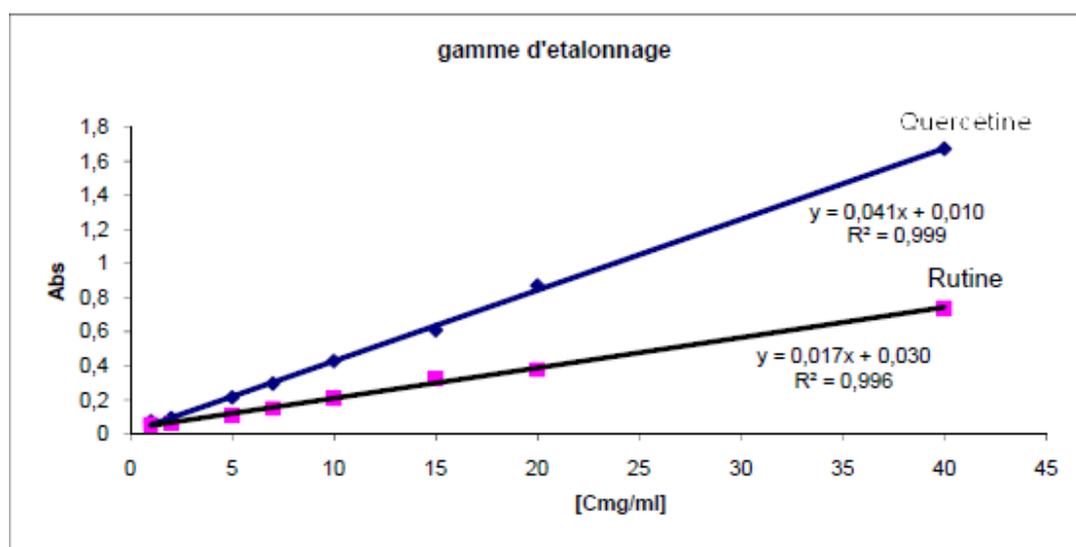


Figure 18 : Courbes d'étalonnage de la quercétine et rutine

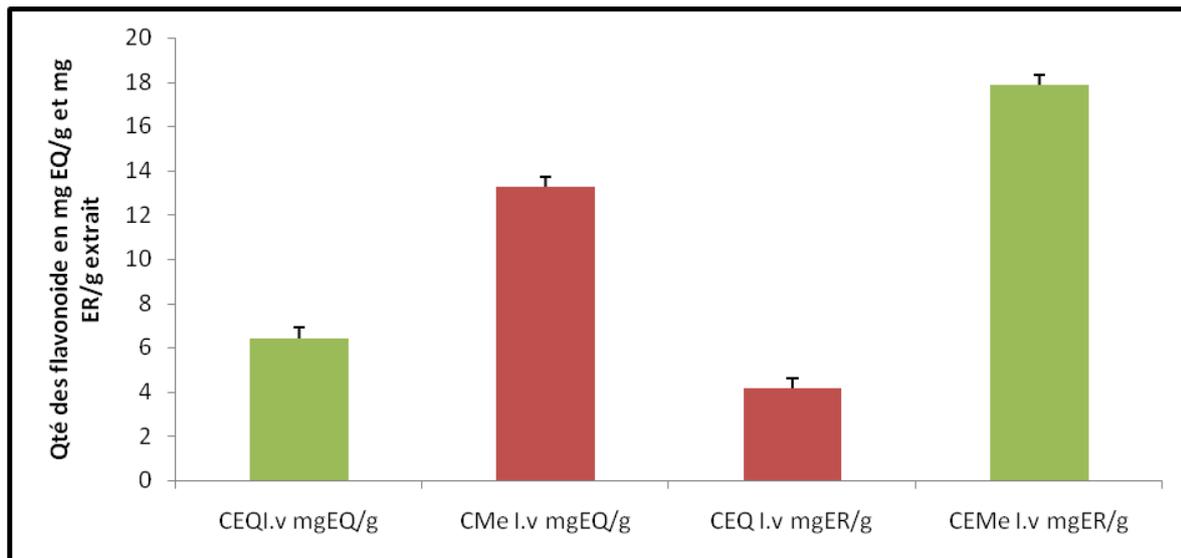


Figure19 :Teneur en flavonoïdes totaux de *I. viscosa* Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique sont riches en flavonoïdes avec des teneurs (6,46 \pm 0,25 mgEQ/g ; 4,16 \pm 0,17 mg ER/g) et (13,25 \pm 0,34 mgEQ /g ; 17,87 \pm 0,47 mg ER/g) respectivement.

Les résultats de ce travail sont relativement en accord avec des études qui ont montré que le teneur en flavonoïdes totaux varie d'une plante médicinale à une autre [118,119], par exemple des autre espèces *Inula species* sélectionnés en provenance de Turquie, ont montré un teneur faible de (21,1 \pm 0,8) mg / g d'extrait (Gökbulut et al, 2013) [116], cette richesses et peut être due a la présence des flavonoïdes aglycones ,dont certaines sont trouvées dans l'extrait acétonique de la parties aériennes (Grande et al.,1985) [117] et Comme cette plante as le nom d' espèce *Inula viscosa* du eau matière résineuse consiste des terpénoïdes , tels que les acides sesquiterpéniques décrit dans les références [118,119] ils ont supposé que la matière résineuse contient des flavonoïdes aglycones comme c'es tunc caractéristique bien connue de beaucoup Asteraceae [120] et aussi les autres familles des plantes [121],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 ,Indata. 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.

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 $\text{FeCl}_3 / \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semiquantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction redox [126,122]. Le pouvoir réducteur d'extrait de la plante est dose dépendante (concentration dépendante). Le pouvoir réducteur de l'espèce *Inula viscosa* 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 [123]. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle [124,125].

V.5. les tests antioxydant (*in vitro*)

V.5.1 .Piégeage du radical hydroxyle

Le test de chélation de radical hydroxyl a été estimé selon la méthode de **Zhong et al. (2010)** dont laquelle le sodium salicylate peut quantitativement piéger le radical hydroxyl qui est produit dans le milieu grâce à la réaction du Fenton et former un complexe rouge ayant un maximum d'absorption à 510 nm. En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur rose qui est suivie spectrophotométriquement [127].

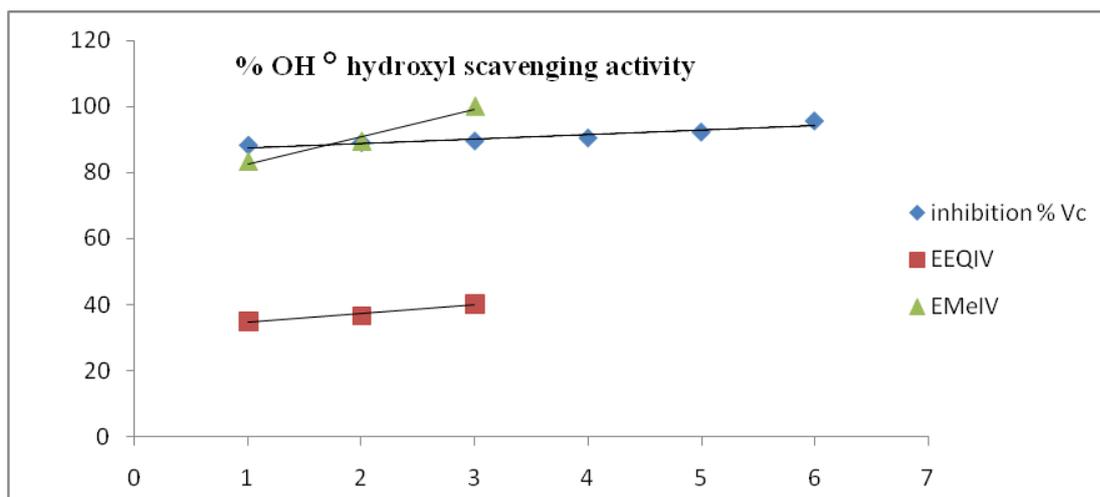


Figure 20 : Piégeage du radical hydroxyle de extrait EAIV ; EMIV et VC.

Les activités de piégeage des trois échantillons EAIV, EMIV et Vc augmente avec l'augmentation des concentrations. Comme la montre la (**Figure 20**)

Le radical hydroxyle est le plus connu par sa réactivité, sur les bio-macromolécule des cellules vivantes. et ces dommages biologiques caractérisé par sa capacité à stimuler la peroxydation des lipides, qui se produisent lors de la attaque des phospholipides membranaires [127].

Notre extrait méthanolique d' *I. viscosa* étudié a la concentration 0,5 mg/ml a donné un piégeage de radical hydroxyle par un pourcentage (78,23%) supérieur a sel de l'extrait éthanolique d'*A. bisporus* (28.35%).a la même concentration [95] Et A la concentrations de 2 mg / ml, comme la montre la **Figure 20** l'activité de piégeage du radical hydroxyle pour l'extraits EAIV ; EMIV et Vc était de et 34,83% ,88,54% ,88,55% respectivement. Et a la concentration de 3 mg / ml l'EMIV a montré une plus grande activité de piégeage des radicaux hydroxyle 98,90%, contre le VC qui a était de 89,43%. Par contre aucun activité de piégeage de radical hydroxyle a été observé pour l'extrait éthanolique de *Clitocybe maxima*, *Pleurotus ferulae* et *P. ostreatus* de Taiwan [128].selon ces études on peut signifier que notre plante *I.viscosa* peut être considéré comme une bonne piègeur de radicaux hydroxyle.

V .5.2.Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH• (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH•est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon.

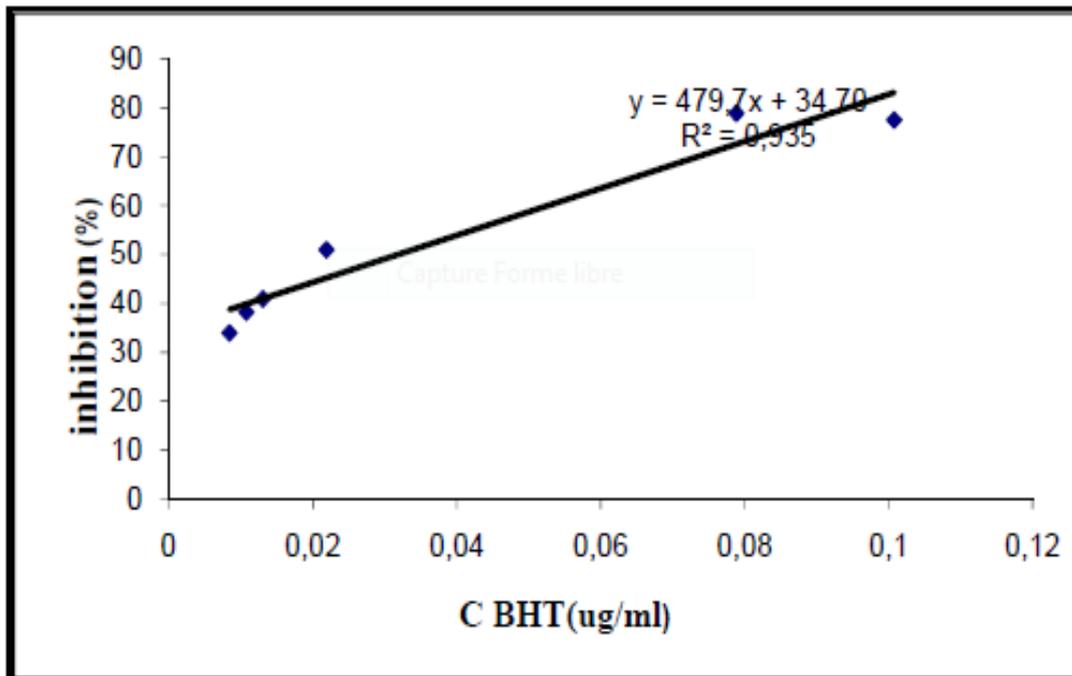


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de BHT

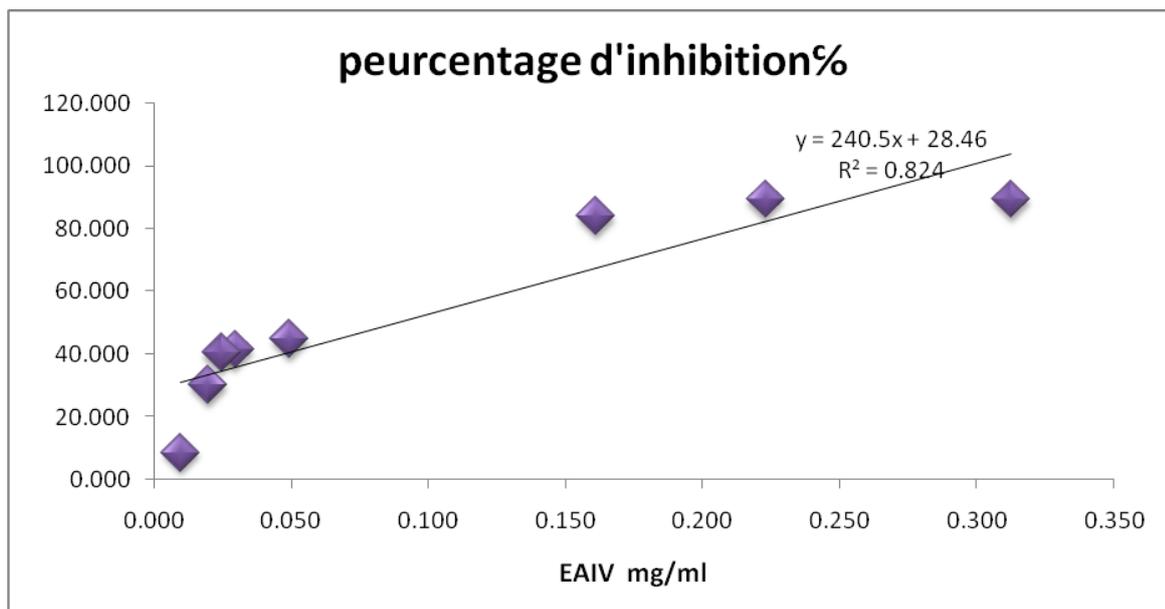


Figure 22 : pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de *I. viscosa*.

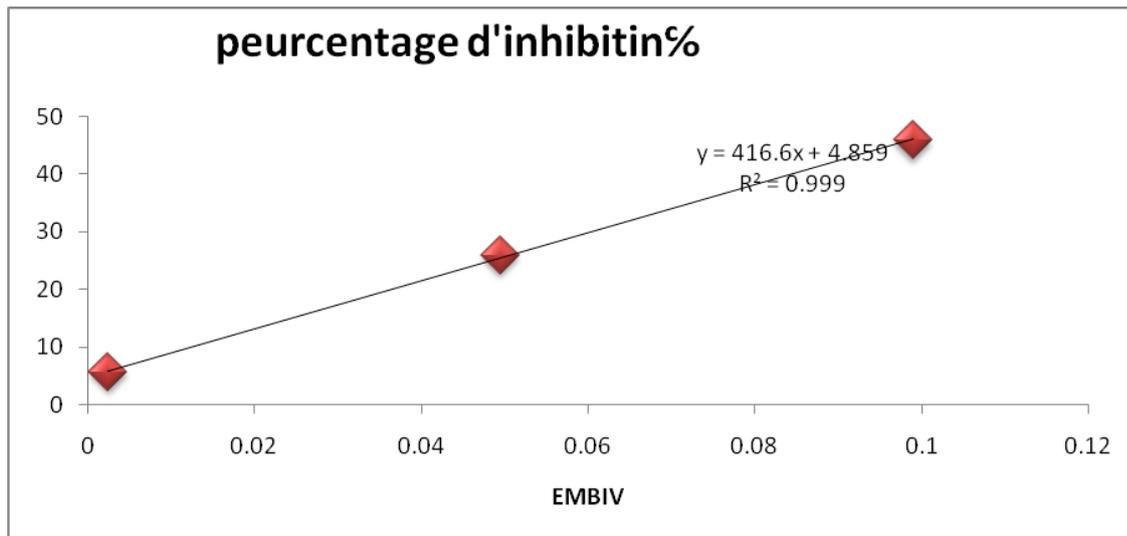


Figure 23 : pourcentage d’inhibition de l’extrait Méthanolique de *I. viscosa*.

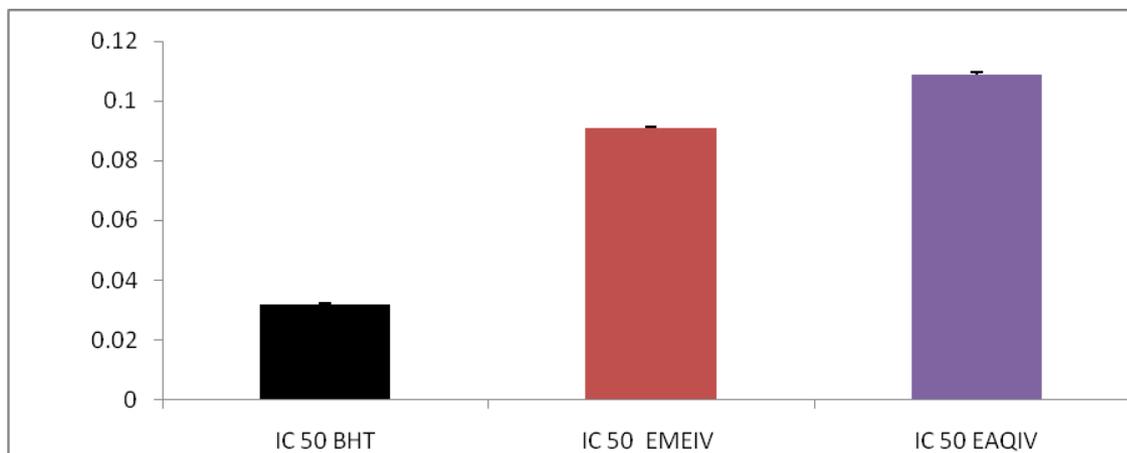


Figure 24 : La concentration (IC50) d’extrait d’*I. viscosa* et de BHT qui inhibent 50 % du Radical DPPH Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD

On remarque d’après les résultats présentés dans la (figure 24) l’EAIV et EMIV possèdent une activité anti-radicalaire inférieure à celle du BHT ,avec des valeurs de la CI50 de $0,109 \pm 0,001$; $0,090 \pm 0,002$; $0,031 \pm 0,0006$, respectivement.

Les résultats de ce travail sont relativement en accord avec les études suivantes: ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux varie d’une plante médicinale à une autre par exemple dans les études d’espèces *Inula viscosa* (Chahmi et al.2015) en provenance de Maroc , ils possèdent une activité anti-radicalaire plus proche à celle du BHT et VC (l’extrait ethanologique 0,18g/l) [129].

Le mécanisme de la réaction entre l’antioxydant et le DPPH dépend de la conformation

structurale de l'antioxydant [131,132]. 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 [133]. 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 [130]. 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 **Figure21**[134].

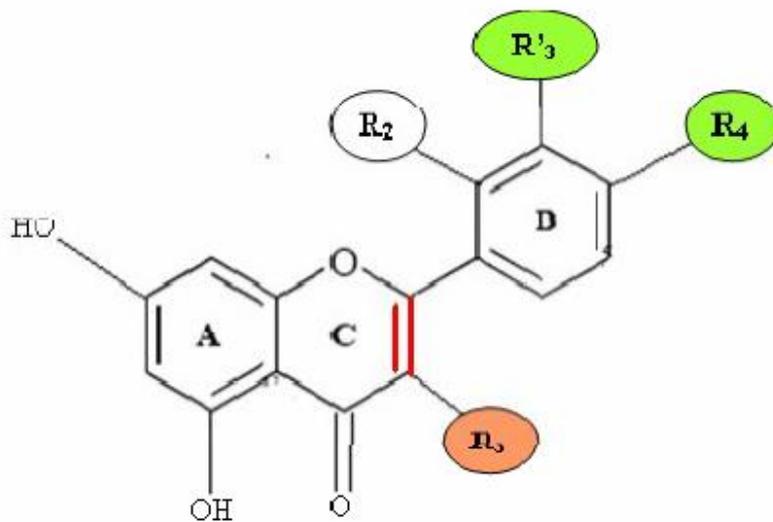


Figure 25 : Principaux éléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes.

V .5.3.Peroxydation des lipides

- **Test 1 :** L'effet d'inhibiteur de la peroxydation des lipidique a été déterminé par le dosage de l'acide Thio barbiturique-substances réactives (TBARS) en utilisant d' homogénat de foie des rats comme source riche en lipide.

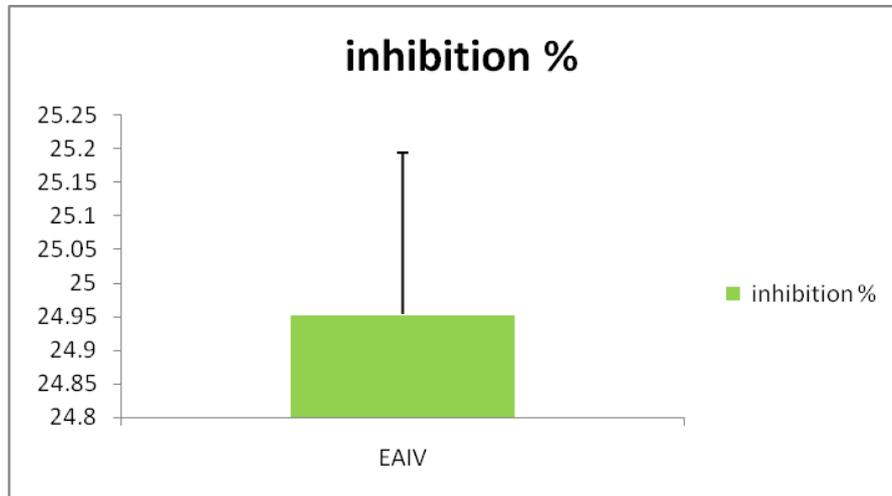


Figure 26 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux et méthanolique de *L.Viscosa*

Cette figure représente la pourcentage de la peroxydation de lipide par l'EAIV qui montre un pourcentage d'inhibition de 24,25 %.

- **Test 2 :** L'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique a été déterminé par le dosage de l'acide Thio barbiturique-substances réactives (TBARS) en utilisant Le jaune d'œuf comme source riche en lipide. La Substance réactive de l'acide thiobarbiturique (TBARS) et mesures par spectrophotométrie à 532 nm, la réaction de l'acide thiobarbiturique (TBA) avec le malonaldéhyde (MDA) donne une couleur rose, ce dernier (MDA) est l'un des produits secondaires de la peroxydation lipidique.

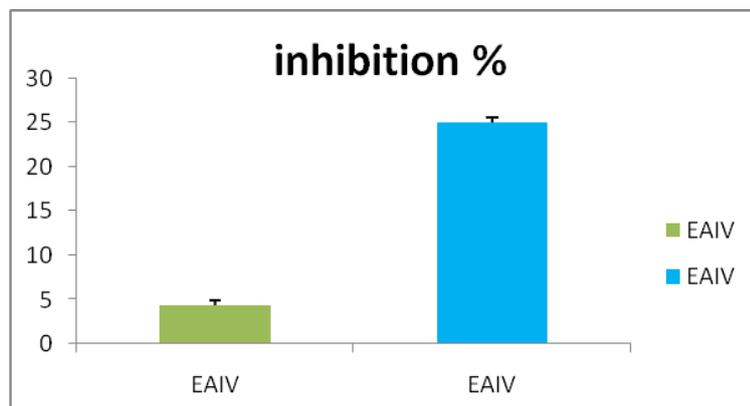


Figure 27 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux et méthanolique de *L.Viscosa*

D'après les résultats présentés dans la (**figure 27**) l'EAIV et EMIV possèdent un effet inhibiteur de la peroxydation lipidique, avec les valeurs suivantes $54,54 \pm 0,01$; $65,86 \pm 0,02$ respectivement.

Ces résultats sont relativement en accord avec les études de **Bounatirou et al,2007** qui ont montré que l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique varie d'une plante médicinale à une autre, et dans un exemple les huiles essentielles extraites de la plante *Thymus capitatus* donne une meilleure activité d'inhibition de la peroxydation lipidique avec des concentrations élevées[100].

V .5.4. Test du pouvoir réducteur (*Reducing Power Assay*)

La capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} , cette réaction se manifeste par l'apparition de la couleur bleu mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur

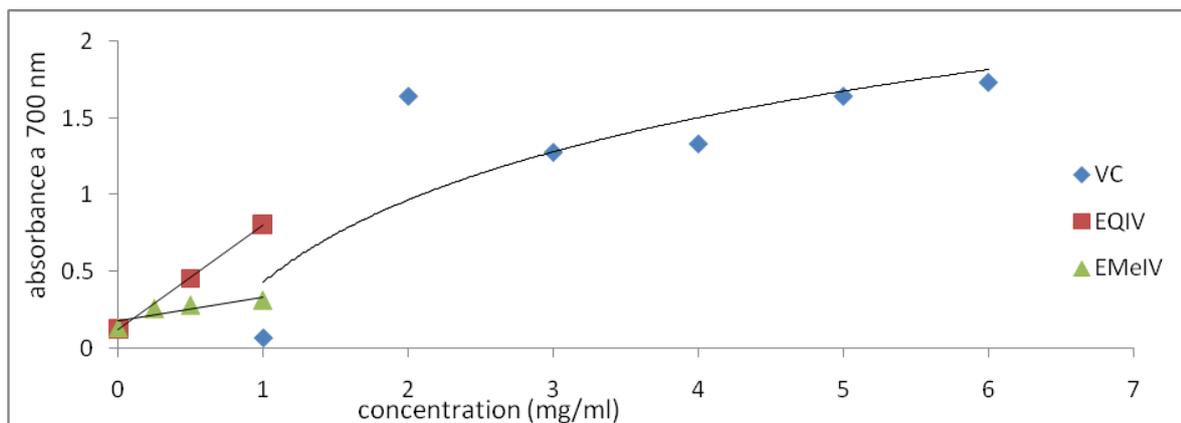


Figure 28 : pouvoir réducteur de l'extrait EAI V ; EMIV et VC.

d'après les résultats présentés dans la (**figure 28**) l'EAIV et EMIV possèdent un pouvoir réducteur inférieur à celui du VC dans les valeurs est $(0,81 \pm 0,13$; $0,27 \pm 0,05$; $1,27 \pm 0,07)$ respectivement.

Les résultats de ce travail sont relativement en accord avec d'autres études qui ont montré que le pouvoir réducteur varie d'une plante médicinale à une autre, par exemple dans les études d'extrait méthanolique d'*A. bisporus* (1,26 mg / ml) (Savoie et al., 2008) de la France[92], et l'extrait méthanolique d'A (3,63 mg / ml) (Barros et al., 2008) du Portugal[137].

IV.6. Méthodes d'étude de l'activité analgésique

IV.6.1. Test du writhing

Tableau 11 : Effets de l'Acide salicylique et l'extrait aqueux d' *I.Viscosa* sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les rats.

Groupe	Nombre de crampes abdominales	Inhibition des crampes abdominales (%)
Témoin	32±2,5	-
Acide salicylique	5±2	81,25±2
EAIV	11,66±2,5	63,54±2,5

Le tableau 11 représente les effets de l'acide salicylique, et de l'extrait aqueux d'*I.Viscosa* sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les rats. Après injection de l'acide acétique au lot témoin, on a observé 32± 2,5 crampes abdominales au bout de 10 min. En présence de l'Acide salicylique et extrait aqueux d'*I.Viscosa* le nombre de crampes abdominales diminue dans la même période. Il passe respectivement à 5±2 et 11,66± 2,5 ce qui correspond à des pourcentages d'inhibition des contractions de 81,25% ± 2 et 63,54%± 2,5 par rapport au témoin.

ces résultats sont accordés avec les études suivantes: ont montré que l'effet de l'extrait aqueux sur l'inhibition des crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les rats est en ordre suivant: *Ajugaiva L* 85,39%±4,29 ≥ buprofène 77,53%±3,80 [102], Morphine 100% > *Ximenia americana* 61,1 ±2,1 > Phénylbutazone 51 ±2,3 [135].

IV.6. 2. test de la Plaque chaude

Tableau 12 : Le test de plaque chauffant dans l'extrait aqueux *Inula.Viscosa* par rapport à l'acide salicylique.

Groupe	Traitement	Temps de Réaction (s)	
		15 min	après 30 min

1	Acide salicylique	3,33±1,52	5,66±2,08
2	EAIV	13,33±10,50	23,66±7,09

Le **Tableau 12** représente les effets de l'acide salicylique, et de l'extrait aqueux *I.Viscosa* sur la résistance contre la température élevée de la plaque chauffante par un temps de retard exprimé en (sec). Une augmentation significative du temps de réaction, on été observé pendant (15-30 min) ce confirme que L'EAIV possède un fort effet analgésique contre la chaleur par rapport à l'acide salicylique comme la montre les résultats sous dessus.

IV.7.Activité Anti-inflammatoire

Le tableau montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait Aqueux et méthanolique d'*I.viscosa* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA). (Tableau12)

Tableau13 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA

Concentration (mg/ml)	% d'inhibition de la dénaturation des protéines		
	Diclofenac sodium	EAIV	EMIV
0,5	78,60±2 ,19	80,69±10,66	117,82±2,85
0,25	70,43±7,42	81,38±14,87	94,82±6,00

On remarque d'après les résultats présentés dans le **Tableau13** que l'EMIV a la concentration de 0,5 mg/ml et 0,25 mg/ml, ils ont été donné une meilleure inhibition de la dénaturation de BSA par 117,82% , 94,82%, par rapport à la diclofenac sodium par un pourcentage de 78,60% , 70,43 % respectivement. Et Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'extrait EAIV est de 80,69±10,66 avec une différence de 2.19%. Lorsque on le compare à ceux obtenus pour le diclofenac sodium 0,5 mg /ml, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exercé un pourcentage d'inhibition de 78,60±2 ,19 % a la même concentration. La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation [137, 138] . La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire 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 maintien la structure tridimensionnelle des protéines [137,139]

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phenylbutazone et l'indométhazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines [140, 141]. 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 à 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 **EAIV** et **EMIV** 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

Les plantes médicinales ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pendant plusieurs années. Ils sont toujours des sources essentielles de médicaments, et ce sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous-exploitées dans le domaine médical. Et l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour. Cette efficacité est due aux métabolites secondaires ou ses principes actifs comme: les composés phénoliques, les alcaloïdes, et les huiles essentielles... Notre pays est riche de ce type de plantes qui sont utilisées souvent en médecine traditionnelle.

Ce travail a porté sur la détermination de les activités antioxydant et analgésique et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Inula viscosa*. Dans un premier temps, la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins des deux extraits : (L'EAIV et EMIV) a été effectuée.

L'EAIV et EMIV a montré une richesse en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins. Et selon les résultats obtenus, nous pouvons dire que: L'extrait donne une bonne activité antioxydante soit une capacité de piégeage de radicaux libres et la réduction de fer et un excellent effet inhibiteur de la peroxydation lipidique et un puissant pouvoir réducteur.

Et pour l'activité analgésique; est évaluée par la méthode de writhing Test et le teste de Plaques chaude. Le résultat obtenu montre que l'extrait aqueux *Inula viscosa* possède un effet d'inhibition des crampes abdominales.

Concernant L'activité anti-inflammatoire de *EAIV et EMIV* et a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. et d'après les résultats: l'extrait aqueux et méthanolique d'*I. Viscosa* est présent que un grand pourcentage de l'inhibition de la dénaturation de protéines.

En conclusion, La plante médicinale *INULA VISCOSA* est une source prometteuse d'agents antioxydants et anti-inflammatoire et analgésique ce qui est expliqué par la nature des composés présents dans cette plante.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante, l'activité analgésique et anti inflammatoire de l'extrait aqueux (EAIV) et l'extrait méthanolique (EMIV) de la partie aérienne de la plante médicinale *inula viscosa*.

La première technique consiste à évaluer l'activité anti-oxydante en utilisant les tests suivants : Piégeage du radical hydroxyle, DPPH, la peroxydation des lipides et le test du pouvoir réducteur. L'activité d'antioxydante d'EAIV et d'EMIV étudiée par la méthode de DPPH et le radical hydroxyle montre une grande activité avec un IC50 de **0,109 ± 0,001 ; 0,090 ± 0,002** respectivement comparé avec le BHT et l'acide ascorbique dont le taux de l'activité est à l'ordre de 34,83%, 88,54% respectivement.

La deuxième technique consiste à évaluer la teneur en polyphénols totaux par la méthode de bleu de Prusse et celle des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium. La détermination quantitative des polyphénols totaux révèle que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique sont riches en polyphénols avec une teneur de : **160,79± 0,09 mg EAG / g E et 242,94± 0,047 mg EAG / g E** exprimée en équivalent acide gallique par g extrait respectivement, et une teneur en flavonoïdes avec (**6,46± 0,25 mgEQ/g et 4,16± 0,17 mg ER/g**) et (**13,25± 0,34 mgEQ /g et 17.87± 0,47 mg ER/g**) exprimée en équivalent acide quercétine ou rutine par g extrait .

La troisième technique consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines et d'après les résultats obtenus, l'extrait aqueux et méthanolique d'*I. Viscosa* sont dotés d'une forte activité anti-inflammatoire dont les pourcentages d'inhibition sont : **117,82±2, 85,81, 38±14,87** respectivement. Concernant l'activité analgésique évaluée par la méthode de Test du writhing, les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux possède un effet d'inhibition des crampes abdominales avec un pourcentage de **63,54±2,5(%)**.

Le test de plaque chaude montre aussi que l'EAIV possède un fort effet analgésique contre la chaleur par rapport à l'acide salicylique pris comme référence.

En conclusion EAIV et EMIV possèdent une activité antioxydante, l'activité analgésique et anti inflammatoire.

Mots clés : *inula viscosa*, activité antioxydante, radicaux libres, polyphénols et flavonoïdes, inflammation, activité analgésique.

abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity, analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous extract (EAIV) and the methanol extract (EMIV) of the aerial part of the medicinal plant *Inula viscosa*.

The first technique is to evaluate the antioxidant activity using the following tests: hydroxyl radical scavenging activity, DPPH, lipid peroxidation and reducing power assay. The antioxidant activity of EAIV and EMIV studied by the method of DPPH and the hydroxyl radical shows high activity with an IC₅₀ of 0.109 ± 0.001 ; 0.090 ± 0.002 , respectively, compared with BHT and ascorbic acid, the activity rate is approximately 34.83%, 88.54% respectively.

The second technique is to assess the content of total polyphenols by Prussian blue method and that of flavonoids by the method of aluminum trichloride. The quantitative determination of total polyphenols found that aqueous methanol extract and is reach in polyphenols with a grade of: EAG 160.79 ± 0.09 mg / g and 242.94 ± 0.047 E EAG mg / g expressed E gallic acid equivalent per g extract respectively, and a flavonoid content with (6.46 ± 0.25 mgEQ / g and 4.16 ± 0.17 mg ER / g) and (13.25 ± 0.34 mgEQ / g and 17.87 ± 0.47 mg ER / g) expressed as equivalent acid quercetin or rutin per g extract.

The third technique consists in examining the anti-inflammatory activity according to the method of inhibiting the denaturation of proteins and the results obtained are that the aqueous and the methanol extracts feature a strong anti-inflammatory activity with inhibition percentages of: ± 2 117.82, 85.81, 38 ± 14.87 respectively. On the analgesic activity evaluated by the test of writhing method, results obtained show that the aqueous extract has an inhibitory effect on abdominal cramps with a percentage of 63.54 ± 2.5 (%). The hot plate test shows that EAIV also has a strong analgesic effect against heat relative to the salicylic acid taken as reference.

In conclusion EAIV and EMIV possess antioxidant activity, anti-inflammatory and analgesic activity.

Keywords: *inula viscosa*, antioxidant activity, free radicals, polyphenols and flavonoids, inflammation, analgesic activity.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير النشاط المضاد للأكسدة و نشاط المُسكن للألم و نشاط المضاد للإلتهابات من

المستخلص المائي و المستخلص الميثانولي الجزء العلوي للبنية الطبية *Inula Viscosa*.

التقنية الأولى: تدرس النشاط المضاد للأكسدة الذي تحقّق باستعمال التجارب التالية: التخلص من الجذر

الهيدروكسيلي، تجربة DPPH، تجربة فوترة الأكسدة الليبيدية، تجربة التقليل في الطاقة، أثبت النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي و المستخلص الميثانولي للنبته *Inula Visage* ضد DPPH و الجذر الهيدروكسيلي وجود نشاط كبير مع icco بالنتائج التالية $0,090 \pm 0,002$ و $0,109 \pm 0,001$ ، المقارنة مع BHT وحمض الأسكوربيك مع النتائج : 88,54% ، 34,83% على التوالي.

التقنية الثانية: هي لتقدير محتوى البوليفينول الكلي باستعمال طريقة الأزرق البروسي، وتقدير كمية الفلافونويد

الكلية تمت باعتماد على طريقة ثلاثي الكلوريد الألومنيوم وقد أثبتت هذه النتائج أنّ المستخلص المائي و المستخلص الميثانولي *Inula Visage* غني جداً بالبوليفينول مع النتائج $160,79 \pm 0,09$ mg/EAG المعادلة لحمض الكيريسيتين أو الريتين على الغرام للنبته على التوالي.

التقنية الثالثة: تدرس النشاط المضاد للإلتهاب التي تحققت حسب طريقة تثبيط تجربة البروتينات، وعلى حسب

النتائج فإن مستخلص النبتة المائي و الميثانولي للنبته *Inula Viscosa*. التي تقدم نسبة تثبيط تخريب البروتينات BSAM مع النتائج التالية: $38 \pm 14,87$ و $117,82 \pm 2,85$ أما فيما يخص نشاط المسكن فقد حُقّقَ باستعمال طريقة تجربة Turting ، حيث النتائج المحققة أثبتت أنّ المستخلص المائي للنبته يملك خاصية تثبيط التقلص العضلي بنسبة 2,5% $\pm 63,54$ وقد استعملنا أيضاً تجربة الصفيحة الساخنة و حسب النتائج فإنّ المستخلص المائي للنبته يملك نشاط مسكن ضد الحرارة بالمقارنة مع نشاط الحمض ساليسيليك.

وفي الخاتمة فإنّ المستخلص المائي و المستخلص الميثانولي للنبته *Inula Viscosa* يملك خاصية المضاد

للأكسدة وفعل المسكن و خاصية المضاد للإلتهاب.

الكلمات الدالة:

Inula Viscosa ، النشاطية المصادة للأكسدة، الجذور الحرة، البوليفينول، فلافينويد، و الإلتهاب ، النشاط المسكن.

[1] **Lucchesi M. E.** (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion.

[2] : **Gueye P. M** . (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

[3]. **BENGUERBA A** .(2008). Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *inula crithmoides L.* université mémoire magister université mentouri constantine

[4] : **Canaud B ; Sénécal L ; Leray-Moragués H ; Picard-Gontiers A ; Terrier N ; Morena M et Cristol J.P** .(2003). L'accès vasculaire, une cause d'inflammation sous-estimée chez l'hémodialysé Néphrologie. Vol. 24 n° 7 : 353-358

[5] : **Rousselet M.C ; Vignaud J.M ; Hofman P et Chatelet F.P.** (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire (Chapitre 3).

[6] : **ZERBATO M.** (2010). Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie thèse pour le doctorat Pharmacie, université henri poincaré - nancy

[7] : **Geng J.G.** (2003). Interaction of vascular endothelial cells with leukocytes, platelets and cancer cells in inflammation, thrombosis and cancer growth and metastasis. Acta Pharrnacol Sin; 24(12): p. 1297-300.

[8] : **HELLAL M** .(2007). Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. thèse pour le doctorat Chimie Organique, Université Louis Pasteur (Strasbourg I)

[9] : **BERENBAUM F** .(2012). Inflammation et maladies : clés de compréhension . Séminaire Ketty Schwartz.

[10] : **Dyckaets C ; Fouret P ; Hauw J.J.** (2003). Anatomie pathologie. Université Marie curie.

[11] : **Serhan E.N ; Savill J.** (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. Nat Immunol; 6(12): p. 1191-7.

[12] : **Male D ; Brostoff J ; Roth D.B, Roitt I** .(2007). Immunologie. 7^{ème} édition, 18-19

[13] : **Dlves P.J ; Martin S.J ; Burton D.R ; Roit I.M** .(2008). Fondements de l'immunologie. 7^{ème} édition, 8-9

[14] : **Espinosa E.** (2010). Immunologie. 511 : 89-131.

[15] : **Bellavite P** .(2015). Inflammation aiguë-part B - Médiateurs, Université de Verona et Ngozi.

[16] : **Stora D.** (2005). chapitre : généralités sur les anti-inflammatoires. Pharmacologies B.P. print book français 3^{ème} édition ; 101-102.

[17] : **Drogoul C ; Gemain H.** (1998). chapitre 6 : le patient sous anti-inflammatoires. Santé animale : bovins, ovins, capris ; 248-249.

[18] :**François N.J ; Cousin F, Thivolet J** .(2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext, 55-58.

[19] :**Blain ;Jouzeau ; Netter and Jeandel**. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inh

[20] :**Neal M**.(2003).chapitre 32 :anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS).Pharmacologie médicale .2^{ème} édition française ;105 :70-73.

[21] :**Abbal M** .(2012).le système de complément.faculté de médecine Ranguel.

[22] :**Kramoroff A**.(1999).Modélisation de la voie intrinsèque de la coagulation sanguine en corrélation avec le temps de céphaline + Acivateur (TCA).thèse de doctorat. L'université de CERGY-PONTOISE.

[23] : **Benhamou N**. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse UniversitéAboubakr Belkaïd ,Tlemcen , Algérie

[24] : **MONGENS M**.(2013). équences du stress oxydant . thèse pour le doctorat vétérinaire , D'Alfort.

[25] :**Yves Le Drean M**.(2012). *Relation entre métabolisme énergétique, cancer, et vieillissement*. Master Biologie Gestion, Université de Rennes 1

[26] **Tbahriti H.F ; Messaoudi A ;Kaddous A ; Bouchenak M ;Mekki K**.(2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokinespro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. *Article de Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* ;63 : 135–139.

[27] :**Pastre J**.(2005). interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. thèse pour le doctorat vétérinaire , l'université paul-sabatier de toulouse

[28] : **Groussard C ;Machefer G ; Rannou F ; Faure H ; Cillard J ; Gratas-Delamarche A**.(2003). Effet d'un exercice de sprint de 30 s sur le statut antioxydant plasmatique Effect of a 30s sprint exercise on plasma non-enzymatic antioxidant status. *Science & Sports* ;18 : 108–110

[29] : **martini M.C ; seiller M** .(2006) .actifs et additifs en cosmétologie.

[30] :**Reichl F.X** .(2010).cuide pratique de toxicologie 2^eedition :partietoxicologie spécifique :148-149.

[31] : **Fain O**.(2004). Carences en vitamine C.La revue de médecine interne ; 25 : 872–880.

[32] :**Haleng J; Pincemail J; Defraigne J.O; Charlier C; Chapelle J.P**.(2007). Le stress oxydant.Rev Med Liege ; 62 : 10 : 628-638.

[33] : **PORTES E**.(2008).Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. thèse pour le doctorat sciences chimiques, l'université bordeaux i.

[34] :**Diemaizougliche S** . (2008).Etude de biologique des extraits du fruit de *Zizyphyse lotus L* ,mémoire magister ,université – El Hadj Lakhder –batna, Algérie.

[35] :. **Defraigne J.O ;Pincemail J.**(2007). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités Rev Med Liege; 62 .

[36] : **Boubekri C.**(2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. thèse pour le doctorat chimi, Université Mohamed Khider – Biskra .

[37] :**Boros B; Jakabova S; Dornyei A;Horvath G; Pluhare Z; Kilar F; Felinger A.** (2010).Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in Thymus specie. *Journal of Chromatography A*,**1217**: 7972–7980.

[38] :**Knaggs A.R.** (2003).The biosynthesis of shikimate metabolites.*Natural Product Reports*, **20** :119-36.

[39] :**Naczkm; ShahidiF.**(2004).Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054** : 95–111.

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

[41] : **Nkhili E.Z.**(2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. thèse pour le doctoraSciences des Aliments. université cadi ayyad – marrakech.

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

[43] :**Manach C; Mazur A;Scalbert A.** (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, **16** : 1–8.

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

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

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

[47] :**BabarA. 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.

[48] :**Falleh H;Ksouri R; Chaieb K; Karray-Bouraoui N; Trabelsi N; Boulaaba M;Abdelly C.**(2008).Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.organs, and their biological activities.*Comptes Rendus Biologies*, **331**: 372-379.

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

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

- [51] :**Bouakaz I.** (2006).Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.
- [52] :**Milane H.** (2004).La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres;études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat.Strasbourg.
- [53]:**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.
- [54]:**Heimbach J;Reith S;Mohamedshah F; Slesinki R; Samuel-Fernando P; Sheehan T; Dickman R; Borzelleca J.** (2000). Safety assessment of iron EDTA [sodium iron (Fe³⁺) ethylenediaminetetraacetic acid]: summary of toxicological, fortification and exposure data. *Food and Chemical toxicology*. 38: 99-111.
- [55]:**Hodek P;Trefil P;Stiborova M.**(2002).Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450.*Chemico-Biological Interactions*,**139**:1-21.
- [56]:**McCord J.M.** (1995). Superoxide radical: Controversies, contradictions and paradoxes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 202: 112-117.
- [57]:**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.
- [58] **Da silva E.J.A; Oliveira A.B; Lapa A.J.**(1994) . Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and dauriquinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol*, 46(2): 118-22.
- [59] **Galati E.M; Monforte M.T;Kirjavainen S;Forestieri A.M; Trovato A;Tripodo M.M.**(1994) . Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*, 40(11): 709-12.
- [60] **Read M. A.**(1995).Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents *Vascular. Am. J.Pathol*, 147(2): 235-7.
- [61] **Middleton E.J.**(1996).Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol.*, 34 (5): 344-348.
- [62] **Mookerjee B.K; Lee T.P; Logue G.P; Lippes H.A; Middleton E.**(1986).The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo. Res*, 213: 511-20.
- [63] **Namgoong S.Y; Son K.H; Chang H.W; Kang S.S; Kim H.P.**(1994).Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci*, 54(5): 313-20.
- [64] **Middleton E.J; Drzewiecki G.**(1984).Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol*, 33(21): 3333-8.
- [65] **Ward J.**(1994) . Free Radicals, antioxidants and preventive geriatrics. *Austr. J. Physic*, 23(7): 1297-301.
- [66] **Limasset B; Le doucen C ; Dore J.CH; Ojasoo T ; Damon M ; De paulet A. C.**(1993).Effects of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacol*, 46(7): 1257-71.

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

[68]:**Petti S, Scully C.**(2009). Polyphenols,oral health and disease:A review.*Journal of dentistry*, 37 : 413-423.

[69]:**Ho Y.C; Yang S.F;Peng C.Y; Chou M.Y; Chang Y.C.**(2007). Epigallocatechin-3- gallate inhibits the invasion of human oral cancer cells and decreases the productions of matrix metalloproteinases and urokinase-plasminogen activator. *Journal of Oral Pathology andMedicine*, 36 : 588–93.

[70]:**Saleh N.K; Saleh H.A.**(2011).Olive Oil effectively mitigatesOvariectomy induced Osteoporosis In Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, p 11-10.

[71] :**Lahouel M ; Boulkour S ; SegueniN ; Fillastre J.P.**(2004).Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine,du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52 : 314–322.

[72] :**BrunetonJ.**(1999).*Pharmacognosie,Phytochimie,Plantesmédicinales*,(3èmeéd.).Editions Tec & Doc Lavoisier, p 1120.

[73] :**Potapovich A. I;Lulli D;Fidanza P;Kostyuk V. A;De Luca C;Pastore S; Korkina L.G.**(2011). Plant polyphenols differentially modulate inflammatory responses of human keratinocytes by interfering with activation of transcription factors NFκB and AhR and EGFR–ERK pathway.*Toxicology and Applied Pharmacology*,255 : 138–149.

[74] :**Quzel p; santa S.**(1963).Nouvelle flore de l'Algérie rt des régions désertique méridionales.edition des centre National de la recherche scientifique.Tome **II**.

[75] :**Benayache S;Benayach F;Dendougui H ;Jay M.**(1991).*plantes médicinales et phytothérapie*.Tome xxv.N°4.170-179.

[76]:**Danino O;Gottlieb H.E ; Grossaman S;Bergman M.**(2009).*Food Research Inter*.

[77]:**Hernandez V ;Recio M,Manaez S ;Giner R,Rios J.**(2007).*Sci.dir*.Vol.81(6).480-488.

[78]:**Fresquet J.L ;Aguirre C;Baguena M.J ;Lopez M.L ;Tronchoni J.A.**(1993).*Médicaments et aliments:L'approche ethnopharmacologique*.207-214.

[79] :**Djerroumi A ;Nacef M.**(2004).100 plantes médicinal d'Algérie.Edd Palais du livre.P.83.

[80] :**Stavrianakou S ;Liakopoulos ;Karabourniotis G .**(2006). *Environmental and Experimental Botany*.vol.56.293-300.

[81] :**Adam K ;Sivropoulou A ;Kokkini T ;Arsenkis M.**(1998).*J.Agric.Food Chem*.Vol.46 .1739-1745.

[82] :**Zeggwagh N.A ;Ouahidi M.L ;Lemhadri A;Eddoks M.**(2006).*J.Ethno*.vol.108.223-227.

[83] :**Bensegueni T.L.**(2001).Etude « in vitro » de l'effet antibactérien et antifongique de 4 plantes.Magister en médecine vétérinaire.Université de constantine.

[84]:**Lastra C ;Lopez A ;Motiva V .**(1993).Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *didrichia viscosa*.*planta medica* .59:497-501.

[85]: **Lauro C;Roli C.**(1990).observations and research on an extract of *inula viscosa*.*bollettino societa Italiana biological Sperrimentable*.66:829-834.

[86]: **Mohammedi Z .**(2013).*Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie* .Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou beker , Tlemcen Algérie .

[87] : **Diallo M.A.**(2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* willd.(*myrtaceae*) .thèse de doctorat, université de bamako.

[88] **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.

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

[90] **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.

[91]**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.

[92] :**Savoie J-M. ; Minvielle N ; Largeteau M.L.**(2008). Radical scavenging properties of extracts from the white button mushroom, *Agaricus bisporus*. *J. Sci. Food Agric*. 88, 970–975

[93] :**Castro L; Freeman B.A.** (2001). Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, 170: 161-165.

[94]:**Siddhuraju P; Becker K.** (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chem*, 101: 10-19.

[95] : **Liu J; Jia L; Kan J; Jin C-h.** (2013) .In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) . *Food and Chemical Toxicology* ,51 : 310–316

[96]: **Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C.** (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*; 50: 6882–90

[97]: **Cuendet M; Hostettmann K and Potterat O.** (1997).Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraeablumei*. *Helvetica ChimicaActa* 80, 1144-1152.

[98]: **Burits M and Bucar F.** (2000).Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323-328.

[99]:Subhash C ;Joshi A ; Arti R ; Verma B ; Chandra S ; Mathela A.(2010). Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species Food and Chemical Toxicology ;48 : 37–40

[100]:Bounatirou S; Smiti S; Miguel M.G; Faleiro L; Rejeb M.N ;Neffati M; Costa M.M; A.C. FigueiredoA.C; Barroso J.G; Pedro L.G .(2007).Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff. et Link. Food Chemistry, 105 :146–155.

[101]:Le K., Chiu F. N. G. K.(2007). Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii . *Food vvv Chemistry.*; 105: 353-363.

[102] :Soro T.Y ; Traorea F ; Sakande J.(2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*(Linné) (Olacaceae) C. R. Biologies, 332 : 371–377.

[103] :Qamruzzama ;Ansari J.A ; Sayye M.(2012).Analgesic and Anti-inflammatory Effect of Ethanolic Extract of *Tabernae montana divaricata* L. Flowers in Rats, 4 (5):1518-1522.

[104]: Williams L;O'connar A; Iatore L; Dennis O;Ringer S.(2008). ANTI-inflammatory. West indian Med j ; 57:327-331.

[105]: Sangita C; priyanka C.(2012). Evaluation of in-vitro ant-inflammatory ; 2(suppl1):s178- s180.

[106] :Lee et al.(2003).Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxydant capacitythan teas and red wine, *J Agric Food chem.*, 51: 7292-7295.

[107] :Cheng XR;Ren J;Wang CH; Guan B;Qin JJ; Yan SK ; Hookerolides A–D.(2013). the first naturally occurring C17-pseudoguaianolides from *Inulahookeri*. *Tetrahedron Lett* ;54:1943–6.

[108]. Danino.O et al.(2009).Food Research International ; 42 :1273–1280

[109] : Hernández V et al.(2007). Life Sciences ;81 : 480–488

[110]: Máñez S et al. (2007) . *Fitoterapia* ;78 : 329–331

[111]: Maoz M; Neeman I .(2000).Journal of Ethnopharmacology 71: 479–482

[112] :A.M.L.Secaetal A.M.L .(2014).Journal of Ethnopharmacology

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

[114] : Bekkara F.A; Benhammou1N and Tatjana Kadifkova Panovska T.K.(2008). biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *inula viscosa* from the tlemcen region of algeria; 30 – no 3.

[115] :BOUGANDOURA N ; BENDIMERAD N.(2013).Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) . *Pages 14 à 19*

[116] : Amarowicz R ; Pegg R.B ; Rahimi-Moghaddamc P ;Barl B et Weil J.A.(2004). Free-radicalscavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry.* 84, 551–562.

[117] : **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.

[118]: **Siddhuraju Pet 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.

[119]: **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.

[120] : **Kumaran A et Karunakaran R.J.(2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extracts

[121]: **Gökbulut A;Ozhan O; SatılmışB; Batçioğlu K; Günal S; Sarer E.(2013).** Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Nat Prod Commun* ; 8: 475-478.

[122]:**Grande M; Piera F; Cuenca A; Torres P: and Bellido I. S. (1985).** *Planta Med*. 51, 414.

[123]:**Ceccherelli P; Curini M;Marcotullio C and Menghini A.(1985).** *Phytochemistry*24, 2987.

[124]:**Barbetti P; Chiappini I and Menghini A. (1985).** *Planta Med*. 51. 471.

[125]: **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.

[126]:**Baruah N C;Sharma R P; Thyagarajan G;Herr W and Govindan S. V. (1979)** *Phytochemistry* 18, 2003.

[127]: **Sangita C ; priyanka C.(2012).** Evaluation of in-vitro ant-inflammatory ; 2(suppl1):s178-s180.

[128] :**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. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 39, 44–84.

[129] :**Tsai S.-Y ; Huang S.-J ; Lo S.-H ; Wu T.-P ; Lian P.-Y ; Mau J.-L.(2009).** Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chem*. 113, 578–584.

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

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

[132]:**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.

[133]:**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

[134]:**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.

[135] : ROUBI A ;CHABANE D ; SAIDI F et AZINE K.(2012). Étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux *Afrique SCIENCE ;08(2) :131 – 137*

[136] :**Barros L., Falcão S., Baptista P., Freire C., Vilas-Boas M., Ferreira, I.C.F.R.**(2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem.* 111, 61–66.

[137] :**Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.**(2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem.* 111, 61–66.

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

[139] :**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.

[140] :**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 *CleodendronInerme*.RJPBCS Volume 2 (1): 822-827.

[141] :**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 *CleodendronInerme*. RJPBCS Volume 2 (1): 822-827.

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

Année universitaire ,2014 -2015	Présenté par : Derbal nedjla Fedali hanane
Thème :L'activité antioxydante ,anti-inflammatoire et analgésique de plante médicinale Algériene <i>Inula.Viscosa</i>	
<p>Résumé</p> <p>L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydant, l'activité analgésique et anti inflammatoire de l'extrait aqueux (EAIV) et l'extrait méthanolique (EMIV) de la partie aérienne de la plante médicinale <i>inula viscosa</i>.</p> <p>La première technique consiste à évaluer la teneur en polyphénols totaux par la méthode de bleu de Prusse et celle des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium.La détermination quantitative des polyphénols totaux révèle que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique sont riches en polyphénols avec un teneur exprimée en équivalent acide gallique par g extrait respectivement, et un teneur en flavonoïdes exprimée en équivalent acide quercétine ou rutine par g extrait .La deuxième technique consiste à évaluer l'activité anti-oxydante en utilisant les tests suivants : Piégeage du radical hydroxyle, DPPH, la peroxydation des lipides et le test du pouvoir réducteur. L'activité d'antioxydante d'EAIV et d'EMIV étudiée par la méthode de DPPH et le radical hydroxyle montre une grande activité respectivement comparé avec le BHT et l'acide ascorbique dont le taux de l'activité.</p> <p>La troisième technique consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines et l'activité analgésique évaluée par la méthode de Test du writhing</p> <p>d'après les résultats obtenus de l'activité anti inflammatoire , l'extrait aqueux et méthanolique d'<i>I. Viscosa</i> sont dotés d'une forte activité anti-inflammatoire dont les pourcentages d'inhibition. Et Concernant les résultats d'activité analgésique obtenus montrent que l'extrait aqueux possède un effet d'inhibition des crampes abdominales.</p> <p>Le test de plaque chaude montre aussi que l'EAIV possède un fort effet analgésique contre la chaleur par rapport à l'acide salicylique pris comme référence.</p> <p>En conclusion EAIV et EMIV possèdent une activité antioxydante, l'activité analgésique et anti inflammatoire très interécente .</p>	
Mots clés : <i>inula viscosa</i> , activité antioxydante, radicaux libres, polyphénols et flavonoïdes, inflammation, activité analgésique.	
<p>Jury dévaluation :</p> <p>Président du jury : lalaoui korichi (Pr -à l'UFMC)</p> <p>Rapporteur : Ihoual . safia (MAA- à l'UFMC)</p> <p>Examineur : Boubekri Nassima (MC- à l'UFMC)</p> <p>Examineurs : Boulkandoul Ramzi (MAA- à l'UFMC)</p>	